

## 5. Zusammenfassung

Wenn Mikroorganismen (meist Bakterien, seltener Pilze, Viren oder Parasiten) bei einer Allgemeininfektion von einem lokalen Herd aus in die Blutbahn gelangen, kann ein Patient unter ungünstigen Bedingungen an Sepsis oder Septikämie („echte“ Blutvergiftung) erkranken. Da insbesondere die Endotoxine gram-negativer Erreger zur Sekretion von verschiedenen Mediatoren führen, die wiederum die Gefäßpermeabilität, das Komplementsystem und die Blutgerinnung beeinflussen, geht eine Sepsis oft mit der unkontrollierten Aktivierung der Koagulation und des fibrinolytischen Systems einher. Unter ungünstigen Bedingungen entwickelt sich hierdurch eine disseminierte intravasale Verbrauchskoagulopathie, die dann zur Entstehung eines Multiorganversagens führen kann. Dieser septische Schock ist für die hohe Letalität der Sepsis wesentlich mitverantwortlich.

Sepsis, hervorgerufen durch eine bakterielle Infektion, stellt eine der häufigsten Ursachen für Morbidität und Mortalität neugeborener Kinder dar, da deren Immunsystem bei geringen physischen Reserven nur unvollkommen entwickelt ist. Zudem sind die klinischen Zeichen für eine Sepsis bei Neugeborenen so unspezifisch, dass eine sichere und schnelle Diagnosemöglichkeit bislang nicht möglich ist.

Da das Plasmaprotein Inter- $\alpha$ -Inhibitor ( $\text{I}\alpha\text{I}$ ) beim Erwachsenen einen sensiblen Sepsismarker darstellt, wurde in der vorliegenden Arbeit untersucht, ob sich  $\text{I}\alpha\text{I}$  auch bei Neugeborenen als Sepsismarker verwenden lässt.

Hierfür wurde zunächst ein Sandwich-ELISA aufgebaut, dessen einzelne Immunglobulin-Komponenten (monoklonaler Antikörper 69.26 und polyklonaler Antikörper R-16) über Protein-A-Immunitäts-Chromatographie gereinigt wurden. Außerdem wurde  $\text{I}\alpha\text{I}$  mittels Ionenaustausch-, Hydroxylapatit- und Immunitäts-Chromatographie aus humanem Plasma isoliert, um es im ELISA als Standard einzusetzen.

Bei der Etablierung der einzelnen Schritte konnten folgende Verdünnungen als optimal für die Durchführung des Sandwich-ELISA entwickelt werden: MAb 69.26 in einer 1:100-Verdünnung in Kopplungspuffer, Plasmaproben in einer 1:500-Verdünnung in PBS, biotinylierter PAb R-16 in einer 1:750-Verdünnung in PBS und HRP-Streptavidin in einer 1:2000-Verdünnung in PBS. Dabei wurde der ELISA für 45min mit ABTS entwickelt. Unter diesen Bedingungen konnten  $\text{I}\alpha\text{I}$ -Konzentrationen von 0,1-3,4 $\mu\text{g/ml}$  im ELISA-Ansatz nachgewiesen werden. Dieser Sensitivitätsbereich entspricht einer Plasmakonzentration an  $\text{I}\alpha\text{I}$  von 0,05-1,7mg/ml.

Unter Verwendung des etablierten ELISA konnte gezeigt werden, dass endogen produzierter Inter- $\alpha$ -Inhibitor im Blut von Neugeborenen zirkuliert. Die Plasmakonzentration zum Zeitpunkt der Geburt ist unabhängig vom Gestationsalter niedrig (im Mittel 0,44mg/ml bei einer Standardabweichung von 0,21mg/ml) und erreicht innerhalb weniger Tage postpartum ähnlich hohe Werte wie bei Erwachsenen (im Mittel 0,80mg/ml bei einer Standardabweichung von 0,25mg/ml).

Bei Neugeborenen mit einer Sepsis wurde eine signifikante Reduktion des I $\alpha$ I-Plasmaspiegels von im Mittel 0,80mg/ml (bei einer Standardabweichung von 0,25mg/ml) auf im Mittel 0,17mg/ml (bei einer Standardabweichung von 0,13mg/ml) nachgewiesen. Außerdem konnte gezeigt werden, dass die I $\alpha$ I-Plasmakonzentration wieder auf Werte der nichtseptischen Kontrollgruppe anstieg, wenn sich die klinische Symptomatik unter einer antibiotischen Therapie besserte. Weiterhin war es möglich, einen Zusammenhang zwischen der Stärke der I $\alpha$ I-Abnahme und dem Sepsiserreger zu demonstrieren. So nahm die I $\alpha$ I-Plasmakonzentration bei einer Sepsis, die durch Staphylokokken bzw. Escherichia coli verursacht wurde, deutlich stärker ab, als bei einer Sepsis, die durch Erreger wie Klebsiella oxytoca oder Candida parapsilosis hervorgerufen wurde.

Die in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse deuten darauf hin, dass I $\alpha$ I bei einer neonatalen Sepsis als ein negatives Akute-Phase-Protein signifikant runterreguliert wird. Aufgrund dieses Befundes lässt sich vermuten, dass I $\alpha$ I einen geeigneten Marker für die Diagnostik sowie die Prognostik einer Sepsis bei Neugeborenen darstellt.