

Die Bestimmung der Transferrin-Eisenbindungskapazität

R. Haeckel, M. Oellerich

Institut für Klinische Chemie, Medizinische Hochschule Hannover

Zusammenfassung:

Die zur Zeit üblichen Verfahren zur Bestimmung von Transferrin bzw. der Eisenbindungskapazität (EBK) werden in direkte und indirekte Verfahren eingeteilt und deren Vor- und Nachteile diskutiert.

Die Kinetik der Sättigung von Patientenserum mit Eisenionen zeigt, daß die totale EBK ein sehr relativer Begriff ist, dessen Meßgröße weitgehend von den gewählten methodischen Bedingungen abhängt. Vergleichbare Werte sind daher mit direkten, d.h. immunologischen Methoden eher zu erzielen. Sie beschränken sich auf die Transferrin-EBK. Durch die neueren instrumentellen Entwicklungen wurde die Bestimmung der Transferrin-EBK bzw. -konzentration so rationalisiert, daß diese Verfahren den indirekten Methoden gegenüber bevorzugt werden sollten.

Schlüsselwörter:

Transferrin – Eisenbindungskapazität – Nephelometrie.

Summary:

The present procedures for the determination of transferrin resp. iron binding capacity (IBC) are classified into direct and indirect procedures, of which the advantages and disadvantages are discussed.

The kinetic of saturating patients sera with iron ions shows, that the total IBC is a very relative term and that its value measured depends on the experimental conditions chosen. Comparable results, therefore, are more likely obtained with direct, immunological methods. These only detect the transferrin-IBC. Because of the rationalization of the transferrin-determination by newer instrumental developments, such as nephelometers, these procedures should be preferred to indirect methods.

Key words:

Transferrin – Iron binding capacity – Nephelometry.

A. Einleitung

Beim erwachsenen Mann beträgt der Gesamtbestand des Organismus an Eisen 4–5 g, davon sind etwa 70% im Hämoglobin, 19% im Depoteisen (vorwiegend Ferritin) und nur 0,1% an Transferrin gebunden.

Der Mechanismus der Eisen-Resorption ist noch nicht geklärt. Die Vorstellung von einem Mucosablock wurde zugunsten derjenigen von einem Eisen-Transfer-System verlassen, das die Eisen-Resorption an den Bedarf des Organismus adaptiert (1). Dabei spielt mucosales Transferrin eine wichtige Rolle. Die nach der Resorption

in die Blutbahn gelangenden freien Eisenionen sind toxisch und werden daher umgehend an das Transportprotein Transferrin gebunden.

Die Bindungsfähigkeit des Transferrins für Eisen ist nur zu einem Drittel gesättigt. Der noch zur Verfügung stehende Teil wird als freie Eisenbindungskapazität (EBK) bezeichnet. Die Kenntnis der freien EBK ist zur differentialdiagnostischen Beurteilung einer pathologischen Eisenkonzentration wichtig. Acht genetische Transferrin-Varianten wurden beschrieben, die keine Unterschiede in ihrer Eisenbindungsfähigkeit zeigen (2, 3).

B. Methoden der Transferrin-Bestimmung

Tab. 1:

EBK-Bestimmung

1. *Direkte Verfahren mittels Immunpräzipitation*
2. *Indirekte Verfahren messen die Eisenmenge, die unter Sättigungsbedingungen vom Transferrin gebunden werden kann.*
- 2.1 *Nach Ramsay: nach Ausfällung der überschüssigen Fe^{3+} mit MgCO_3 wird das gebundene Eisen bestimmt.*
- 2.2 *Bestimmung des nicht gebundenen Anteils: photometrische oder radiologische Methoden*

Totale Eisenbindungskapazität ($\mu\text{mol/l}$)

Die zur Zeit üblichen Verfahren zur Bestimmung von Transferrin bzw. der EBK sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Die Vergleichbarkeit der verschiedenen Methoden wurde mehrfach untersucht (4–6). Die Ergebnisse der verschiedenen Methoden zur Bestimmung der EBK schwanken untereinander erheblich.

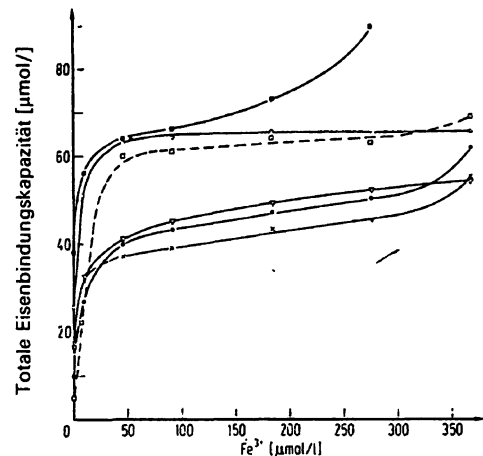
1. Indirekte Methoden

Bei den indirekten Verfahren ist die kritische Größe die Konzentration der vorgelegten Eisen-Ionen, mit der das Serum-Transferrin inkubiert wird. In Abb. 1 wird gezeigt, daß der EBK-Wert in Humansen mit zunehmender Eisen-Konzentration ansteigt. Diese Sättigungskurve wird durch 2 Punkte charakterisiert:

Ein scharfer Knick bei $50 \mu\text{mol/l}$ Fe (vor Zugabe von MgCO_3 zur Ausfällung der nicht gebundenen Fe-Ionen) und ein zweiter nach oben gerichteter Knick bei höheren Konzentrationen. Die Lage des zweiten Knickes schwankt zwischen 150 und $500 \mu\text{mol/l}$. Zwischen beiden Punkten liegt ein mehr oder weniger flaches Plateau. Der erste Knick ist vermutlich durch Sättigung der Transferrin-Moleküle mit Eisen bedingt, die bei etwa $90 \mu\text{mol/l}$ liegen dürfte. Aufgrund der in dieser Abbildung erzielten Kurven sollten menschliche Serum-Proben nicht mit Eisen-Konzentrationen unter 50 oder über $500 \mu\text{mol/l}$ inkubiert werden.

Abb. 1:

Der Einfluß der Eisenkonzentration ($200 \mu\text{l}$ FeCl_3 -Lösung) auf die totale Eisenbindungskapazität von 6 Humansen. Aus Ref. 7.



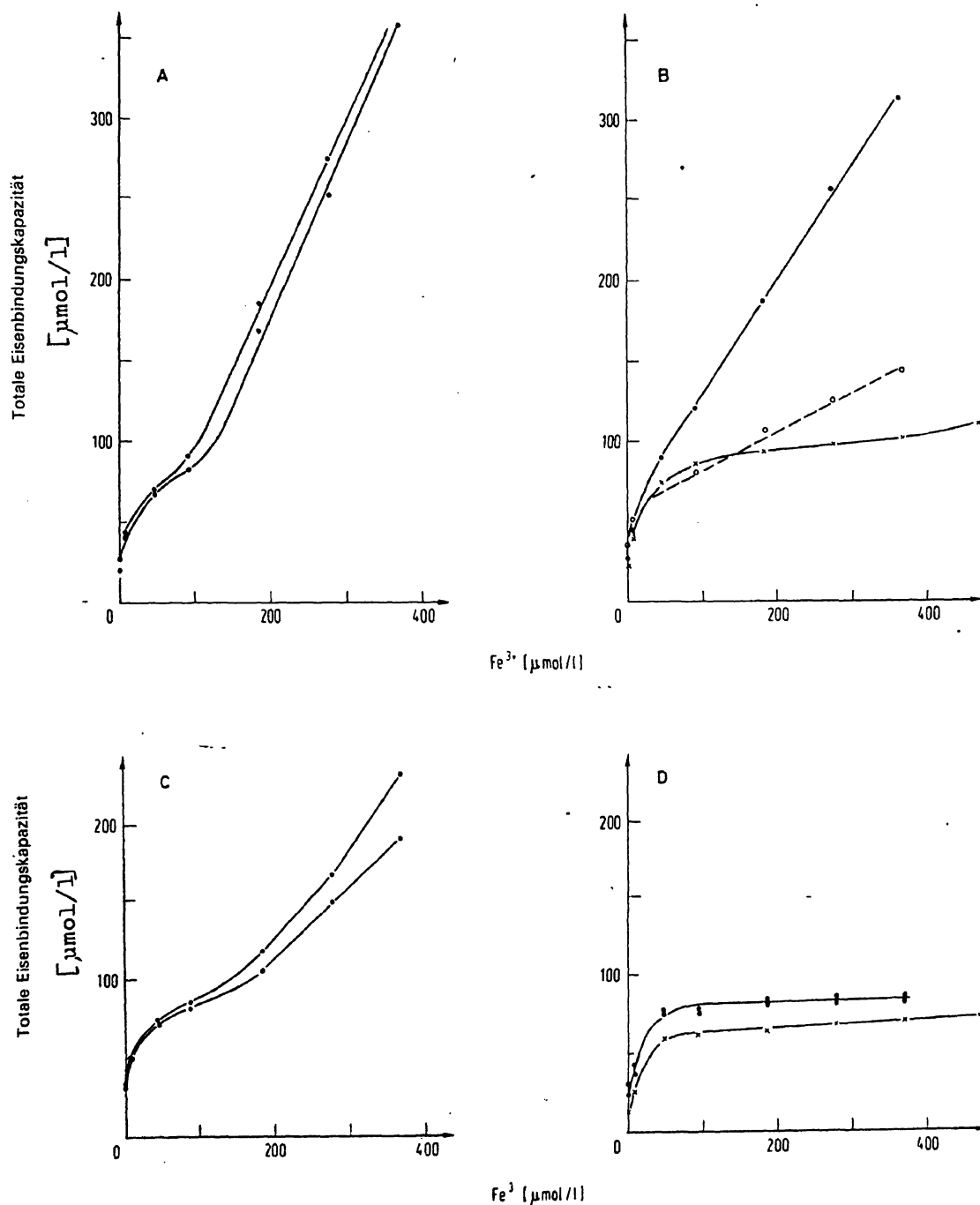
Der zweite Knick könnte eventuell durch andere Eiweißkörper, die Eisen binden, verursacht werden. Für den Extra-Transferrin-Eisentransport werden Albumin und α_1 -Globuline verantwortlich gemacht (8).

Kontrollseren (Abb. 2) verhalten sich entweder ähnlich wie Humansen oder insofern unterschiedlich, als mit steigender Eisenkonzentration kein Plateau erreicht wird, d.h. die EBK-Werte hängen bei diesen Kontrollseren sehr stark von der vorgelegten Eisen-Konzentration ab. Aufgrund dieser Befunde haben wir in Übereinstimmung mit anderen Autoren (8, 9) vorgeschlagen, daß zwischen Transferrin-EBK und totaler EBK differenziert werden sollte. Die Diskrepanz zwischen beiden ist ein Index für den Nicht-Transferrin-Eisentransport, dessen klinische Relevanz noch unklar ist. Er soll z.B. bei Leberzirrhose erhöht sein (9).

Die Sättigungskurven zeigen, daß die totale EBK ein sehr relativer Begriff ist, der nur unter den Plateaubedingungen (Abb. 1) verwendet werden sollte. Methoden, die tiefere Werte als die Transferrin-EBK liefern, müssen verworfen werden. Methoden, die gleiche Werte liefern, können akzeptiert werden. Vergleichbare Werte sind mit direkten, d.h. immunologischen Methoden wahrscheinlich eher zu erzielen als mit den indirekten Sättigungsmethoden. Sie beschränken sich auf die Transferrin-EBK und sind daher als spezifischer anzusehen.

Abb. 2:

Der Einfluß der Eisenkonzentration auf die totale Eisenbindungskapazität von verschiedenen Kontrollseren. Jeder Punkt bedeutet einen Mittelwert aus zwei Bestimmungen. A Hyland RO 4; B Monitrol I Chargen Nr. LTD 114B ●—●, Chargen Nr. LTD 112A ×—×, Monitrol II, Chargen Nr. PTD 27A ○—○; C Seronorm 117; D Asid-Richtigkeit 402C ●—●, Behring-Richtigkeit 112 E ×—×. Aus Ref. 7.



2. Direkte Methoden

Die immunologischen Verfahren haben sich bisher nicht durchgesetzt, da sie zu umständlich waren. In den letzten Jahren ist jedoch die Mechanisierung von nephelometrischen und turbidimetrischen Verfahren möglich geworden.

Turbidimetrische Verfahren wurden vor allem mit Zentrifugal-Analysengeräten beschrieben. Das erste vollmechanisierte System zur nephelometrischen Messung von Immunpräzipitations-Reaktionen wurde von der Firma Technicon auf den Markt gebracht. Es handelt sich um ein Flow-System nach dem Autoanalyserprinzip. Durch Zusatz von Polymeren wird die Einstellung des Endpunktes beschleunigt. Dieses System hat sich nicht allgemein durchsetzen können. In letzter Zeit wurden Nephelometer als spezialisierte Meßplätze (Beckman Instruments, Hyland, Behring-Werke) entwickelt. Als Lichtquellen werden dabei entweder Laserstrahler oder Halogenlampen verwendet.

Die wesentlichen Vorteile der Nephelometrie gegenüber der radialen Immunodiffusion sind: kürzere Testzeiten, höhere Empfindlichkeit und bessere Präzision.

Seit einem Jahr bestimmen wir die Transferrin-Konzentration mit einem Laser-Nephelometer (PDQTM, Hyland). Werden alle Werte berücksichtigt, schwankt die Präzision von Tag zu Tag bei monatlicher Berechnung über einen längeren Zeitraum betrachtet zwischen 5 und 10% (Mittelwert 3,0 g/l).

Problematisch ist die Beurteilung der Richtigkeit, da sich die Wiederfindungsraten in Standardlösungen, die mit Material verschiedener Hersteller angesetzt wurden, gelegentlich noch um 10–20% unterscheiden. Außerdem enthalten bisher nur wenige Kontrollseren Sollwertangaben für die immunologisch bestimmte Transferrin-Konzentration.

C. Schlußfolgerungen

Mit der Einführung der mechanisierten Nephelometrie wird die totale EBK wahrscheinlich demnächst durch die Transferrin-EBK ersetzt werden. Es muß noch geklärt werden, ob Transferrin in g/l als Protein-Molekül oder dem biochemischen Verständnis entgegenkommend als Transferrin-EBK in µg/dl bzw. µmol/l angegeben werden soll. Die Kalibrierung kann mit einer Transferrinlösung erfolgen. Als Umrechnungsfaktor von Transferrin (g/l) nach Transferrin-EBK (µmol/l) wurde von uns der Faktor 22,47 angegeben (5), der zwischen den von Buffone et al. (11) und von Tsung et al. (6) angegebenen Faktoren liegt. Diesem Faktor liegt ein Molekulargewicht von 89000 für Transferrin (10) und die Annahme, daß 1 Molekül 2 Eisenatome bindet (9), zugrunde. Die Anga-

ben für das Molekulargewicht schwanken zwischen 73000 und 93000 (6), liegen jedoch im Durchschnitt nahe bei 90000.

Schrifttum:

1. BECKER, G., FORTH, W.: Dt. Arzteblatt, Heft 12, 678 (1978).
2. TURNBULL, A., GIBLETT, E. R.: J. Lab. Clin. Med. 57, 450–459 (1961).
3. BURROWS, St.: Am J. Clin. Path. 47, 326–328 (1967).
4. KOCH, C. D., RITTER, U.: Diagnostik 7, 766–770 (1974).
5. HAECKEL, R., HAINDL, H., HULTSCH, E., MARISS, P., OELLERICH, M.: Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 11, 529–534 (1973).
6. TSUNG, S. H., ROSENTHAL, W. A., MILEWSKI, A.: Clin. Chem. 21, 1063–1066 (1975).
7. HAECKEL, R.: Z. Klin. Chem. Klin. Biochem. 11, 301–307 (1973).
8. VAN DER HEUL, C., VAN EIJK, H. G., WILTINK, W. F., LEIJNSE, B.: Clin. Chem. Acta 38, 347–353 (1972).
9. SCURO, L. A., DOBRILLA, G., LO CASCIO, V., BOSELLO, O., D'ANDREA, F., IUNECCO, A.: Acta Hepato-Gastroenterol. 19, 90–98 (1972).
10. BAMBACH, M. N.: Klin. Wschr. 44, 1276–1284 (1966).
11. BUFFONE, G. J., LEWIS, S. A., JOSEFSON, M., HICKS, J. M.: Clin. Chem. 24, 1788–1791 (1978).

Anschrift der Verfasser:

Prof. Dr. R. Haeckel
Priv.-Doz. Dr. M. Oellerich
Karl-Wiechert-Allee 9
3000 Hannover 61

