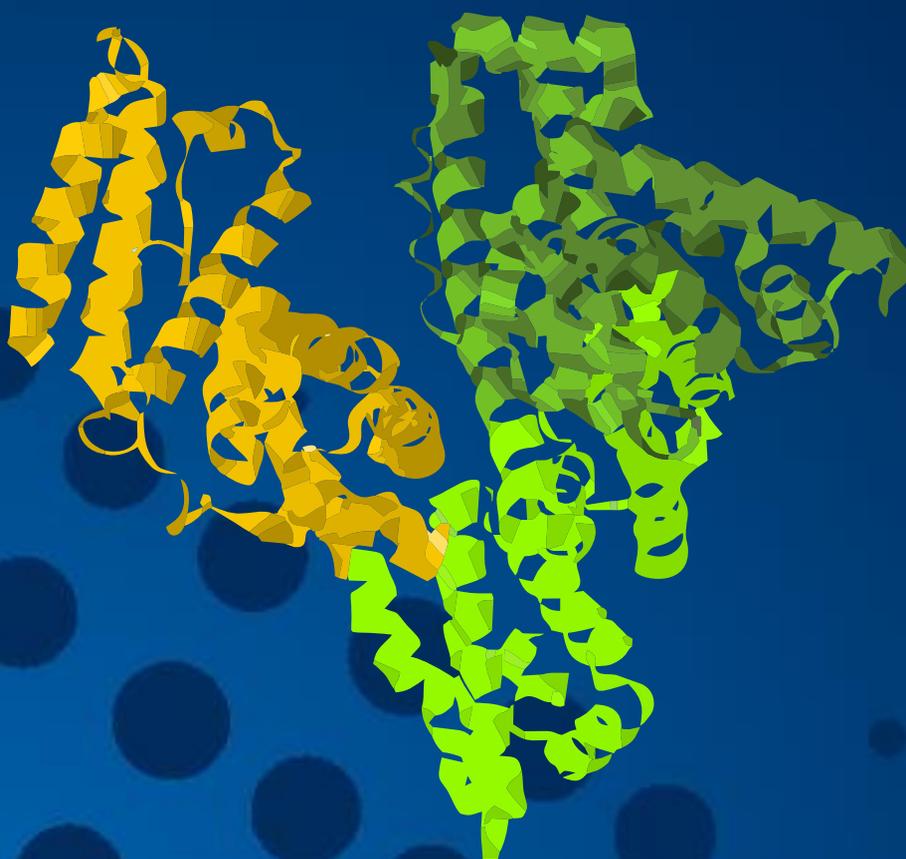




**MedInnovation**  
Advanced Albumin Research



**Analyse der funktionalen Charakteristika des  
Serumalbumins**

**Ein Test zur Krebsdiagnose und zum Monitoring**

## Prinzip - Albumin

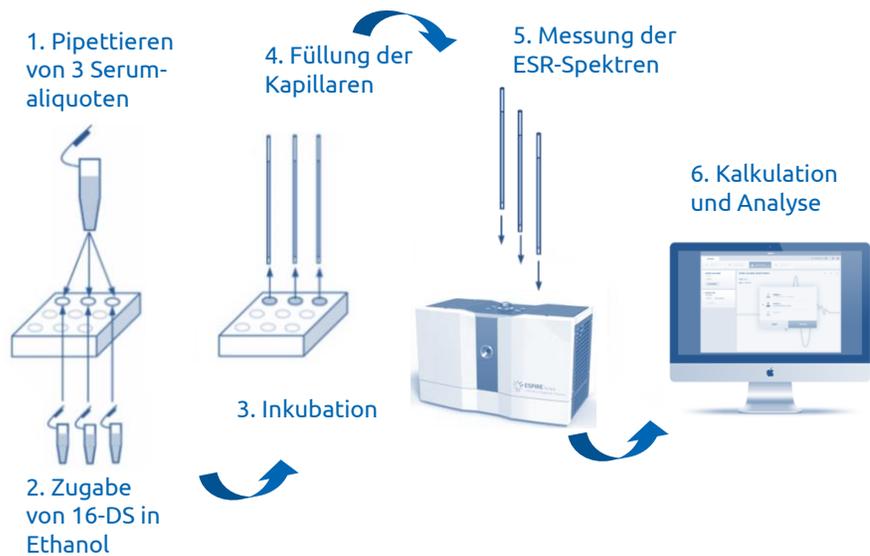
Albumin ist das häufigste Protein im humanen Serum. Es wird in der Leber synthetisiert und hat eine Halbwertszeit im Serum von ca. 19 Tagen.

Seine Hauptaufgabe ist der Transport einer Vielzahl hydrophober Substanzen wie Fettsäuren, Stoffwechselprodukte oder Medikamente [1].

Außerdem ist es für die Aufrechterhaltung des onkotischen Druckes im Blut verantwortlich und trägt zur Pufferkapazität des Blutes bei.

Es sind sieben Bindungsstellen für langkettige Fettsäuren bekannt [2], drei mit hoher und vier mit niedrigerer Bindungsaffinität [3]. Die Bindungsstellen mit hoher Affinität werden als lange und schmale Taschen beschrieben, wogegen die niedrigaffinen kürzer und weiter sind [2].

In den letzten Jahren wurden Biomarker mit niedrigem Molekulargewicht, gebunden an Transportproteine des Serums wie Albumin, intensiv untersucht, um ihren Nutzen zur frühen Diagnose von Erkrankungen zu prüfen [4, 5, 6].

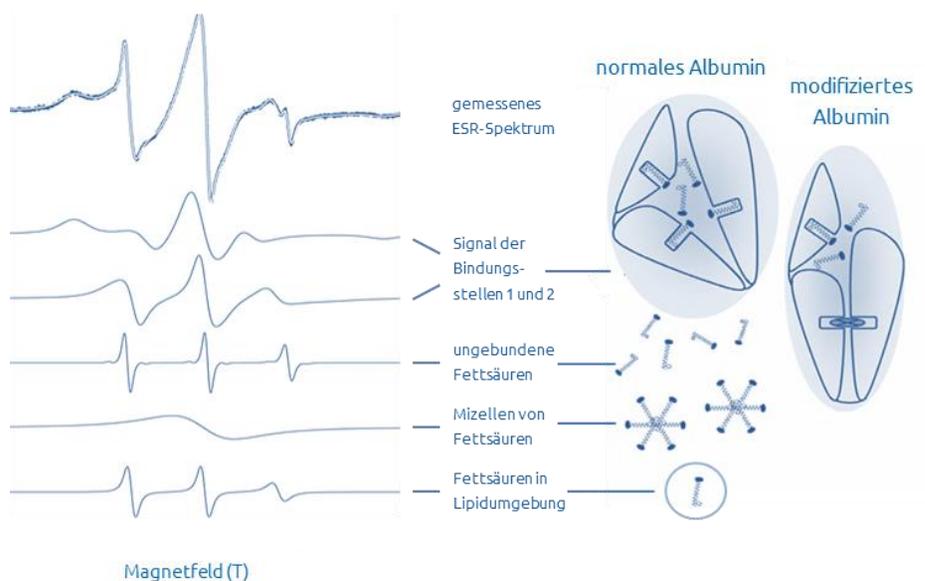


## ESR Technologie

Der Albumin-Funktionstest untersucht die Konformationsmobilität des Albuminmoleküls mit Hilfe der Elektronenspinresonanz. Diese Plattform-Technologie beinhaltet Module für verschiedene Krankheitsbilder.

Dabei werden drei unterschiedliche Serumalbuminlösungen mit steigenden Konzentrationen an Ethanol und spinmarkierter Fettsäure (16-DS) untersucht. Diese simulieren die Ladungs-, Transport- und Entladungsbedingungen in vitro [7, 8]. Durch Zugabe einer spinmarkierten Fettsäure können Bindungsstellen des Albuminmoleküls untersucht werden.

Die Simulation der ESR-Spektren erlaubt die Berechnung von Bindungskonstanten, Bindungskapazitäten und biophysikalischen Parametern der beiden Bindungsgruppen für die drei verschiedenen Serumalbuminlösungen. Mit Hilfe dieser Parameter können die Transportparameter (BE = Bindungseffizienz, RTQ = reale Transportqualität, DTE = Detoxifikationseffizienz) berechnet werden.



# Equipment



- anwendbar im Routinelabor – einfach im Gebrauch
- automatisiertes Gerät – automatisierte Kontrollalgorithmen, automatisierte Messprozedur, Signalaufnahme und Vorverarbeitung der Spektren als integraler Prozess
- bietet eine hohe Genauigkeit, Stabilität und Sensitivität – bei hoher Durchsatzrate
- garantiert vergleichbare Analyseergebnisse von mehreren Ansätzen einer Probe
- speziell entworfen für die Probenanalyse von biologischem Material bei dem molekulare Konformationsänderungen durch Temperatur, pH-Wert und andere Faktoren ausgelöst werden
- sämtliche Algorithmen sind programmierbar und bieten sowohl eine große Bandbreite an Routine, als auch bei wissenschaftlichen Anwendungen



- Präzises kontakt- und berührungsloses Probenvorbereitungssystem für den Umgang mit chemischen oder biologischen Lösungen oder Suspensionen
- Vermeidet menschliche Pipettierfehler, zeigt hoch reproduzierbare Ergebnisse und erhöht die Produktivität
- Hochauflösendes Touchpanel-Display mit intuitiver, benutzerfreundlicher Oberfläche
- Hohe Pipettiergenauigkeit mit weniger als 2% (10-14µl)



## Das Diagnostik-Kit

- Set von 16-doxyl-Stearinsäurelösungen in Ethanol (drei verschiedene Konzentrationen mit unterschiedlicher Deckelfarbe)
- 96-well Mikrotiterplatten zur Probeninkubation
- Deckel für Mikrotiterplatten
- Glaskapillaren
- Versiegelungswachsplatten
- Laborfilm zum zusätzlichen Verschließen der Mikrotiterplatten während der Inkubation
- Verpackung



## Anwendungsgebiete

- Krebsdiagnostik und Monitoring
- Bestimmung der Transport- und Detoxifikationsparameter des Albumins von Patienten mit Lebererkrankungen bzw. Sepsis
- Qualitätskontrolle von kommerziellen Albuminlösungen

## Ausschlusskriterien

Akute Schübe von chronisch entzündlichen Erkrankungen wie z.B. Morbus Crohn, Colitis ulcerosa oder rheumatoide Arthritis verfälschen das Testergebnis.

Es sollte ein Abstand von 4 Wochen eingehalten werden, damit der Körper das Serumalbumin zuvor regenerieren kann.

Nach operativen Eingriffen sowie nach einer Chemotherapie bzw. Bestrahlung, sollte ebenfalls ein Abstand von 4 Wochen eingehalten werden. Dies gilt auch für Erkrankungen mit entzündlichem Geschehen.

Da der Albumin-Funktionstest derzeit noch keine Aussage zur Lokalisation der Krebserkrankung treffen kann, ist es nicht ratsam ihn als eine allgemeine Screening-Untersuchung anzuwenden.

## Für eine einwandfreie Analyse benötigen wir:

- Mindestens 2 ml Vollblut bei ca. 8°C gelagert. Dieses sollte binnen 24h nach der Abnahme zur Analyse bei der MedInnovation GmbH eingetroffen sein.
- "Reines" (zentrifugiertes) Blutserum sollte innerhalb von max. 4 Tagen bei uns eintreffen. Die Zentrifugation der Blutprobe sollte bei 1000 – 1500 x g bei Raumtemperatur erfolgen. Das Serum bzw. EDTA-Plasma ist in ein separates und beschriftetes Röhrchen zu überführen.



- Bei der Abnahme ist zu beachten, dass kein Blutabnahmesystem mit Antikoagulantien (mit Ausnahme von EDTA) oder Trenn-Gel verwendet wird.
- Die Probenlagerung für mehr als vier Tage muss bei unter -25°C erfolgen, wiederholtes Einfrieren und Auftauen des Serums / Plasmas ist nicht gestattet.
- Die Lagerung von Studienproben länger als drei Monate muss bei Temperaturen unter -35°C, besser bei -80°C erfolgen.
- Ein leichtes Frühstück vor der Blutentnahme ist zulässig.
- Die Blutentnahme sollte vormittags erfolgen.

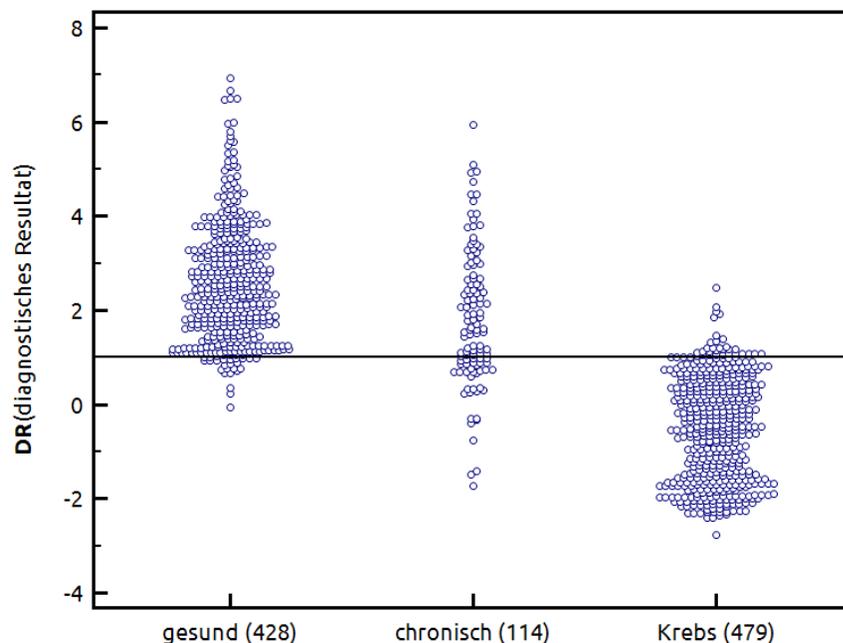
Die veränderte Fettsäurebindung kann mit Hilfe der Elektronenspinresonanz (ESR) gemessen werden.

Die aus den ESR-Spektren gewonnenen Parameter ermöglichen die Berechnung einer integralen Diskriminierungs-Funktion (**DR** – diagnostisches **R**esultat).

Im Falle eines DR-Wertes kleiner als 1,0 ist der Konformationsstatus des Albumins verändert, das bedeutet, es besteht bzw. entwickelt sich mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit eine maligne Erkrankung.

Bei Messung eines DR-Wertes größer als 1,2 kann kein aktives Tumorgeschehen nachgewiesen werden. Der Grenzbereich umfasst Werte von 0,8 bis 1,2. In diesem Grenzbereich besteht ein erhöhtes Risiko für das Vorhandensein von aktivem Tumorgeschehen.

Der Albumin-Funktionstest zeigte in klinischen Studien -in Abhängigkeit der Lokalisation- eine hohe Spezifität (ca. 90%) und Sensitivität (ca. 90%) [10 - 14].



## Anwendungsgebiete

- Therapiemonitoring und Rezidivkontrolle
- Früherkennung von Krebs bei Risikogruppen (Kontakt zu potentiell krebsauslösenden Stoffen, gehäuftes Auftreten von Krebs in der Familie)

## Albumin-Funktionstest

Der Albumin-Funktionstest bietet die Möglichkeit, auf schnelle und einfache Weise zu überprüfen, ob im Körper ein aktives Tumorgeschehen vorliegt.

Dass Albumin eine Vielzahl unterschiedlicher Moleküle transportieren kann, basiert auf seiner hohen Konformationsflexibilität.

Die von Tumorzellen ins Blut abgegebenen Peptidfragmente oder Lipide können an das Albumin binden [5, 9] und beeinflussen die Albumin-funktion durch Veränderungen in seiner Konformation.

Unter pathologisch veränderten Bedingungen kommt es zu verschiedenen Modifikationen der Konformationsmobilität des Albumins, welche zu veränderten Transport- und Detoxifikationscharakteristika führen.

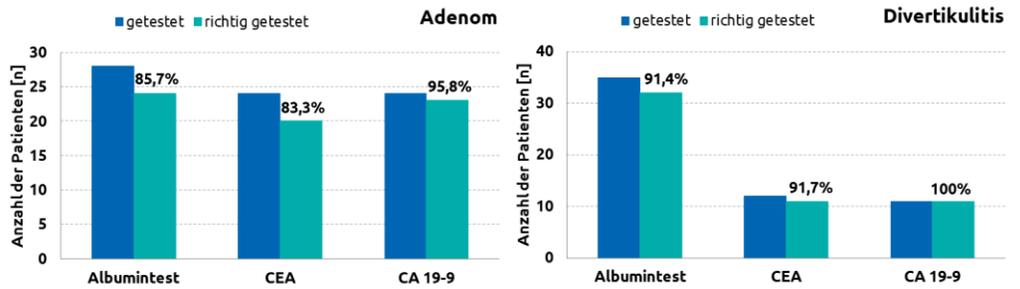
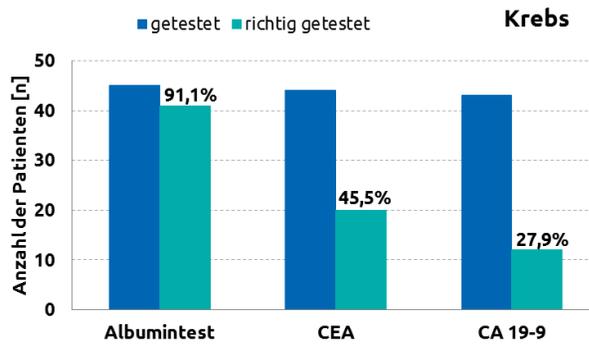
Im Fall einer malignen Erkrankung unterscheiden sich die Bindungskapazitäten des Albumins signifikant von nicht malignen bzw. gesunden Serumproben.

# Studienergebnisse

## Vergleich mit Tumormarkern

Im Rahmen einer Studie [13] mit Patienten mit Dickdarmerkrankungen wurde der Albumin-Funktionstest mit den Tumormarkern CEA (Carcino-Embryonales Antigen) und CA 19-9 verglichen.

Bei Krebspatienten zeigte der Albumin-Funktionstest eine deutliche Überlegenheit (91,1% richtig) im Vergleich zu den Tumormarkern CEA (45,5% richtig) und CA19-9 (27,9% richtig).



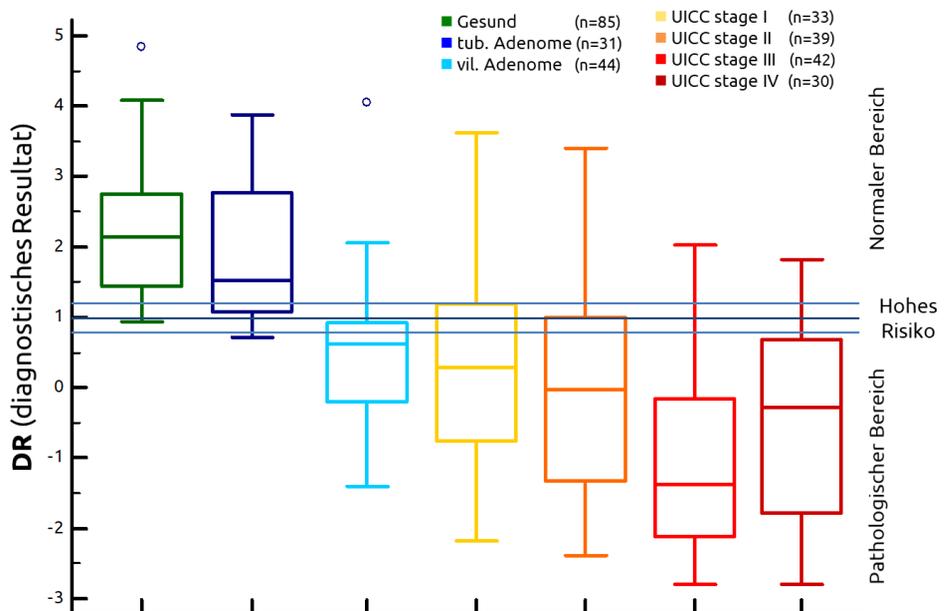
Bei Patienten mit Adenomen bzw. Divertikulitis sind der Albumin-Funktionstest und die konventionellen Tumormarker CEA und CA 19-9 in ihrer Spezifität vergleichbar.

## Patienten mit Kolorektalen Erkrankungen

In Berlin, Bochum und Moskau wurden Studien mit Patienten mit malignen und benignen kolorektalen Erkrankungen durchgeführt.

Es zeigte sich eine deutliche Korrelation zwischen dem DR-Wert und der Malignität bzw. dem Risiko der malignen Entartung.

Weitere Studien folgen, um die Fallzahlen in den verschiedenen Gruppen zu erhöhen und diese Ergebnisse zu überprüfen.



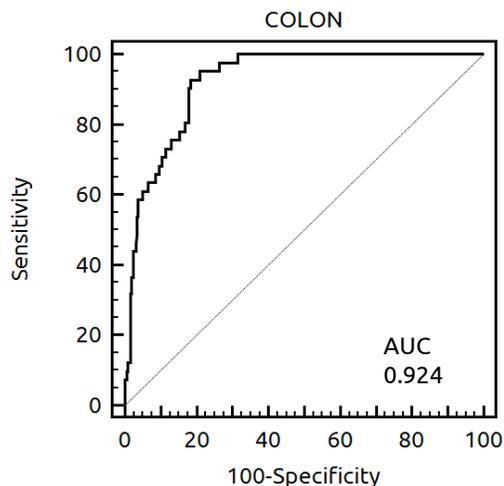
Nach einer Validierungsstudie bezüglich benigner und maligner kolorektalen Erkrankungen könnte der Albumin-Funktionstest in der Früherkennung von Dickdarmkrebs bei Risikogruppen und zur Verlängerung der Zeitintervalle von Koloskopien eingesetzt werden. [DRKS-ID der aktuelle Studie – DRKS00025249]

# Experimentelle Ergebnisse

## Erste Ergebnisse zur Bestimmung der Krebs-Lokalisation

In einem „proof of concept“-Projekt wurden für die vier Krebsarten Darm-, Pankreas-, Prostata- und Brustkrebs Algorithmen entwickelt.

Die ROC Kurve der Darmkrebs-Klassifikation ist exemplarisch dargestellt. Es wurden 41 Darmkrebspatienten mit 322 Patienten mit Pankreas-, Prostata- oder Brustkrebs, sowie Patienten mit gutartigen Darmerkrankungen und gesunden Personen verglichen.



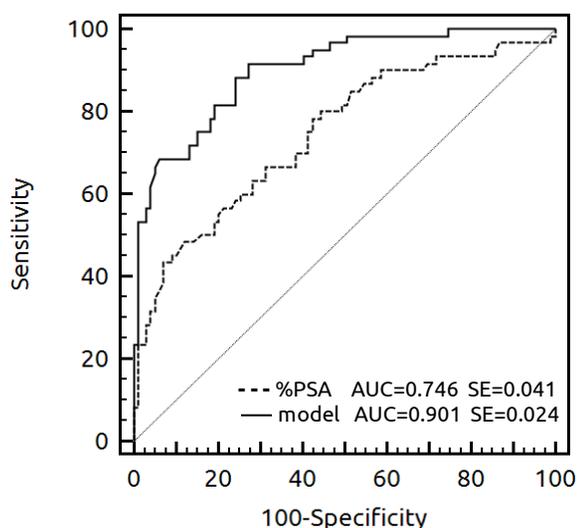
Die ersten Analysen der, aus den ESR-Spektren gewonnenen, biophysikalischen Parameter haben gezeigt, dass eine Unterscheidung verschiedener Krebsarten möglich ist.

Weitere Untersuchungen mit größeren Fallzahlen und weiteren Krebsarten werden durchgeführt, um diese ersten Ergebnisse zu überprüfen.

[DRKS-ID der aktuelle Studie – DRKS00025249]

## Der Albumin-Funktionstest kann die Diagnostik von Prostatakrebs verbessern

Dargestellt ist ein Vergleich der ROC Kurven vom Verhältnis von freiem zu totalem PSA (%PSA) und einer Parameterkombination von %PSA, totalem PSA, der Albuminkonzentration und dem DR-Wert (model) von 60 Prostatakrebspatienten und 99 gesunden Kontrollen (gleiche Altersverteilung).



Die Studie wurde in Zusammenarbeit mit der Abteilung für Onkologie und Krebs-Epidemiologie des Universitätskrankenhauses Lund in Schweden 2010 durchgeführt, (unveröffentlichte Ergebnisse).

Mit Hilfe einer Parameterkombination von PSA-bezogenen Werten und dem Albumin-Funktionstest ist es möglich die Diagnostik von Prostatakrebs ohne weitere invasive Methoden zu verbessern.

Alle Werte können aus der selben Blutprobe gewonnen werden.

## Rationale der aktuellen Studie (DRKS-ID – DRKS00025249)

Die zuvor dargestellten Ergebnisse werden in einer aktuellen, umfangreichen Studie validiert.

Die Gruppe mit Krebspatienten wird eingeschlossen, um die Sensitivität des Albumin-Funktionstests in Abhängigkeit von der Krebslokalisierung zu bestimmen und die Algorithmen für die Lokalisation zu optimieren.

Die Korrelation des DR-Wertes mit dem Tumorstadium bzw. der Tumorgröße wird analysiert und mit etablierten Tumormarkern verglichen.

Die zusätzliche Verwendung der Transportparameter zur Optimierung der diagnostischen Güte wird analysiert.

Die Gruppe der benignen Erkrankungen und der Krebs-gesunden Probanden ermöglicht es unter Anderem das Modell zur Erkennung von Prostatakrebs zu überprüfen.

Es werden in dieser multizentrischen, prospektiven Studie (Raum Berlin-Brandenburg) 1500 Probanden mit dem Albumin-Funktionstest untersucht. Die Studienpopulation teilt sich in drei verschiedene Gruppen.

Die Gruppe von Patienten mit gutartigen Erkrankungen soll die klinische Anwendungssituation widerspiegeln, in welcher die Mediziner eine Unterscheidung zwischen gut- und bösartig benötigen.

Die Gruppe der Gesunden, mit gleicher Alters- und Geschlechtsstruktur wie die beiden anderen Gruppen, wird zur Bestimmung der Spezifität benötigt, welche auch in der Situation einer Rezidivkontrolle bei asymptomatischen Patienten notwendig ist.

### Krebs-Gesund-Gruppe

- 300 gesunde Freiwillige
- ohne jegliche entzündlichen Erkrankungen in den letzten vier Wochen
- ohne Krebs bzw. Krebstherapie in den letzten zwei Jahren
- mit gleicher Alters- und Geschlechtsverteilung wie in den beiden anderen Gruppen

### Krebs-Gruppe

- 500 Patienten mit therapie-naiver Krebserkrankung
- ohne jegliche krebsunabhängige Therapie/invasive Diagnostik oder entzündliche Erkrankungen in den letzten vier Wochen
- mit einer der folgenden Krebslokalisationen: Brust, Prostata, Lunge, Dickdarm, Uterus, Magen, Harnblase, Niere, Bauchspeicheldrüse bzw. Non-Hodgkin Lymphom (NHL)
- jede Krebslokalisation sollte ca. 50 Patienten einschließen mit möglichst gleicher Verteilung der Stadien

### Benigne-Gruppe

- 700 Patienten mit benignen Erkrankungen der gleichen Organe wie die der Krebspatienten, welche die klinische Situation reflektieren, in der der Test verwendet werden soll (suspekt für Malignität)
- für jedes Organ sollen mindestens 50 Patienten eingeschlossen werden

# Literatur

1. Peters TJ (1995) All about Albumin: Biochemistry, Genetics, and Medical Applications Academic Press, New York
2. Bhattacharya AA, Grune T, Curry S (2000) Crystallographic analysis reveals common modes of binding of medium and long-chain fatty acids to human serum albumin. *J Mol Biol* 303: 721-732
3. Simard JR, Zunszain PA, Ha CE et al. (2005) Locating high-affinity fatty acid-binding sites on albumin by x-ray crystallography and NMR spectroscopy. *PNAS* 102: 17958-17963
4. Kawashima Y, Fukutomi T, Tomonaga T et al. (2010) High-yield peptide-extraction method for the discovery of subnanomolar biomarkers from small serum samples. *J Proteome Res* 9: 1694-1705
5. Lowenthal MS, Mehta AI, Frogale K et al. (2005) Analysis of albumin-associated peptides and proteins from ovarian cancer patients. *Clin Chem* 51: 1933-1945
6. Mehta AI, Ross S, Lowenthal MS, Fusaro V et al. (2003) Biomarker amplification by serum carrier protein binding. *Dis Markers* 19: 1-10
7. Taboada P, Barbosa S., Emilio Castro et al. (2007) Effect of solvation on the structure conformation of human serum albumin in aqueous–alcohol mixed solvents. *Chemical Physics* 340: 59-68
8. Reed RG, Burrington CM (1989) The albumin receptor effect may be due to a surface-induced conformational change in albumin. *J Biol Chem* 264: 9867-9872
9. Xu Y, Shen Z, Wiper DW; et al. (1998) Lysophosphatidic acid as a potential biomarker for ovarian and other gynecologic cancers. *JAMA* 280(8): 719-723
10. Seidel P, Gurachevsky A, Muravsky V, Schnurr K et al. (2005) Recognition of malignant processes with neural nets from ESR spectra of serum albumin. *Z Med Phys* 15: 265-272
11. Kazmierczak SC, Gurachevsky A, Matthes G et al. (2006) Electron spin resonance spectroscopy of serum albumin: a novel new test for cancer diagnosis and monitoring. *Clin Chem* 52: 2129-2134
12. Gurachevsky A, Kazmierczak SC, Jörres A et al. (2008) Application of spin label electron paramagnetic resonance in the diagnosis and prognosis of cancer and sepsis. *Clin Chem Lab Med.* 46(9): 1203-10
13. Gelos M, Hinderberger D, Welsing E, Belting J, Schnurr K, et al. (2010) Analysis of albumin fatty acid binding capacity in patients with benign and malignant colorectal diseases using electron spin resonance (ESR) spectroscopy. *Int J Colorectal Dis* 25: 119-127
14. Moergel M, Kammerer PW, Schnurr K et al. (2012) Spin electron paramagnetic resonance of albumin for diagnosis of oral squamous cell carcinoma (OSCC). *Clin Oral Investig* 16: 1529-1533



MedInnovation GmbH – Groß-Berliner Damm 151, 12487 Berlin  
Telefon: +49 (0)30 720 126 31 – Fax: +49 (0)30 720 126 36  
[www.medinnovation.de](http://www.medinnovation.de)