

Deutsche Vereinte Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin e.V.

PRÄSIDIUM

Präsident	Prof. Dr. K. Lackner, Mainz
Vizepräsident	Prof. Dr. J. Thiery, Leipzig
Schriftführer	Prof. Dr. K. P. Kohse, Oldenburg
Schatzmeister	Prof. Dr. H. Patscheke, Karlsruhe
Weitere Präsidiumsmitglieder	Prof. Dr. R. Lichtinghagen, Hannover Prof. Dr. J. Aufenanger, Ingolstadt

GESCHÄFTSSTELLE

Geschäftsführer	Dr. Jens Klabunde Geschäftsstelle der DGKL Friesdorfer Str. 153, D-53175 Bonn Telefon: 02 28 - 92 68 95-22 Telefax: 02 28 - 92 68 95-27 e-mail: geschaeftsstelle@dgkl.de
-----------------	---

STÄNDIGE KOMMISSIONEN

Kommission für die Weiterbildung
und Anerkennung als klinischer Chemiker

Vorsitz Prof. Dr. I. Schimke, Berlin

Kommission für die Ausbildung

Vorsitz Prof. Dr. C. Knabbe, Stuttgart

REFERENZINSTITUT FÜR BIOANALYTIK

Geschäftsstelle	Dr. R. Kruse Dr. W.- J. Geilenkeuser Friesdorfer Str. 153, D-53175 Bonn Telefon: 02 28 - 92 68 95-0 Telefax: 02 28 - 92 68 95-29
-----------------	--

Wissenschaftlicher Beirat

Vorsitz Prof. Dr. L. Siekmann, Bonn

MITTEILUNGEN

Schriftleitung Prof. Dr. Dr. med. T. Demant, Dresden

INHALTSVERZEICHNIS

AUS DEM PRÄSIDIUM

Status Quo der Sektionen und Arbeitsgruppen der DGKL	49
Prof. Dr. R. Lichtinghagen; Hannover	

AUS DEM REFERENZLABOR FÜR BIOANALYTIK

Das Referenzlaboratorium Hannover des Referenzinstituts für Bioanalytik	52
- wir stellen uns vor!	
Prof. Dr. G. Schumann; Hannover	

AUS DER GESELLSCHAFT

Arbeitsgruppenbericht: Diagnostische Pfade - ein Klinikhandbuch wird erstellt!	54
Prof. W. Hofmann; München	
Arbeitsgruppenbericht: Tätigkeiten der AG Bioinformatik 2003 bis 2010	56
Prof. Dr. Med. G. Hoffmann; Grafrath	
Forschungsbericht: Identifizierung und Quantifizierung von Proteinen zur	58
Frühdiagnose der Atherosklerose mittels Liquid Chromatography-Quadrupol-	
Linear Iontrap Mass Spectrometry (LC-QTrap MS)	
U. Ceglarek, , J. Thiery; Leipzig, M. Fiedler; Bern	
Forschungsbericht: Bestimmung der Thrombozytenaggregabilität mithilfe von	66
Impedanz-Aggregometrie	
Prof. E. Gurr; Bremen	

AUS DEM MITGLIEDERKREIS

Dissertation: Struktur und Funktion des Adhäsionsrezeptors L-Selektin	70
Dr. S. Wedepohl; Berlin	
Dissertation: Die lipidomische Analyse der humanen Blutzellen	73
K. Rübsaamen; Grenzach-Wyhlen	
Dissertation: Der Einfluss von Mycophenolat-Mofetil (MMF) auf die	76
renale Fibrogenese: Bedeutung für neue therapeutische Ansätze	
F. Brehmer; Göttingen	

Dissertation: Untersuchungen zur Bioaktivität von molekularen Isoformen des Resistins in humanen Liquor-Serum-Probenpaaren C. S. Heine; Leipzig	79
Dissertation: Evaluation eines Radioimmunoassays zur Bestimmung der freien Metanephrene im Plasma im Vergleich zu bisher angewandten biochemischen Verfahren in der Diagnostik des Phäochromozytoms U. Miehle; Leipzig	80
Habilitation: Multiparametrische Analytik mit Tandem-Massen-Spektrometrie, eine Herausforderung für die moderne Labormedizin Dr. U. Ceglarek; Leipzig	82
Habilitation: Peptidomanalytik mit MALDI-TOF Massenspektrometrie - Von der Präanalytik zur klinischen Diagnostik Dr. M. Fiedler; Bern	86
VERANSTALTUNGEN	
Tagungsbericht: DGKL-Symposium und Anwendertreffen der AG LC-MS/MS Dr. U. Ceglarek; Leipzig	89
9. Anwendertreffen der DGKL-Arbeitsgruppe LC-MS/MS in der Labormedizin	90
Konferenz Nachwuchsrekrutierung und Nachwuchsförderung	91
Repetitorium Klinische Chemie 2011, Leukozytendifferenzierkurs 2011	92
4th EuCheMS Chemistry Congress, Prag	93
DGTI 2011	94
Veranstaltungskalender	95
STELLENANSCHEIBUNGEN	96
PERSONALIA	
Neue Mitglieder, Verschollene Mitglieder, Verstorbene Mitglieder 	98
75. Geburtstag von Werner Jaroß	100
Erratum	103

Deutsche Vereinte Gesellschaft für
Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin e.V.

HERAUSGEBER	Prof. Dr. med. Karl Lackner, Präsident der Deutschen Vereinten Gesellschaft für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin e.V., Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Langenbeckstr. 1, Gebäude 605, 55101 Mainz, Tel: +49 (06131) 17-7190
SCHRIFTLEITUNG UND REDAKTION	Prof. Dr. Dr. med. Thomas Demant, Krankenhaus Dresden-Friedrichstadt, Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Friedrichstr. 41, 01067 Dresden, Tel: +49 (0351) 480-3900, e-Mail: demant-th@khdf.de
LAYOUT UND SATZ	Vanessa Dietrich, Geschäftsstelle der DGKL, Friesdorfer Str. 153, 53175 Bonn, Tel: +49 (0228) 926895-22, e-Mail: geschaeftsstelle@dgkl.de
ANZEIGENVERWALTUNG	Büro-, Verlags- und Tagungsservice Dagmar Strebel, Belfortstraße 10, 76133 Karlsruhe, Tel: +49 (0721) 920-3436, e-Mail: bvt-dagmar-strebel@t-online.de
DRUCK UND VERSAND	Bonner Druck & Medien, Radzey & Wackerow GmbH, René Günther, Auguststr. 1, 53229 Bonn, Tel: +49 (0228) 467766, e-Mail: R.Guenther@bonner-druck-medien.de
AUFLAGE	ca. 1200 Stück
ERSCHEINUNGSWEISE	vierteljährlich
ISSN	0173-6647

Status Quo der Sektionen und Arbeitsgruppen der DGKL

PROF. DR. R. LICHTINGHAGEN, Hannover

In einer ersten Verlautbarung des Präsidiums wurde im April 2009 in den *Klinische Chemie Mitteilungen* der Beschluss zur Einrichtung von Sektionen bekannt gegeben. Hiermit sollten allen Mitgliedern neue Plattformen geboten werden, in denen die Möglichkeit besteht, sich mit übergeordneten labordiagnostisch relevanten Themenkreisen zu befassen. Bereits bestehende Arbeitsgruppen waren von der Neuerung prinzipiell unberührt. Es mag sich vielleicht so manches Mitglied die Frage gestellt haben, worin sich denn Sektion und AG nun inhaltlich bzw. organisatorisch exakt abgrenzen.

DIE SEKTION ALS LANGFRISTIG AUSGERICHTETE ARBEITSPLATTFORM

Jedes Mitglied, welches zwischenzeitlich der DGKL beigetreten ist, wird bemerkt haben, dass bereits mit dem Aufnahmeantrag - je nach eigener Interessenlage - ein kostenloser Beitritt zu ein bis zwei Sektionen unserer Fachgesellschaft möglich ist. Im Gegensatz zu den AGs gibt es keine nach oben limitierte Mitgliederzahl in den Sektionen, wobei aber eine Mindestanzahl von 15 Mitgliedern für eine Weiterführung der Sektionsarbeit als erforderlich angesehen wird. Sowohl Sektionen als auch AGs bekommen von der Geschäftsstelle ein Budget zugewiesen.

Entsprechend ist die Mitgliederzahl einer AG in der Regel auf sechs Personen begrenzt. Die Einhaltung dieses Budgets unterliegt der Kontrolle des jeweiligen AG- bzw. Sekti-



PROF. RALF LICHTINGHAGEN

onsleiters. Langfristig wäre es ein anzustrebender Idealzustand, wenn sich nahezu alle Arbeitsgruppen als spezialisierte Untereinheiten der Sektionen wiederfinden würden. Schließlich sollen in einem solchen Forum im Expertenkreise - durchaus auch gewünscht in Kooperation mit der Industrie - spezifische Fragestellungen aus den Sektionen bearbeitet werden.

Zwar behält sich das Präsidium auch vor inaktive Sektionen wieder aufzulösen, doch ist im Gegensatz zu den AGs die Einrichtung von Sektionen perspektivisch eher langfristig ausgerichtet. Seit der Beschlussfassung wurden bis heute drei Sektionsgründungen vollzogen: nämlich die Sektion **Endokrinologische Laboratoriumsdiagnostik** (Ltg.: M. BIDLINGMAIER), die Sektion

Molekulare Diagnostik (Ltg.: M. NEUMAIER) sowie die Sektion **Immundiagnostik** (Ltg.: K. CONRAD).

ARBEITSGRUPPENAKTIVITÄTEN

Seitens des DGKL-Präsidiums wird ein jährlicher Statusbericht eingefordert, in welchem alle Arbeitsgruppenleiter die Aktivitäten des letzten Jahres kurz skizzieren und auf sonstige relevante Veränderungen innerhalb der AGs eingehen können. Im Jahr 2010 existierten 15 offizielle Arbeitsgruppen, wovon nach Sachlage der aktuellen Jahresberichte die AGs **Hämostaseologische Labordiagnostik** sowie **Oxidativer Stress** ihre Arbeit inzwischen eingestellt haben und ferner die AG **Autoimmundiagnostik** erst einmal in der neu gegründeten Sektion **Immundiagnostik** aufgehen wird. Vom Präsidium wird es begrüßt, wenn sich AGs/Sektionen aktiv auf den DGKL-Jahrestagungen in Form eigener Symposien einbringen. Dieses wird auch von vielen AGs inzwischen umgesetzt. Darüber hinaus gibt es für interessierte Fachkreise seitens einiger Arbeitsgruppen regelmäßige Jahrestagungen in Form offener, wissenschaftlicher Symposien. Hier seien die AGs **LC-MS/MS** und **Toxikologie** genannt, die ihre Veranstaltungen jeweils im Kloster Banz durchführen. Die AG Proteomics organisierte in Hamburg die Tagung „Stem Cell-Tumor-Proteomes“ und verschiedene AGs, die inzwischen der Sektion **Molekulare Diagnostik** angehören,

organisieren ein gemeinsames Treffen, welches schon traditionell jeweils im Mai (2011 bereits zum 10. Mal) in der Evangelischen Akademie Tutzing stattfindet. Während dieses Treffen im Jahr 2010 von den ethischen und rechtlichen Rahmenbedingungen des Gendiagnostikgesetzes sowie den Aspekten der massiv parallelen genetischen Diagnostik beherrscht wurde, widmet sich die Sektion in diesem Jahr wieder schwerpunktmäßig zentralen Themen der molekularen (onkologischen) Diagnostik.

Zahlreiche Ergebnisse aus den Arbeitsgruppenaktivitäten wurden wieder in Form von Originalpublikationen und Buchbeiträgen veröffentlicht. Darüber hinaus werden alle AGs und Sektionen gebeten, Ziele und Ergebnisse ihrer Aktivitäten auf der DGKL-Homepage zu präsentieren.

AKTUELLE ENTWICKLUNGEN VON SEKTIONEN UND ARBEITSGRUPPEN

Neben den verbliebenen zwölf Arbeitsgruppen kam aktuell im April 2011 unter meiner Leitung die AG **Öffentlichkeitsarbeit** als Neugründung hinzu. Diese Arbeitsgruppe wird sich im Wesentlichen damit beschäftigen, wie die DGKL die Außenwahrnehmung der Labormedizin in Deutschland positiv beeinflussen kann. Unter Einsatz von Marketing / Management-Instrumenten, wie beispielsweise IST/SWOT-Analysen, soll an einem Konzeptpapier zu entsprechenden Leitlinien gearbeitet werden. Ab Ende Mai

wird es ferner zur Erarbeitung von Empfehlungen bzgl. Diagnostik und Konsultation die Neukonstitution einer AG **Porphyrrie** geben.

UNTER DEM GEMEINSAMEN DACH VON SEKTIONEN WEITERE SYNERGIEN SCHAFFEN

Zurzeit sind nur vier Arbeitsgruppen in einer thematisch übergeordneten Sektion beheimatet. Es handelt sich hierbei um die AGs **Genomics, Proteomics, Bioinformatik** und **Biobanking** als Teil der Sektion **Molekulare Diagnostik**. Somit sei an dieser Stelle noch einmal darauf hingewiesen, dass durchaus noch weiterer Bedarf an neu zu gründenden Sektionen besteht. In der Gründungssitzung der AG **Öffentlichkeitsarbeit** wurde dieser Punkt diskutiert und erwogen bei mehreren thematisch verwandte Arbeitsgruppen (**Labormanagement, Öffentlichkeitsarbeit, Diagnostische Pfade, Multimediale Lehre, Entscheidungsgrenzen / Richtwerte, POCT sowie In-/ Outsourcing**) zu prüfen, ob diese zur besseren Ausnutzung synergistischer Effekte unter dem gemeinsamen Dach einer Sektion (mein Vorschlag zur Diskussion) **Labormanagement** zusammengefasst werden können. Letztgenannte Arbeitsgemeinschaft hat zurzeit zwar keinen offiziellen AG-Status, würde aber thematisch in besonderem Maße die Arbeit einer solchen Sektion unterstützen. Zum jetzigen Zeitpunkt kann die Frage nach einer Neugründung noch nicht abschließend beantwortet werden. Es zeichnet

sich aber bereits ab, dass ein in Kürze anstehender Antrag zur Sektionsneugründung eine breite Unterstützung finden wird. Unabhängig davon wird dieses Jahr noch der Eingang eines Antrags zur Neugründung einer Sektion **Pädiatrische Laboratoriumsdiagnostik** erwartet.

FAZIT

Im Jahr 2011 kann sich die DGKL auf die aktive Mitarbeit von 14 Arbeitsgruppen und drei Sektionen stützen. Weitere Sektionsgründungsanträge sind nach wie vor erwünscht, vor allem, wenn es das Zusammenwirken von AG-Arbeit zu optimieren vermag.

Zur Verbesserung der Zusammenarbeit innerhalb einer Sektion wäre es zukünftig sinnvoll, wenn den aktiven Sektionsmitgliedern zeitnah die Protokolle aller jeweils zurückliegenden AG-Treffen aus der eigenen Sektion zukommen würden.

PROF. DR. RALF LICHTINGHAGEN
Mitglied Präsidium

Das Referenzlaboratorium Hannover des Referenzinstituts für Bioanalytik – wir stellen uns vor!

Der Aufbau des Referenzlaboratoriums in Hannover begann vor ca. 30 Jahren unter dem damaligen Direktor des Instituts für Klinische Chemie der Medizinischen Hochschule Hannover, PROF. DR. DR. J. BÜTTNER. Er war einer der Initiatoren, die auf internationaler Ebene begonnen hatten, die Voraussetzungen zur Entwicklung von Referenzsystemen für klinisch-chemische Messgrößen zu schaffen. Solche Referenzsysteme sollen die Genauigkeit der Analytik im medizinischen Routinelaboratorium verbessern und eine weltweite Harmonisierung der Messergebnisse in biologischen Flüssigkeiten ermöglichen.

In den Arbeitsgruppen unter der Leitung von PROF. DR. W. R. KÜLPMANN und PROF. DR. G. SCHUMANN entstanden erste Referenzmethoden für Kalium und Glukose. Die Messgrößen waren so ausgewählt, dass unterschiedliche chromatografische Trennverfahren und eine breite Palette spektroskopischer Methoden zur Anwendung gelangten. Bei der Auswahl der Messgrößen wurde anfangs darauf Wert gelegt, dass die Physikalisch-Technische Bundesanstalt (PTB) die entsprechende Messgröße mit noch größerer Genauigkeit analysieren konnte. Mehr und mehr wuchs das Verständnis im Team der Hannoverschen Referenzlaboratorien dafür, was

„metrologische Rückführung“ und „Messunsicherheit“ bedeuten. Dank der exzellenten Kooperation mit dem Referenzlaboratorium des RfB in Bonn und Dank der Unterstützung der PTB bei Vergleichsmessungen auf metrologisch sehr hohem Niveau wurden Qualitätsmanagementsysteme für die beiden Referenz-/Kalibrierlaboratorien in Hannover entwickelt. Die Akkreditierung der ersten Referenzmethode für die Messgröße (Glukose) erfolgte 2004 im Referenzlaboratorium (DKD-K-20602), das von PROF. SCHUMANN geleitet wurde. Im Referenzlaboratorium (DKD-K-20603) von Prof. Külpmann wurde 2005 die erste Referenzmethode für die Messgröße (Kalium) akkreditiert. Die Entwicklung von Referenzprozeduren zur Bestimmung katalytischer Enzymkonzentrationen und deren Anwendung als Beitrag zur optimierten Kalibrierung der entsprechenden Routinemethoden bilden einen Schwerpunkt des Hannoverschen Referenzlaboratoriums. Mittlerweile sind Referenzprozeduren für sechs Enzyme akkreditiert. In diesem Jahr wird die Akkreditierung der Referenzprozedur für die Alkalische Phosphatase abgeschlossen. Nachdem PROF. KÜLPMANN in den Ruhestand gegangen war, wurden beide Referenzlaboratorien organisatorisch zusammengeführt und seit Ende 2009 offiziell bei

DAkKS-DKD als Kalibrierlaboratorium DKD-K-20602 geführt.

Das von PROF. SCHUMANN geführte Team des Referenzlaboratoriums in Hannover umfasst vier technische MitarbeiterInnen: FRAU EVA PANTEN, FRAU RENATE STRACHE, HERR RAINER KLAUKE, HERR WOLFGANG WERNER. Das gesamte Team repräsentiert die Kompetenz von insgesamt 111 Jahren analytischer Erfahrung mit Referenzprozeduren. Die Leistungen des Referenzlaboratoriums im Auftrag des RfB umfassen Referenzanalysen für akkreditierte und (noch) nicht akkreditierte Messgrößen. Bis heute wurden 799 offizielle Kalibrierscheine ausgestellt. Darüber hinaus wurden viele Referenzmethodenwerte für Messgrößen aus dem noch nicht offiziell akkreditierten Bereich erstellt. Außerdem wird an der Entwicklung weiterer Referenzprozeduren gearbeitet. Hier das Leistungsangebot des Referenzlaboratoriums in Hannover:

Referenzprozeduren, ISO 15195/ ISO 17025 akkreditiert:

- Glukose (ID-GC-MS)
- Lithium, Kalium, Natrium (ICP-OES)
- α -Amylase, ALT, AST, CK, γ -GT, LDH (kinetische Spektrofotometrie)

Referenzprozeduren (noch) nicht akkreditiert:

- Alkalische Phosphatase (kinetische Spektrofotometrie)
- Theophyllin (ID-GC-MS)
- Calcium, Magnesium (AAS bzw. ICP-OES)
- Chlorid (Coulometrie)
- Gesamt-Protein (Spektrofotometrie)
- Gesamt-Bilirubin (Spektrofotometrie)
- Anorganisches Phosphat (Ionenchromatografie mit Leitfähigkeitsdetektion)

Referenzprozeduren unter Bearbeitung:

- Ciclosporin, Tacrolimus, Sirolimus, Everolimus (LC-MS/MS)
- Natrium, Kalium, Chlorid, pH (Potentiometrie)

VERFASSEN:

PROF. DR. G. SCHUMANN

Leiter des Referenzlaboratoriums Hannover

Institut für Klinische Chemie

(Direktor: Prof. Dr. med. K. Brand)

Carl-Neuberg-Str. 1

30623 Hannover

Arbeitsgruppenbericht

Diagnostische Pfade – ein Klinikhandbuch wird erstellt!

W. HOFMANN, J. AUFENANGER , G. HOFFMANN

Die DGKL hat sich durch die Gründung der Arbeitsgruppe „Diagnostische Pfade“ im Jahr 2006/2007 intensiv der Thematik strukturerter, IT-gestützter Laboranforderungen angenommen. Zielsetzung und Ergebnisse wurden im Internet, auf der Medica (2006 u. 2008) und in Form von zahlreichen Publikationen einer breiten Öffentlichkeit dargelegt. Kernpunkt der Zielsetzung ist die Hervorhebung der diagnostischen Aspekte im Gesamtkontext „Klinischer Pfade“. Basierend auf den ersten Beispielpfaden wurde 2010 beschlossen, die Ergebnisse in einem Buchprojekt zu bündeln. Dies war Kernpunkt der Arbeiten im Jahr 2010 und wird es auch 2011 bleiben. Eine Vorstellung auf dem ISGKC-Jahreskongress in Zürich ist geplant.

Mit dem Schritt der Gründung einer Arbeitsgruppe wurden zwar die Voraussetzungen geschaffen, aber die Erstellung konsentierter Pfade erwies sich im zweiten Schritt (erwartungsgemäß) als zeitlich und inhaltlich nicht einfach. Etwa 90 Prozent der Texte befinden sich in der redaktionellen Bearbeitung, der Rest wird bis Ende Juni erwartet.

Dieses Buch stellt die Grundlage für das weitere Projekt dar. Das Vorgehen wurde am 10.05.2010 in einer Arbeitsgruppensitzung zwischen den Autoren, dem Verlag und den

Herausgebern abgestimmt und vereinbart.

Die Mitglieder des Buchprojektes und ihre Themenbereiche finden Sie auf der nächsten Seite.

Wir hoffen, dass wir in der Zukunft weitere Kolleginnen und Kollegen gewinnen können, Ihre Spezialgebiete in Form von Pfaden darzustellen. Letztendlich profitieren alle, Anwender, Patienten und Kostenträger von der sicheren Dokumentation der Prozesse und der damit verbundenen schnelleren Diagnosestellung.

Letztlich bringt die Entwicklung diagnostischer Pfade auch die Laboratoriumsmedizin selbst rascher voran, indem sie dazu zwingt, innovative Tests ständig auf ihre praktische Nützlichkeit zu prüfen und im Konsens mit anderen Disziplinen in die Routine einzuführen, wenn die Zeit reif ist.

VERFASSER:

PROF. DR. MED. WALTER HOFMANN

Department Klinische Chemie der StKM-GmbH, Kölner Platz 1, 80804 München
Tel.: (089)3068-2670-FAX: (089)3068-3911

E-Mail: walter.hofmann@klinikum-muenchen.de

Die Autoren im Einzelnen:

Themenstellung	Mitglieder
Internistische-Chirurgische Aufnahmeprofile	Prof. Dr. J. Aufenanger, Ingolstadt, Klinikum Ingolstadt GmbH, Institut für Laboratoriumsmedizin, Johannes.Aufenanger@klinikum-ingolstadt.de
Nephrologie	Prof. Dr. W. Hofmann München, Städtische Klinikum München GmbH, Institut für Klinische Chemie, walter.hofmann@klinikum-muenchen.de
Immunologie/Allergologie	Prof. Dr. H. Renz, Marburg, Universitätsklinikum, Institut für Klinische Chemie, renzh@med.uni-marburg.de
Hämatologie	Prof. Dr. Dr. P. Sinha, Klagenfurt, Landeskrankenhaus Institut für medizinische und chemische Labordiagnostik, Pranav.Sinha@lkh-klu.at
Neurologie	Dr. M. Wick, München, Universitätsklinikum Großhadern, Institut für Klinische Chemie, Manfred.Wick@med.uni-muenchen.de
Toxikologie	Dr. J. Hallbach, München Städtische Klinikum München GmbH, Institut für Klinische Chemie, juergen.Hallbach@klinikum-muenchen.de
Stoffwechsel (neue Arbeitsgruppe 2009)	Prof. Dr. A. v. Eckardstein, Universitätsklinikum, Zürich, Institut für Klinische Chemie, arnold.voneckardstein@usz.ch
Endokrinologie (neue Arbeitsgruppe 2009)	PD Dr. A. Stachon, Westpfalz-Klinikum GmbH, Institut für Laboratoriumsmedizin, astachon@westpfalz-klinikum.de
Hämostasiologie (Buchbeitrag)	PD Dr.Chri.Schambeck, Hämostasikum München, christian.schambeck@haemostasikum.de
Leber und Pankreaserkrankungen (Buchbeitrag)	Prof. Dr. M. Bachem, Universitaetsklinikum Ulm, Zentrale Einrichtung Klinische Chemie, max.bachem@uniklinik-ulm.de
Aszites, Punkate (Buchbeitrag)	Dr. Eray Yagmur, Medizinisches Versorgungszentrum Dr. Stein + Kollegen, eyagmur@labor-stein.de
Diagnostische Strategien, Historische Entwicklung (Buchbeiträge)	Prof. Dr. W.G.Guder, Walter.Guder@extern.lrz-muenchen.de
Umsetzung EDV (Buchbeiträge)	Prof. Dr. Georg Hoffmann Trillium GmbH: Hauptstraße 12 b. 82284 Grafrath, ghoffmann@trillium.de

Arbeitsgruppenbericht

Tätigkeiten der AG Bioinformatik 2003 bis 2010

Die nunmehr achtjährige Historie der AG Bioinformatik lässt sich in drei Phasen von jeweils drei Jahren einteilen.

2003-2005

In den ersten Drei Jahren wurde definiert, was Bioinformatik (im Gegensatz zu Biometrie, Labor-EDV etc.) ist und welchen Beitrag sie für das Fach Labormedizin und die DGKL leisten kann. Die Ergebnisse der Recherchen und Diskussionen wurden auf der Website der AG publiziert. Kurz zusammengefasst ist die Bioinformatik ein ähnlich umfangreiches Fachgebiet wie die Biochemie; sie befasst sich ebenso wie diese mit molekularen Strukturen und Funktionen, allerdings auf der Ebene von Datenbanken, Auswerteprogrammen und Computersimulationen anstelle von Analysegeräten, Reagenzien und naschemischen Experimenten. In beiden Fällen gilt das Hauptaugenmerk dem Genom, Transkriptom und Proteom.

2006-2008

Der Arbeitsschwerpunkt der folgenden Jahre lag auf der Testung öffentlich zugänglicher Bioinformatikprogramme und Datenbanken. Als Datenmaterial dienten beispielhaft Genexpressionsdaten auf mRNA-Ebene (z.B. die GEO-Datenbank des NCB). Drei Aktivitäten sind hervorzuheben:

Herr ZAPATKA analysierte mit den am DKFZ eingesetzten Werkzeuge zahlreiche Datensätze, um die Leistungsfähigkeit bioinformatischer Algorithmen (z.B. PCA, MDS, PAM) zu demonstrieren.

Der inzwischen verstorbene Kollege DR. HOLGER MÜLLER (Göppingen) erstellte Anleitungen für die Nutzung bekannter öffentlicher Werkzeuge und Datenbanken. Beispielsweise sei das Gene Cluster erwähnt, das auf der Website der AG unter Software erläutert ist.

Herr PROF. GEORG HOFFMANN erstellte im Rahmen eines DGKL-Forschungsprojekts das Programm SimChip zur Simulation von mRNA-Profilen auf der Basis von Fließgleichgewichten. Das Programm ist unter www.simchip.de öffentlich zugänglich.

Als Quintessenz dieser Phase kann man festhalten, dass die AG Bioinformatik in dieser Phase interne Expertise erreichte, die aber nur von speziell interessierten Mitgliedern der DGKL wahrgenommen wurde.

2009-2010

In den letzten drei Jahren wandte sich die Gruppe deshalb einer ausgesprochenen praxisnahen Anwendung zu, nämlich der Analyse von Profilen aus der normalen

labordiagnostischen Routine und aus klinischen Studien. Rein formal wurden zahlreiche Ähnlichkeiten zwischen Labor- und Genexpressionsprofilen identifiziert. Es zeigte sich auch, dass die Auswertelgorithmen der Bioinformatik, insbesondere der Mustererkennung auf Labordaten prinzipiell übertragbar waren. In der Praxis ergaben sich aber zahlreiche offene Fragen, vor allem bei der Datenaufbereitung (z.B. Normalisierung, Behandlung von Wertlücken). Im Rahmen eines weiteren von der DGKL geförderten Entwicklungsprojekts wurde ein prototypisches Excel-VBA-Programm erstellt, mit dem Lösungsvorschläge anhand von echten Labor Datensätzen getestet werden konnten. Das Projekt ist inzwischen abgeschlossen. Die Ergebnisse werden in der nächsten Ausgabe (Het 3, September) vorgestellt.

VERFASSTER:

PROF. DR. MED. GEORG HOFFMANN

Vorsitzender der AG Bioinformatik

Trillium GmbH

Hauptstr. 12b

D-82284 Grafrath

E-Mail: ghoffmann@trillium.de

Forschungsbericht

Identifizierung und Quantifizierung von Proteinen zur Frühdiagnose der Atherosklerose mittels Liquid Chromatography-Quadrupol-Linear Iontrap Mass Spectrometry (LC-QTrap MS)

UTA CEGLAREK, MARTIN FIEDLER, JOACHIM THIERY; Universitätsklinikum Leipzig

1. EINLEITUNG

Die Komplexität und Häufigkeit lipid-assoziiierter vaskulärer Erkrankungen und das Fehlen sicherer in-vitro Marker zu ihrer Früherkennung erfordert die Entwicklung neuer klinisch chemischer Technologien, die eine spezifische Detektion sensitiver Peptid- bzw. Proteinmarker zur Diagnose, Risikoabschätzung und klinischen Vorhersage ermöglichen. Die Identifizierung von Peptiden und Proteinen aus biologischen Matrices wird jedoch wegen der Heterogenität der Proben, der großen Unterschiede in der Konzentration der Peptide und Proteine, sowie der Abundanz einiger weniger Proteine erschwert. Die enorme Komplexität der Proben, die zudem zahlreichen Einflussgrößen und Störfaktoren unterliegen, stellt besondere Anforderungen an die Analytik. Wesentliche Voraussetzung für die Identifizierung und Charakterisierung niedrig abundanter und potentiell krankheitsassoziiierter Peptide und Proteine des Plasmas oder Serums ist die Reduktion der Proteinkomplexität in der Probe und die Fokussierung auf spezifische Proteinfraktionen („Subpeptidom/-proteom“), die

zu einer Erhöhung der Sensitivität gegenüber niedrigkonzentrierten Markern führt. Eine Möglichkeit der Probenfraktionierung stellt hierbei die selektive Isolierung glykosylierter Peptide bzw. Proteine, das sog. „Glycocapture“, dar. Die Glykosylierung stellt die häufigste Form der posttranslationalen Modifikation dar. Man unterscheidet N- und O-Glykosylierungsmotive, die in verschiedenster Weise eng mit vaskulären Erkrankungen assoziiert sind und somit ein interessantes „Subproteom“ mit verringerter Probenkomplexität für die Untersuchungen vaskulärer Erkrankungen eröffnen. Auf diese Weise erhofft man, ein besseres Verständnis hinsichtlich der Entstehung und Progression von Lipidstoffwechselstörungen bis hin zur Atherosklerose zu erlangen.

2. ZIEL DES FORSCHUNGSVORHABENS

Primäres Ziel des Forschungsvorhabens war die Etablierung und Testung der Identifizierung und Quantifizierung von Proteinen aus humanem Serum mit multiplex iTRAG-Tagging in Kombination mit Liquid Chromatography-Quadrupol-Linear Iontrap Mass Spectrometry (LC-QTrap MS). Dafür sollten im

ersten Teil des Forschungsvorhabens komplexe Strategien zur Probenvorbereitung und Isolierung membranassoziierter N- und O-glykosylierter Proteine etabliert und optimiert werden. Anschließend sollten Kandidatenpeptide der Atherosklerose im Plasma koronargesunder und schwer koronarkranker Probanden mit LC-QTrap MS detektiert und identifiziert werden. In einem dritten Teil des Projektes sollte das Potential der LC-QTrap MS für die Quantifizierung von Peptiden und Proteinen aus humanen Plasma untersucht werden.

3. ERGEBNISSE

3 A.) ISOLIERUNG N-GLYKOSILIERTER PEPTIDE

In unserem Forschungsvorhaben konzentrierten wir uns zunächst auf die selektive Isolierung von N-glykosylierten Peptiden aus humane Serum, die eine selektive Isolation aus Serum mittels Festphasenextraktion und anschließender enzymatischer Freisetzung ermöglicht. Zur Abtrennung N-glykosylierter Peptide oder Proteine sind die hierfür erforderlichen spezifischen Enzyme kommerziell erhältlich, von denen primär N-Glycosidase F (PNGase F) zum Einsatz kommt. Dabei spaltet PNGase F praktisch alle N-glykosylierten proteingebundenen Kohlenhydrate mit Ausnahme einer speziellen Fukosestruktur in dritter Position des Asparagin-gebundenen N-Acetylglucosamin (GlcNAc) Restes. Für das Erlernen der Technik der selektiven

Probenvorbereitung von N-glykosylierten Peptide war DIPL. CHEM. SVEN BAUMANN 6 Monate in der Gruppe von PROF. DR. RUDI AEBERSOLD und DR. BRUNO DOMON an der ETH Zürich tätig.

3 B.) iTRAQ-LABELING VON HUMANEN SERUMPROBEN

Im zweiten Schritt wurde von uns die iTRAQ labeling Technologie für die Quantifizierung von Proteinen eingesetzt. Bei den iTRAQTM-Reagenzien handelt es sich um aminreaktive, isobare Label, welche speziell für die Multiplex-Proteinquantifizierung mittels MS/MS-Experimenten entwickelt wurden. Aufgrund der mit unterschiedlichen iTRAQTM-Labels amin-derivatisierten Peptide sind diese sowohl im MS-Spektrum als auch bei einer chromatographischen Trennung ununterscheidbar, zeigen aber bei MS/MS-Experimenten charakteristische Reporter-Ionen, die für die Quantifizierung genutzt werden können. Zurzeit kommerziell erhältlich ist ein Satz aus 4 oder 8 verschiedenen iTRAQTM-Labels, die die relative Quantifizierung von Peptiden einer Mischung aus 4 bzw. 8 Proben, die jeweils mit einem anderen iTRAQTM-Label aus dem Satz versehen wurden, ermöglichen. Im MS erscheinen gleiche Peptide mit verschiedenem Label als ein unaufgelöstes Precursor Ion (aufgrund identischer m/z); nach der Fragmentation (CID) in einem MS/MS-Experiment werden vier Reporter-Ionen unterschiedlicher Massen (114 – 117 Da oder 113-121 Da) erhalten und machen so eine

Unterscheidung möglich. *Abbildung 1* zeigt die Isotopenmarkierung der für iTraqTM-Reagenzien mit ¹³C- und ¹⁸O-Atomen. Die

Zahlen geben die Anzahl des Massenzuwachses durch die Isotopenmarkierung in den einzelnen Gruppen an.

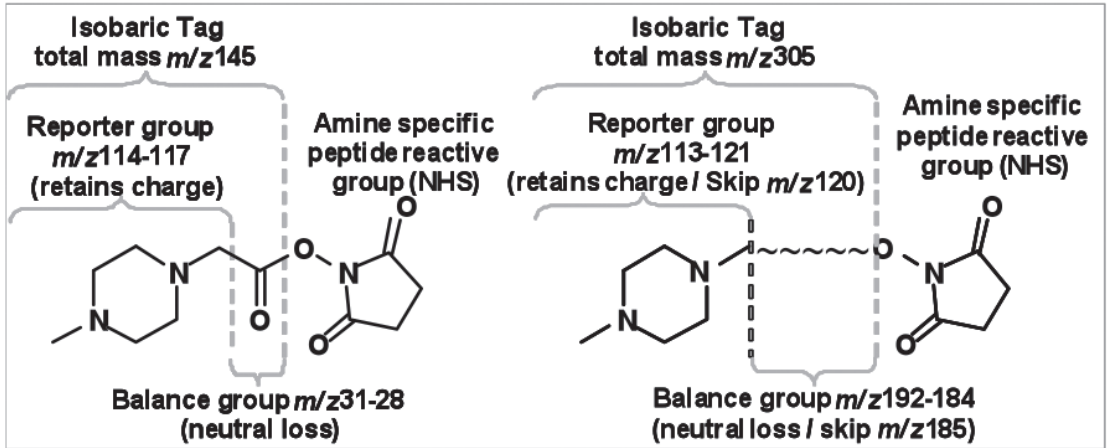


Abb.1 Isotopenmarkierung für iTraqTM-Labelling mit ¹³C- und ¹⁸O-Atomen (die Zahlen in den Klammern kennzeichnen die Erhöhung des Molekulargewichts durch die Isotopenmarkierung an)

3 c.) BIOMARKERIDENTIFIZIERUNG BEI PANKREAS-CARZINOM

Als Studienkollektiv dienten gesunde Kontrollen und 6 Patienten mit Pankreas-Ca der Leipziger Probenbank [1]. In *Abbildung 2* ist der analytische Ansatz für die Biomarkeridentifizierung dargestellt. Die Reproduzierbarkeit der Messungen wurden mit den jeweiligen Poolproben anhand der Labeling Ratios der gefundenen Biomarkerkandidaten überprüft. Dabei wurden Reproduzierbarkeiten im Bereich 18-228% gefunden. Mit Hilfe der iTRAQ-Experimente konnten die in *Tabelle 1* zusammengefassten Biomarkerkandidaten aus insgesamt 150 Kandidatenpeaks identifiziert werden.

Die etablierte Glykocapture-Technologie in Kombination mit der iTRAQ-Labelling basierten Identifizierung und Quantifizierung zur Isolierung membrangebundener glykosylierter Proteine/Peptide sowie zur Identifizierung von Glykoproteinen aus Serum ist sehr arbeits- und zeitaufwendig. Die Anwendung ist auf eine begrenzte Probenanzahl limitiert und außerdem mit hohen Kosten verbunden. Die Reproduzierbarkeiten lagen im gleichen Bereich der Ergebnisse, die mit magnetpartikelbasierter Anreicherung und MALDI-TOF MS erzielt wurden [2]. Ebenso war die Anzahl von Biomarkerkandidaten nicht höher als die mit MALDI-TOF MS identifizierbaren Peptide/Proteine. Die Detektion von 150

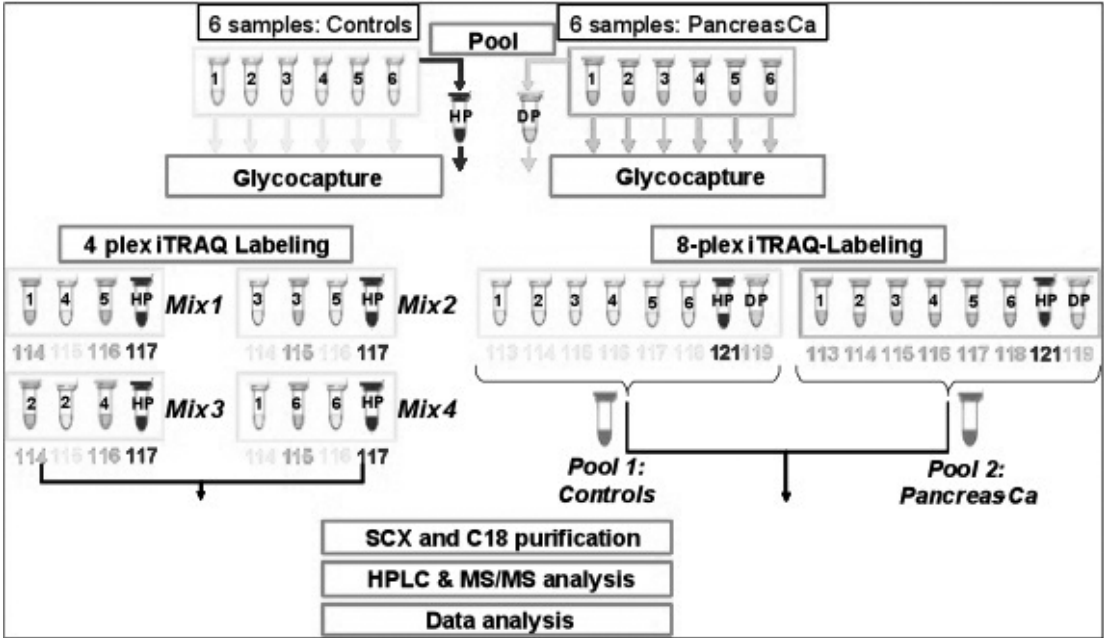


Abb. 2 Studienaufbau für 4- und 8-plex Labeling von humanen Serumproben für die Biomarkersuche bei Pankreaskarzinom. Im 4-plex Experiment wurde der Pool aus allen serumproben gesunder Probanden für die Normalisierung verwendet (healthy pool, HP) Im 8-plex Labeling Experiment wurde auch ein Pool der Patienten mit Pankreas-Ca (diseased pool DP) verwendet

Protein	iTRAQ ratio D/H
Isoform Short of Insulin receptor precursor	1.83
Heat-stable enterotoxin receptor precursor / GCC	2.64
Nucleotide-binding protein 1	1.89
Cytoskeleton-associated protein 4 (p51/p63)	1.42
16 kDa protein	1.83
HECT domain and RCC1-like domain-containing protein 2	1.97
FMPL-related receptor II	1.69
Keratin, type I cytoskeletal 19	0.70
Isoform 1 of Neutrophil cytosol factor 4	1.34
Putative uncharacterized protein DKFZp779C1947	1.36

Tab. 1 Identifizierung von Biomarkerkandidaten des Pankreas-Karzinoms nach selektiver Isolierung glykosilierter Proteinen und iTRAQ-Labeling von humanen Serumproben

Kandidatenpeaks war vergleichbar mit unseren MALDI-TOF Experimenten mit magnetpartikelbasierter Anreicherung.

In einem weiteren Schritt fokussierten sich unsere aktuellen Arbeiten auf die quantitative Protein- und Peptidanalytik mit QTrap LC-Massenspektrometrie, eine neue massenspektrometrische Hybrid-Technologie, die eine schnelle quantitative simultane Analytik von Peptiden und Proteinen bei reduzierter Probenvorbereitung ermöglicht.

4) „TARGETED-PROTEOMICS“ MITTELS QTRAP LC-MASSENSPEKTROMETRIE

Im Rahmen des zweiten Projektteils sollte untersucht werden, ob mit Hilfe der Kopplung von ultraschneller Chromatographie (UHPLC) in Kombination mit Quadrupol-Iontrap (QTrap) Massenspektrometrie die quantitative Analytik von Proteinen aus Serum unter Hochdurchsatzbedingungen bei Reduzierung der Probenvorbereitung möglich ist [2]. In *Abbildung 3* sind die verschiedenen Probenvorbereitungsstrategien für die Analytik von Proteinen mit LC-MS/MS und die damit erzielten Nachweisgrenzen in humanen Serum oder Plasma dargestellt. In einem Modellansatz untersuchten wir die Möglichkeit einer quantitativen Bestimmung von CRP in humanen Serumproben. In *Abbildung 4* sind die präanalytische Strategie sowie die beiden analytischen Methoden dargestellt, die in der Pilotphase getestet werden sollten. Voraussetzung für die Analytik von Proteinen ist das Vorhandensein von

proteotypischen Peptidsequenzen im Proteinmolekül, d.h. Peptidsequenzen, die charakteristisch für das Molekül sind. In unserem Versuchsansatz wurde geprüft, in wieweit eine Depletion der hochabundanten Proteine die Sensitivität des analytischen Verfahrens beeinflusst. Für die chromatographische Trennung wurde die nano-LC mit einem modernen UHPLC-Trennsystem hinsichtlich Schnelligkeit und Trenneffizienz verglichen. Für die massenspektrometrische Detektion wurden die MS/MS Detektion mit der MS3 Detektion mit Hilfe des QTrap MS hinsichtlich der analytischen Sensitivität verglichen.

4 A.) AUSWAHL DER PROBENVORBEREITUNG UND CHROMATOGRAPHIE

Die Nachweisgrenze des proteotypischen Peptids von CRP aus einem Standard lag bei Kombination nano-LC-MS/MS bei 0.75 pg (35 atmol) und bei UHPLC-MS/MS bei 7.5 pg (350 atmol). Durch Anwendung der QTrap-Technologie war neben der Quantifizierung gleichzeitig eine Identifizierung über das Produktionsspektrum in der Serumprobe möglich. Bei der chromatographischen Trennung von Serumproben zeigte sich, dass nicht depletierte Proben auf der nanoLC nicht analysiert werden können, da es zu einer kompletten Überladung des chromatographischen Bettes kommt. Depletierte Proben konnten hingegen ohne Probleme chromatographisch in einer Analysenzeit von 130 min getrennt werden und CRP über das proteotypische Peptid detektiert werden. Mit UHPLC konnten

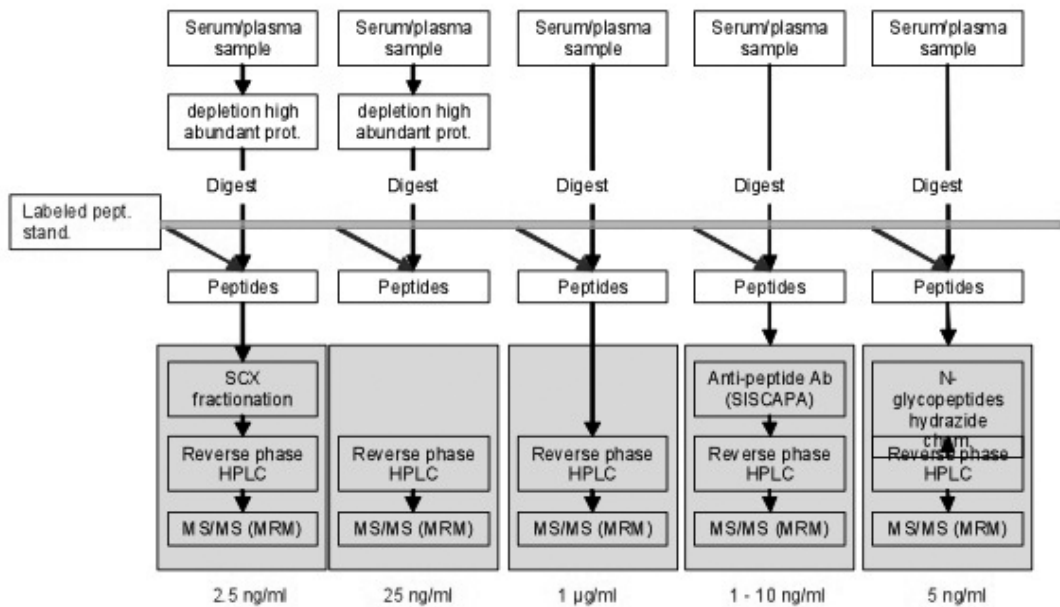


Abb. 3 Beispiele unterschiedlicher Probenvorbereitungsstrategien für die quantitative Proteinanalytik und die damit erzielten Nachweisgrenzen

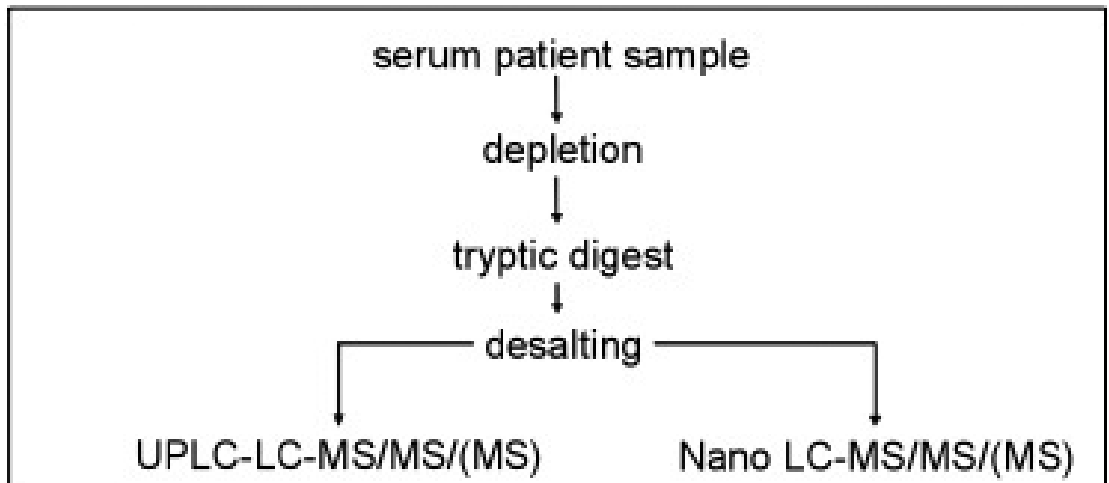


Abb. 4 Analytischer Workflow für die Analytik von CRP in humanen Serumproben mit LC-MS/MS

sowohl die nicht depletiert als auch die depletierten Proben analysiert werden. Wie in *Abbildung 5* dargestellt, konnte CRP bei einer Retentionszeit von 7 min detektiert werden. Somit erwies sich die Anwendung der UHPLC-Technologie als sehr vielversprechend für die Analytik von Proteinen aus Serumproben ohne vorherige Depletion.

4 B.) VERGLEICH VON MS/MS VS. QTRAP MS FÜR DIE MASSENSPEKTROMETRISCHE DETEKTION

Neben den bekannten MS/MS Experimenten lassen sich mit Hilfe der QTRAP Technologie u.a. MS3 Experimente durchführen. In *Abbildung 6* ist dies für das proteotypische Peptid des CRP **ESDTSYVSLK** (MW 1694.4) dargestellt. Für die massenspektrometrische Detektion können verschiedene MRM des 3fach geladenen Precursorionen verwendet werden, die eine unterschiedliche analytische Sensitivität für das Peptid besitzen: 564.8/696.8, 564.8/797.5, 564.8/609.5, 564.8/912.5. Bei den QTRAP-Experimenten in *Abbildung 6* wurde ein geeignetes Fragmentmolekül ausgesucht (912.5) und in der linearen Ionenfalle nochmals fragmentiert. Für die Detektion von **ESDTSYVSLK** wurden folgende MS3 Experimente gewählt: 564.8/912.5/347.3 + 631.3 + 797.3.

4 C.) LINEARER BEREICH

Ein weiterer Vorteil der UHPLC-MS/MS Kopplung zeigte sich bei der Untersuchung des linearen Bereiches mit Hilfe von Standardproben. Während für die Kombination

nanoLC-MS/MS ein linearer Bereich von 0.07 fmol-100 fmol erhalten wurde, konnte mit UHPLC-MS/MS eine Linearität für den Bereich 0.07 fmol-8000 fmol erhalten werden.

Unsere Untersuchungen zeigten, dass durch Kombination von modernen chromatographischen Verfahren mit hochsensitiven Hybridmassenspektrometern quantitative Proteinanalytik durchgeführt werden kann. Wir möchten deshalb mit denen noch für das Projekt zur Verfügung stehenden Mitteln im nächsten Schritt eine Multitarget-Methode für die Analytik von humanen Apolipoproteinen entwickeln.

LITERATUR

1. Fiedler GM, Leichtle AB, Kase J, Baumann S, Ceglarek U, Felix K, Conrad T, Witzigmann H, Weimann A, Schütte C, Hauss J, Büchler M, Thiery J. Serum peptidome profiling revealed platelet factor 4 as a potential discriminating peptide associated with pancreatic cancer. *Clin Cancer Res.* 2009;15(11):3812-9
2. Baumann S, Ceglarek U, Fiedler GM, Lembcke J, Leichtle A, et al. Standardized approach to proteome profiling of human serum based on magnetic bead separation and matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Chem* 2005; 51: 973-980.
3. Kay RG, Gregory B, Grace PB, Pleasance S. The application of ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry to the detection and quantitation of apolipoproteins in human serum. *Rapid Commun Mass Spectrom* 2007;21:2585-93.

VERFASSTER:

UTA CEGLAREK, MARTIN FIEDLER, JOACHIM THIERY

Universitätsklinikum Leipzig, Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Molekulare Diagnostik, Liebigstr. 27, 04103 Leipzig, Tel.: 0341-9722200, e-mail: uta.ceglarek@medizin.uni-leipzig.de

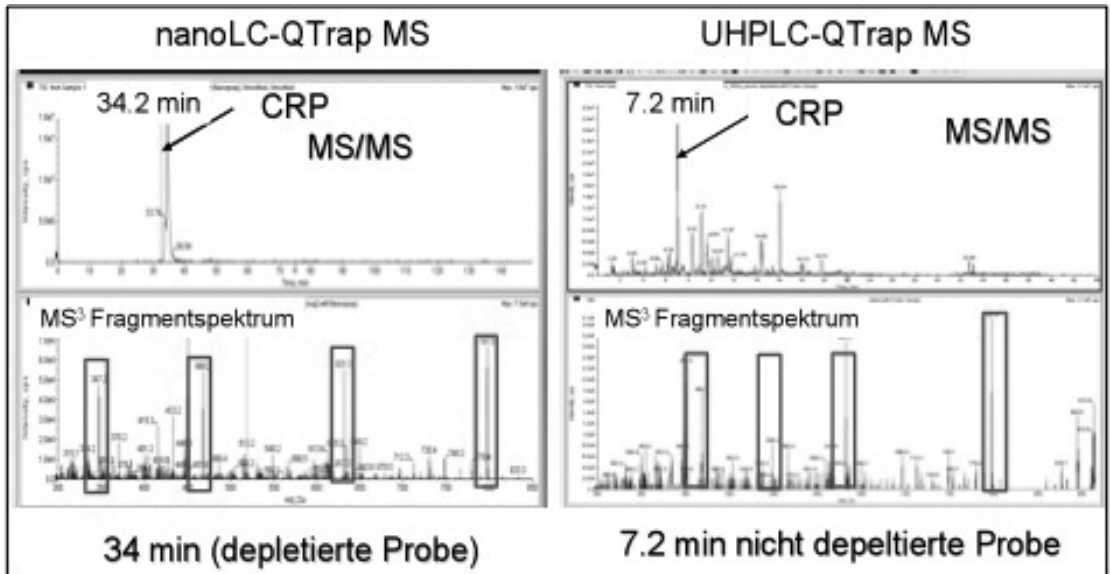


Abb. 5 LC-MS/MS einer nicht depletierten Serumprobe nach tryptischen Verdau (a) nano LC-MS/MS aus der depletierten Probe, (b) UHPLC MS/MS aus der nicht depletierten Probe

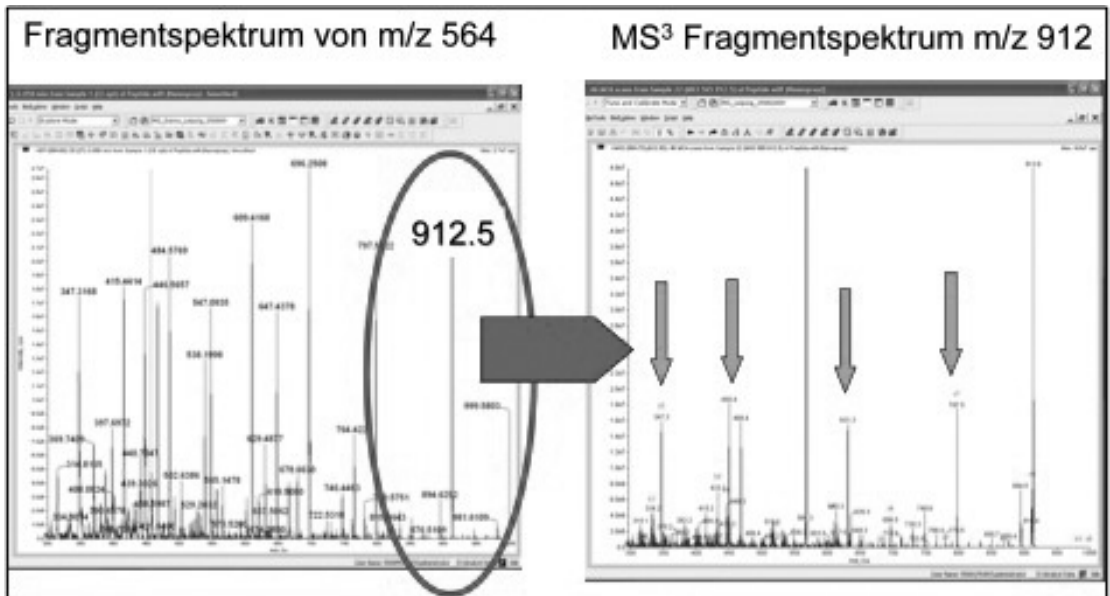


Abb. 6 Fragmentspektrum von ESDTSYVSLK (Dreifachladung) und MS3 Spektrum des Fragmentions m/z 912 (Einfachladung)

Forschungsbericht

Bestimmung der Thrombozytenaggregabilität mithilfe von Impedanz-Aggregometrie

Gefördert durch die Stiftung für Pathobiochemie und Molekulare Diagnostik der DGKL

WIEBKE HAYEN*, HANS-GEORG MÜNCHGESANG**, EBERHARD GURR*

Klinikum Links der Weser, Bremen, * Abteilung für Klinische Chemie und Zentrallabor, ** Klinik für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie

EINLEITUNG

Bei der Behandlung von Patienten mit Akutem Koronarsyndrom wird gewöhnlich eine duale Therapie mit Thrombozytenaggregationshemmern durchgeführt. In der Regel werden Aspirin als COX-1-Inhibitor und Clopidogrel zur Blockierung des P2Y₁₂-Rezeptors eingesetzt. Für die Überwachung der Therapie sind Thrombozytenfunktionstests wünschenswert, um Therapieversager und Non-Compliance erkennen zu können. Angewendet wurde hierzu zunächst die Methode nach Born (1), die sich jedoch als zu aufwendig erwies. In der Folge wurden eine Reihe von Verfahren entwickelt, die auf unterschiedlichen Messprinzipien basierten (2,3). Dabei wurden mit der Impedanz-Aggregometrie Restaggregabilitäten ermittelt, die denen entsprachen, die mit dem Born'schen Verfahren gemessen wurden, und es konnte gezeigt werden, dass die Inzidenz von Stent-Re-thrombosen mit zunehmender Verringerung

der Aggregabilität der Thrombozyten fällt (4,5). Allerdings gibt es weder einen Zielbereich für das Ausmaß der zu erreichenden Thrombozytenaggregationshemmung noch sind die Verfahren zur Bestimmung der Aggregabilität standardisiert. Diese Studie wurde daher mit dem Ziel durchgeführt, mithilfe des Multiplate die Aggregationsfähigkeit der Thrombozyten einer Normalpopulation und einer Population von atherosklerotischen Patienten unter ASS- und Clopidogreltherapie zu ermitteln sowie Referenzintervall und therapeutisches Intervall abzuschätzen. Mithilfe der Ermittlung der maximalen Inhibierbarkeit des COX-1-Weges und des ADP-Rezeptors durch die in vitro-Inkubation mit Arachidonsäure und MeSAMP sollte weiterhin abgeschätzt werden, ob eine Steigerung der Dosis gegebenenfalls zu einer stärkeren Inhibition führen würde.

MATERIAL UND METHODEN

Untersucht wurden 39 nicht-krankte Probanden und 94 Patienten mit Atherosklerose, die mit Aspirin und Clopidogrel behandelt wurden. Es wurde Vollblut mit Hirudin als Gerinnungshemmer verwendet. Die Proben ruhten nach der Abnahme 30 Minuten und wurden innerhalb der nächsten zwei Stunden gemessen. Die Aggregabilität wurde bei Aktivierung mit Arachidonsäure (0.48 mmol/l) nativ (ASPI-Test) und nach Inkubation mit ASS (5.55 nmol, 3 min, ASPI-ASA-Test) sowie bei Aktivierung mit ADP (6.4 µmol/l) nativ (ADP-Test) und nach Inkubation mit MeSAMP (0.1 mmol/l, 30 min, MeSAMP-Test) gemessen. Kontrolluntersuchungen wurden bei Probanden und Patienten mit einem Thrombinrezeptor aktivierenden Peptid (32 µmol/l, TRAP-Test) durchgeführt.

ERGEBNISSE

Das System erwies sich als überraschend stabil (immerhin wurde bei einem Probanden in einem Zeitraum von 10 Wochen eine biologische Varianz von 6% für ADP und 8%

für ASPI gefunden, wobei die Aggregabilitäten jeweils im Referenzintervall lagen). Es wurden niedrigere Referenzbereiche gefunden als vom Hersteller deklariert und in der Literatur berichtet werden (Tab.1). Bei den Patienten unter Therapie wurden Ergebnisse gefunden, die signifikant unter denen der Probanden lagen (Tab. 1). Dabei ließen sich mit dem ASPI-Test die Patienten unter ASS-Therapie weitgehend von den Probanden trennen. Nur bei einem Patienten scheint es sich um einen Non-Responder zu handeln. Allerdings zeigte bei diesem Patienten das Ergebnis nach Inkubation mit Arachidonsäure, dass durch eine höhere Dosierung (oder eine bessere Compliance) eine wirksamere Hemmung des COX-1-Weges erreichbar sein würde.

Anders als bei der ASS-Therapie trennt der ADP-Test Probanden und Patienten unter Clopidogreltherapie nicht vollständig. Zur Abgrenzung der Nonresponder von den Respondern wird in der Regel die untere Grenze des Referenzbereiches genutzt (Tab. 2). Nur in einem Fall wird die 20. Perzentile

	ASPI	ASPI-ASA	ADP [AUC]	MeSAMP	TRAP
Dynabyte	745-1361		534-1220		941-1563
Behr et al. (6)			350-1320		680-1510
Probanden	650-1225	23-251	444-1008	<536	723-1339
Patienten	104 ± 80	66 ± 40	223 ± 172	120 ± 113	745 ± 269

Tabelle 1: Referenzbereiche des Herstellers (Dynabyte), von Behr et al (6) sowie die in dieser Studie ermittelten Referenzbereiche (Probanden). Die Mittelwerte und 1s-Bereiche der Patienten unter dualer Therapie (Clopidogrel- und Aspirin), die in dieser Studie ermittelt wurden, sind unter Patienten angegeben.

	Therapeutische Bereiche		Anteil Nonresponder [%]	
	ASPI [AUC]	ADP[AUC]	ASS	Clopidogrel
Behr et al. (F)		<320		
(M)		<460		
v.Pape et al.	<300		1	
Mueller et al.	<325		1	
Sibbing et al.		<416		11
Patienten	<650	<444	1	11

Tabelle 2. Therapeutische Bereiche: Vorschläge aus der Literatur die und in dieser Studie ermittelten Bereiche (Patienten). Der Anteil der Patienten mit Ergebnissen außerhalb der therapeutischen Bereiche (Non-Responder) wurde mit den angegebenen Grenzen ermittelt.

vorgeschlagen (5). Wird die eigene untere Grenze des Referenzintervalls zur Trennung Responder/Non-Responder benutzt, so gehören 10 Patienten (11%) zu den Non-Respondern. Da in allen Fällen deutlich niedrigere MeSAMP-Werte gefunden wurden, sollte durch Dosiserhöhung (oder Compliance-Verbesserungen) eine verringerte Aggregierbarkeit erreicht werden, es sei denn, es läge ein Polymorphismus im CYP 2C19 vor (7). Ein Patient konnte in vitro nicht mit MeSAMP inhibiert werden. Hier ist eine Mutation am ADP-Rezeptor zu vermuten.

Bei Aktivierung mittels TRAP ist die Aggregabilität der Thrombozyten bei Patienten unter dualer Therapie zur Thrombozytenaggregationshemmung systematisch niedriger als bei den Probanden (Tab. 1), auch wenn die Anwesenheit von GPIIb/IIIa-Inhibitoren sicher ausgeschlossen werden konnte. Damit kann durch den TRAP-Test die Anwesenheit von GPIIb/IIIa-Inhibitoren nicht ausgeschlossen werden.

SCHLUSSFOLGERUNGEN

Mit dem Multiplate können sowohl die Aspirin- als auch die Clopidogreltherapie überwacht und optimiert werden. Erforderlich scheint eine ausführliche lokale Validation zu sein, um lokale Entscheidungsgrenzen festlegen zu können. Welche therapeutischen Bereiche für eine ausreichende Aggregationshemmung ohne ein erhöhtes Blutungsrisiko erreicht werden sollen, muss durch prospektive Studien ermittelt werden. Das Multiplate ist als POCT-System konzipiert und gehört zur Gruppe der unit-use Geräte. Es verfügt über eine elektronische Kontrolle, die vor jeder Inbetriebnahme durchgeführt werden muss. Ansätze zur Durchführung von internen und externen Qualitätskontrollen fehlen bisher vollständig. Auch die Aggregation mittels TRAP ist als interne Kontrolle aufgrund des Einflusses von Aspirin- und Clopidogreltherapien nicht geeignet. So bleibt zur Qualitätssicherung nur ein gut zu organisierender Vergleich mit anderen Standorten.

Diese Studie enthält Teile der Dissertation von H.G. MÜNCHGESANG. Teilergebnisse wurden beim Jahreskongress der DGKL 2010 präsentiert.

6. Behr T, Behr W, von Scheidt W. Überwachung der Clopidogrel-Therapie mit Hilfe der Mehrfach-Elektroden Plättchen-Aggregometrie. J Lab Med 2010; 34:99-107
7. Mega JL, Close SL, Wiviott S, Shen L, Hockett RD, Brandt JD, Walöcker JR, Antman EM, Macias W, Braunwald E, Sabatine MC. Cytochrome P-450 polymorphisms and response to clopidogrel. NEJM 2009; 360:354-62

VERFASSER:

PROF. DR. EBERHARD GURR

Abteilung für Klinische Chemie und
Zentrallabor, Klinikum Links der Weser
Senator-Weßling-Str. 1
28211 Bremen
Tel. 0421/8791670
Email: eberhard.gurr@klinikum-bremen-ldw.de

LITERATUR

1. Born GV. Aggregation of blood platelets by adenosine diphosphate and its reversal. Nature 1962; 194:927-9
2. Geiger J, Teichmann L, Grossmann R, Aktas B, Steigerwald U, Walter, U, Schinzel R. Monitoring of clopidogrel action: comparison of methods. Clin Chem 2005; 51:957-65
3. Patscheke H. Thrombozytenaggregationshemmer. Hämostaseologie 2003; 23:181-5
4. Panicca R, Antonucci E, Maggini N, Romano E, Gori AM, Marcucci R, Prisco D. Assessment of platelet function on whole blood by multiple electrode aggregometry in high risk patients with coronary artery disease receiving antiplatelet therapy. Am J Clin Path 2009;131;834-42
5. Sibbing D, Braun S, Morath T, Mehilli J, Vogt W, Shömig A, Kastrati A, von Beckerath N. Platelet reactivity after clopidogrel treatment assessed with point-of-care analysis and early drug-eluting stent thrombosis. JACC 2009; 53: 849-56

Dissertation

Struktur und Funktion des Adhäsionsrezeptors L-Selektin

Dissertation (Dr. rer. nat.) aus dem Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie und Pathobiochemie, Charité-Universitätsmedizin Berlin, Campus

Benjamin Franklin (Leiter: PROF. DR. MED. RUDOLF TAUBER)

STEFANIE WEDEPOHL, Berlin

ZUSAMMENFASSUNG

Im Rahmen der Immunüberwachung oder bei Entzündungen müssen Leukozyten aus dem Blutstrom in umliegendes Gewebe gelangen, um dort Pathogene aufzuspüren und zu eliminieren. Dazu werden die Leukozyten in einer so genannten Adhäsionskaskade aus dem Blutstrom abgefangen und beginnen, auf den Endothelzellen zu rollen, bis sie schließlich nach Aktivierung fest adhären und auswandern. Dabei kann es zu sekundärer Gewebeschädigung kommen, wenn die Infiltration der Leukozyten ungebrems abläuft, wie es bei entzündlichen Krankheiten der Fall ist. Um die Entzündungsreaktion therapeutisch einzudämmen, werden gegenwärtig Medikamente eingesetzt, die häufig starke Nebenwirkungen zeigen. Für eine alternative Therapiestrategie, die gezielt das Auswandern der Leukozyten adressiert, bietet sich der erste Schritt der Adhäsionskaskade als Ansatzpunkt an. Dieser wird von dem leukozytären Adhäsionsrezeptor L-Selektin im Zusammenspiel mit seinen endothelialen Liganden vermittelt.

L-Selektin ist ein Transmembranrezeptor auf der Oberfläche der Leukozyten. Mit seiner C-Typ-Lektindomäne bindet er an muzinähnliche, sulfatierte, sialylierte und fucosylierte Glykane. Die detaillierte Struktur von L-Selektin im Komplex mit seinen Bindungspartnern ist unbekannt und sollte in der vorliegenden Arbeit aufgeklärt werden. Die Kenntnis der Kristallstruktur sollte es ermöglichen, in Zukunft modellgestützt Ligananaloga und Inhibitoren zu entwickeln, die zur antiinflammatorischen Therapie eingesetzt werden können. L-Selektin ist ein hochglykosyliertes Glykoprotein. In einem zweiten Teil der Arbeit sollte die Struktur und die Funktion der N-Glykane von L-Selektin untersucht werden.

Um L-Selektin zu kristallisieren, mußte zunächst ein Expressionssystem gefunden werden, mit dem es möglich war, L-Selektin in einer geeigneten, funktionellen Form in ausreichender Menge herzustellen. Dazu wurden verschiedene Formen eines verkürzten L-Selektins (LE) kloniert und in verschiedenen Expressionssystemen exprimiert. LE umfasste

dabei die N-terminale C-Typ Lektindomäne und die angrenzende EGF-Domäne, welche zusammen die Ligandbindung vermitteln. LE, das in der Hefe *Pichia pastoris*, in Sf9-Insektenzellen und in CHO-Zellen exprimiert wurde, stellte sich aus verschiedenen Gründen als nicht für die Kristallisation geeignet heraus. Im HEK293Freestyle-Expressionssystem konnten schließlich ausreichende Mengen LE hergestellt werden. Da L-Selektin ein Glykoprotein ist, das als heterogene Mischung aus verschiedenen Glykoformen exprimiert wurde, wurden anschließend verschiedene Strategien zur Reduktion der Glykan-Heterogenität untersucht. Nach systematischer Mutagenese wurde eine funktionelle LE-Variante gefunden, die eine weitaus höhere Homogenität als der Wildtyp aufwies. Es konnte ein Protokoll etabliert werden, mit dem dieses Protein mithilfe eines Aptamers hochrein aus dem Kulturüberstand gewonnen werden konnte. Dieses Protein konnte schließlich erfolgreich kristallisiert werden. Die Auflösung des Diffraktionsmusters konnte von anfänglichen ~ 14 Å auf ~ 7 Å verbessert werden, jedoch konnte die Röntgenstruktur bei dieser Auflösung nicht bestimmt werden.

Um die Bindungsaffinität rekombinanten L-Selektins zu erhöhen, wurden neben der monomeren Form auch eine dimerisierte Form, sowie ein Pentamer und ein Decamer konstruiert. Das etablierte HEK293F-Expressionssystem wurde genutzt, um diese Konstrukte

rekombinant zu exprimieren. Die Expression, Aufreinigung und Funktion der L-Selektin-Multimere konnte erfolgreich demonstriert werden. Ebenso konnte gezeigt werden, dass die Ligandbindung durch Multimerisierung überproportional verstärkt wurde.

Zur Untersuchung der N-Glykosylierung von rekombinantem L-Selektin wurden Glykosylierungsmutanten konstruiert, in HEK293F-Zellen exprimiert und aufgereinigt. Alle Proteine zeigten Bindungsaktivität, wobei die Stärke der Bindung mit steigender Anzahl von N-Glykanen tendenziell geringer wurde. Das nichtglykosylierte LE zeigte dabei die stärkste Bindung. Weiterhin konnte ein positiver Einfluß der Glykane auf die Sekretion der LE-Varianten festgestellt werden.

Drei der Mutanten trugen jeweils nur ein N-Glykan an jeweils unterschiedlicher Position. Mit diesen war es möglich, die Struktur der N-Glykane von LE aus HEK293F-Zellen an jeder einzelnen Position zu bestimmen. Bei der Glykananalytik wurden unerwartete Glykanstrukturen gefunden, deren Grundstrukturen hauptsächlich biantennär und zumeist stark fucosyliert waren. An den Antennen der N-Glykane waren zum Großteil N-Acetyl-Galactosamin-Reste statt der üblicheren Galactose-Reste verknüpft. Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass diese N-Glykane mit Sulfaten modifiziert waren. Bei einem Kontrollprotein aus demselben Expressionssystem waren vergleichbare Strukturen nicht

nachzuweisen. Dies ließ darauf schließen, dass die Aminosäuresequenz von L-Selektin Informationen enthält, welche eine protein-spezifische N-Glykosylierung herbeiführen. Die sulfatierten Glykanstrukturen sind in der Literatur nur für einige wenige Proteine beschrieben, darunter als klassisches Beispiel die Glykoprotein hormone. Zusätzlich wurden bei der LE-Mutante, die nur ein N-Glykan in der ersten Position enthielt, bislang nicht beschriebene Glykanstrukturen identifiziert. Es handelte sich dabei um biantennäre Glykane, die jeweils an beiden antennären N-Acetyl-Glucosaminresten terminal zwei aufeinander folgende N-Acetyl-Galactosaminreste besaßen. Diese Strukturen lagen sowohl sulfatiert als auch nicht sulfatiert vor. Zukünftige Untersuchungen werden zeigen, welche Funktion diese ungewöhnlichen Glykane haben und ob das native, lösliche L-Selektin im Blutserum oder auf Leukozyten ebenfalls mit solchen Strukturen ausgestattet ist.

Die Untersuchungen legen die Grundlage für eine Strukturaufklärung der Bindungsdomäne von humanem L-Selektin mittels Kristallisation und Röntgendiffraktion. Sie zeigen weiterhin, daß die Bindungsaffinität von L-Selektin durch Oligomerisierung erhöht wird. Durch Aufklärung der Struktur der N-Glykane von rekombinantem L-Selektin konnte eine ungewöhnliche N-Glykosylierung von L-Selektin nachgewiesen werden. Die N-Glykane haben, wie die Bindungsstudien und die Untersuchungen der Sekretion zeigen,

einen Einfluß auf Biosynthese und Funktion von L-Selektin.

PUBLIKATIONEN:

Wedepohl S, Kaup M, Riese SB, Berger M, Dervedge J, Tauber R, Blanchard V.

„N-glycan analysis of recombinant L-Selectin reveals sulfated GalNAc and

GalNAc-GalNAc motifs“

J Proteome Res. 2010 Jul 2;9(7):3403-11.

VERFASSEN:

DR. RER. NAT. STEFANIE WEDEPOHL

Institut für Laboratoriumsmedizin,
Klinische Chemie und Pathobiochemie
Charité Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

Hindenburgdamm 30

12200 Berlin

Tel: 030/ 8445 - 2795

Fax: 030/ 8445 - 4152

Dissertation

Die lipidomische Analyse der humanen Blutzellen

Dissertation (Dr. rer. nat.) aus dem Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin des Universitätsklinikums Regensburg (Direktor: PROF. DR. MED. GERD SCHMITZ)

KATHARINA RÜBSAAMEN, GEB. LEIDL, Grenzach-Wyhlen

HINTERGRUND

Blutzellen und Blutplasma beinhalten eine große Informationsfülle über die Funktionsweise aller Gewebe und Organe des menschlichen Körpers. Ein Hauptinteresse von Labor- und Transfusionsmedizin sowie der klinischen Forschung besteht deshalb darin, alle zellulären Blutbestandteile präzise, schnell und kostengünstig zu analysieren. Neben Daten, die in der Proteom- und Genomforschung generiert werden, erweitert die Lipidomik den bisherigen Wissensstand über die Funktion der Blutzellen. Das Ziel dieser Arbeit war es, das Lipidom der unterschiedlichen Blutzellen von humanen, gesunden Spendern zu untersuchen, spezifische Unterschiede der einzelnen Blutzelltypen herauszuarbeiten und in Beziehung zu ihrer Funktion zu stellen.

METHODEN UND ERGEBNISSE / DISKUSSION

Im ersten Teil der Arbeit wurden die Lipide der Blutzellen (Monozyten, Lymphozyten, Granulozyten, Thrombozyten und Erythrozyten) von gesunden Spendern mit Hilfe von Elektronenspray-Ionisations-Tandem-Mas-

senspektrometrie (ESI-MS/MS) untersucht. Dabei konnten bemerkenswerte Unterschiede zwischen den einzelnen Blutzelltypen mit einer einzigartigen Lipidklassen- und Lipidspeziesverteilung ermittelt werden. Die beiden dominierenden Lipidklassen waren Phosphatidylcholin (PC) und freies Cholesterin (FC) mit zelltypischen PC/FC Verhältnissen als Marker für Membranfluidität (1.9 für Monozyten, 1.3 für Lymphozyten, 1.1 für Granulozyten, 0.8 für Thrombozyten und 0.3 für Erythrozyten). Neben einem 3-fach erhöhten Anteil von Ceramid (Cer) von 2.6 mol% konnte in Granulozyten ebenfalls der höchste Prozentsatz von Phosphatidylethanolamin-basierten Plasmalogenen sowie ein geringerer Gehalt von mehrfach ungesättigten Lipidspezies (≥ 3 Doppelbindungen) im Vergleich zu den anderen Blutzellen festgestellt werden. Erythrozyten dagegen wiesen eine auffallende Verschiebung der Glycerophospholipid-Kettenlänge auf. In Thrombozyten wurde ein starker Anstieg von Cholesterinestern (CE) detektiert, zusammen mit einem 4-fach erhöhten Anteil der CE Spezies 18:2 (Linolsäure), die insgesamt 55 mol%

aller CE Spezies in Thrombozyten ausmacht. Darüber hinaus konnte dieselbe charakteristische CE Spezies Verteilung von Thrombozyten auch in Plasma und den dazugehörigen Lipoproteinen gefunden werden.

Im zweiten Teil der Arbeit wurden deshalb die Thrombozyten ausgewählt, um deren Lipidzusammensetzung und -entstehung noch genauer im Detail zu untersuchen. Als Studienobjekt wurden 50 Thrombozytenaphereseprodukte gesammelt, die für 5 Tage bei 22°C unter ständigem Schütteln gelagert wurden. Dieses Zeitlimit wurde deshalb gewählt, da die Gesetzeslage den Gebrauch von länger als 5 Tage gealterten Produkten in der Transfusionsmedizin untersagte. Während der Lagerungszeit ging der Gesamtlipidgehalt der Thrombozyten um 10 Prozent zurück während der des Plasmas um 5% anstieg. Bei einer genaueren Analyse der einzelnen Sphingolipide konnte ein signifikanter Rückgang von 63% Sphingosin, 78% Sphinganine, 68% Sphingosylphosphorylcholin, 55% Sphingosin-1-Phosphat und 89% Sphinganine-1-Phosphat zwischen einem frischen und 5 Tage gealtertem Thrombozytenpräparat festgestellt werden. Diese Ergebnisse liefern völlig neue Erkenntnisse über den Sphingolipid-Metabolismus im Blutplättchen, der während der Thrombozytenalterung hauptsächlich von einer verstärkten Cer-Bildung um 69% gekennzeichnet war. Im Fall von Glycerophospholipiden und Sterol konnten ebenfalls interessante Veränderungen während

der Blutproduktlagerung nachgewiesen werden. In Thrombozyten wurde ein Anstieg von 32% Lysophosphatidylcholin (LPC) und 49% CE sowie ein Abfall von 10% FC detektiert, im dazugehörigen Plasma wurde ebenfalls ein Anstieg von 43% LPC und 14% CE gemessen, kombiniert mit einem Rückgang von 20% PC und 24% FC. Damit verbundene, signifikante Lipidspeziesveränderungen konnten für Phosphatidylserin, Cer und LPC in den Thrombozytenprodukten während der Alterung nachgewiesen werden. Des Weiteren konnten interessante Zusammenhänge zwischen dem Plasma und dem Zellkompartiment herausgearbeitet werden. Die Daten lieferten einen klaren Beweis für eine stattfindende Veresterungsreaktion im Plasma der Thrombozytenkonzentrate, katalysiert von Lecithin-Cholesterin-Acyltransferase (LCAT). Korrelationsberechnungen und Lipidspeziesverteilungen wiesen darauf hin, dass die stattfindenden Lipidveränderungen im Plasma während der Lagerung einen Einfluss auf die Lipidkomposition der Thrombozyten hatten, insbesondere auf die CE Spezies, worauf die charakteristischen Lipidverteilungen in beiden Kompartimenten zurückzuführen sind.

FAZIT

Letztendlich konnte in dieser Arbeit gezeigt werden, dass die lipidomische Analyse der menschlichen Blutzellen durch Anwendung von ESI-MS/MS zu zahlreichen, neuen,

interessanten Ergebnissen führt, die helfen, die Blutbestandteile in Zukunft besser zu verstehen. Darüber hinaus können die erzielten Ergebnisse als Referenz für weitere Blutzellstudien bei verschiedenen Patientenkohorten dienen und damit neue Möglichkeiten für die Arznei- und Biomarkerentwicklung bei Blutzellen, vor allem in den präklinischen und frühklinischen Stadien, eröffnen.

VERFASSER:

KATHARINA RÜBSAAMEN (geborene Leidl)
Roche Pharma AG
Emil-Barell-Straße 1
D-79639 Grenzach-Wyhlen
email: katharina@ruebsaamen.de

RESULTIERENDE PUBLIKATION

- Ruebsaamen K, Liebisch G, Boettcher A, Schmitz G. Lipidomic analysis of platelet senescence. *Transfusion* 2010 Aug;50(8):1665-76
- Schmitz G, Ruebsaamen K. Metabolism and atherogenic disease association of lysophosphatidylcholine. *Atherosclerosis* 2010 Jan; 208(1):10-18
- Wiesner P, Leidl K, Boettcher A, Schmitz G, Liebisch G. Lipid profiling of FPLC-separated lipoprotein fractions by electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Lipid Res.* 2009 Mar;50(3):574-85.
- Leidl K, Liebisch G, Richter D, Schmitz G. Mass spectrometric analysis of lipid species of human circulating blood cells. *Biochim Biophys Acta.* 2008 Oct;1781(10): 655-64.

Dissertation

Der Einfluss von Mycophenolat-Mofetil (MMF) auf die renale Fibrogenese: Bedeutung für neue therapeutische Ansätze

Dissertation (Dr. med.) aus der Abteilung für Klinische Chemie, Zentrum Innere Medizin, Universitätsmedizin Götting (Leiter: PROF. DR. MED. DR. H.C. MICHAEL OELLERICH FFPPath(RCPI), FRCPath)

FRANZISKA BREHMER, Göttingen

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde das antifibrotische Potential von Mycophenolat-Mofetil bzw. seines aktiven Metaboliten Mycophenolsäure *in vitro* unter Verwendung von renalen Fibroblasten und *in vivo* anhand COL4A3-defizienter Mäuse als Modell für eine progrediente renale Fibrose untersucht.

Die *in-vitro*-Experimente bestätigten die inhibitorische Wirkung von MPA sowohl auf die Fibroblastenproliferation als auch auf die Fibroblastenfunktion hinsichtlich ihrer Fähigkeit zum Wundverschluss und zur Kollagen-Kontraktion. Es konnte gezeigt werden, dass die Wirkung von MPA auf die Fibroblastenproliferation durch die Zugabe von Guanosin/8-Aminoguanosin vollständig reversibel ist. Mittels des Wundverschluss-Assays konnte die inhibitorische Wirkung von MPA auf die Motilität der Fibroblasten nachgewiesen werden. MPA führte hierbei zur zeit- und dosisabhängigen verzögerten Wundheilung. Die Zugabe von Guanosin/8-Aminoguanosin bewirkte wiederum eine weitestgehend vollständige

Aufhebung der Wirkung von MPA. Im Rahmen des Kollagen-Kontraktions-Assays, bei dem die Auswirkungen von MPA bezüglich einer veränderten Kontraktion der extrazellulären Matrixbestandteile untersucht wurde, bestätigte sich ebenfalls das hemmende Potential von MPA auf die Fibroblastenfunktion. Im Gegensatz zu den vorherigen Experimenten konnte hier allerdings der MPA-vermittelte Effekt durch die Zugabe von Guanosin/8-Aminoguanosin nicht antagonisiert werden. Bis dato wird angenommen, dass die Wirkungen der Mycophenolsäure allein auf die Hemmung der *de-novo*-Synthese der Purinbasen durch Blockierung des Schlüsselenzyms Inosinmonophosphat-Dehydrogenase zurückzuführen sind. Hier konnte jedoch der Effekt des MPA auf die Kontraktionsfähigkeit der Fibroblasten nicht durch Guanosin/8-Aminoguanosin aufgehoben werden. Dies impliziert erstmals eine mögliche IMPDH-unabhängige Wirkung der Mycophenolsäure. Allerdings konnte dieser IMPDH-unabhängige Effekt auf die Expression profibrotischer

Gene und Proteine mehrheitlich nicht bestätigt werden. Eine signifikant IMPDH-unabhängige Wirkung von MPA auf eine veränderte CTGF-Genexpression zeigte sich nur nach den ersten 6 h. Im weiteren Verlauf verliefen die MPA-bedingten Effekte wiederum IMPDH-abhängig. Des Weiteren führte MPA erstaunlicherweise initial zu einer supprimierten Genexpression von CTGF, später jedoch zur gesteigerten Expression. Insgesamt waren die Ergebnisse der Expression profibrotischer Gene zum Teil konform, zum anderen Teil jedoch gegensätzlich zu dem heutigen Erkenntnisstand. Daher ist anzunehmen, dass im Rahmen der Fibrogenese die Regulierung der Genexpressionen um ein Vielfaches komplexer zu sein scheint als allgemein bisher angenommen. Weiterführende Untersuchungen zur Erforschung der Fibrogenese sollten vor allem die Wachstumsfaktoren TGF β und CTGF, aber auch TGF β -unabhängige Signalwege beinhalten.

Die *in-vivo*-Experimente zur Untersuchung der antifibrotischen Wirkung von MPA erfolgten an homozygot COL4A3-defizienten Mäusen, welche als Modell für eine progrediente renale Fibrose analog zum humanen Alport-Syndrom dienen. Die tägliche gewichtsadaptierte Gabe von MMF ab der 6. Woche postnatal bewirkte keine Verlängerung der Überlebenszeit der behandelten Versuchstiere gegenüber der Placebo-Gruppe ($p > 0,05$, Log-Rang-Test). Ebenso ließ sich keine Korrelation zwischen den im Serum gemessenen

MPA-Konzentrationen und der Überlebenszeit der Versuchstiere feststellen ($p > 0,05$, Spearman-Rangkorrelation). Allerdings resultierte der hochdosierte Einsatz von MMF in einer deutlich abgeschwächten tubulointerstitiellen Fibrose und in signifikant niedrigeren Kreatinin- und Harnstoff-N-Konzentrationen im Vergleich zu den unbehandelten Versuchstieren ($p < 0,05$, Mann-Whitney-U-Test). So bewirkte beispielsweise die Hochdosierung von MMF eine um 54,2 % niedrigere mittlere Kreatinin-Konzentration und eine um 60,5 % niedrigere mittlere Harnstoff-N-Konzentration im Vergleich zur Placebo-Gruppe. Daher ist von einer verbesserten Nierenfunktion durch die Behandlung mit MMF auszugehen. Weiterhin ließ sich eine hochsignifikante reziproke Korrelation zwischen den MPA-Konzentrationen und den Serum-Kreatinin-Konzentrationen feststellen ($p < 0,01$, Spearman-Rangkorrelation).

Die Behandlung mit MMF bewirkte demnach keine Lebenszeitverlängerung, dennoch resultierte die Hochdosistherapie in einer verminderten tubulointerstitiellen Fibrose und in einer verbesserten Organfunktion verdeutlicht durch die niedrigeren Retentionsparameter Kreatinin und Harnstoff-N, wobei kein Effekt auf die Proteinurie festgestellt werden konnte. Weitere Untersuchungen zur Erforschung der antifibrotischen Effekte von MMF, gegebenenfalls in Kombination mit anderen antifibrotisch wirksamen Medikamenten wie beispielsweise ACE-Hemmern, erscheinen

vielversprechend. Weiterführende klinische Studien sind notwendig, um zu eruieren, inwiefern MMF einen potentiellen Ansatz zur Behandlung der progredienten renalen Fibrose, dem lebenslimitierenden Endzustand zahlreicher Erkrankungen mit fortschreitendem Krankheitsgeschehen, darstellt.

- Brandhorst G, Brehmer F, Petrova DT, Gross O, Miosge N, Armstrong VW, Oellerich M. Mycophenolic acid predose concentrations and renal function in a mouse model for progressive renal fibrosis. *Ther Drug Monit* 2010; 32(1):73-78

VERFASSER:

DR. MED. FRANZISKA BREHMER

Abteilung Dermatologie und Venerologie

Universitätsmedizin Göttingen

Robert-Koch-Straße 40

37075 Göttingen

RESULTIERENDE PUBLIKATION:

- Petrova DT, Brehmer F, Schultze FC, Asif AR, Gross O, Oellerich M, Brandhorst G. Differential kidney proteome profiling in a murine model for renal fibrosis under treatment with mycophenolate mofetil. *Pathobiology* 2011 (accepted for publication, 25.01.2011)
- Petrova DT, Brandhorst G, Brehmer F, Gross O, Oellerich M, Armstrong VW. Mycophenolic Acid Displays IMPDH-Dependent and IMPDH-Independent Effects on Renal Fibroblast Proliferation and Function. *Ther Drug Monit* 2010; 32(4):405-412

Dissertation

Untersuchungen zur Bioaktivität von molekularen Isoformen des Resistins

Dissertation aus dem Institut f. Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie u. molekulare Diagnostik, Universitätsklinikum Leipzig (LEITER: PROF. DR. J. THIERY)

HEINE CONSTANCE SOPHIA, Leipzig

Die Prävalenz von Adipositas und Adipositas-assoziierten Erkrankungen steigt weltweit bei Erwachsenen und Kindern dramatisch an. Die medizinischen, sozialen und wirtschaftlichen Folgen dieser Erkrankungen sind gravierend und betreffen sowohl die individuelle Gesundheit als auch die Finanzierbarkeit des Gesundheitssystems.

Die enge Assoziation von Adipositas und Insulinresistenz ist seit langem bekannt. Warum die Erkrankungen aber häufig gemeinsam auftreten, ist nur unvollständig geklärt. Als 2001 Resistin als neues Adipozytokin beschrieben wurde, hoffte man das fehlende Bindeglied zwischen Adipositas und Insulinresistenz gefunden zu haben. Während Resistin bei Mäusen als Insulinantagonist wirkt, sprechen aktuelle Studien beim Menschen nur für eine schwache Beziehung zwischen Resistin und Insulinsensitivität. Stattdessen belegen immer mehr Forschungsergebnisse, dass Resistin beim Menschen eine Rolle innerhalb Entzündungsreaktionen spielt.

Einen entscheidenden Beitrag zur Erforschung des humanen Resistins leisteten

Gerber et al. (1) mit der Beschreibung verschiedener molekularer Resistinisoformen im menschlichen Serum. Ziel der vorliegenden Arbeit war es diese Resistinisoformen hinsichtlich ihrer Wirkung und Funktion weiter zu charakterisieren.

Dafür wurden im Zellkulturexperiment an Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC-Zellen) umfangreiche Untersuchungen zur Wirkung von Resistin durchgeführt. Dabei gelang es ein Resistin-abhängig produziertes Protein zu identifiziert. Nach Stimulation der HUVEC-Zellen mit Resistin wurde eine konzentrations-abhängige Freisetzung des Macrophage Inflammatory Protein1-beta (MIP1- β) dokumentiert. Mit Hilfe von MIP1- β konnten anschließend die verschiedenen Isoformen des Resistins hinsichtlich ihrer Bioaktivität untersucht werden. Es erfolgte die Auftrennung des humanen rekombinanten Resistins mit Hilfe der Größenausschlußchromatographie und der Einsatz der Resistinisoformen im Zellkulturexperiment. Nach der Stimulation der HUVEC-Zellen mit Resistin mit niedrigem Molekulargewicht war eine

signifikant höhere MIP1- β -Freisetzung zu beobachten. Damit bestätigen die in dieser Arbeit durchgeführten Experimente die Hypothese, dass humane Resistinisoformen mit niedrigem Molekulargewicht eine deutlich höhere Bioaktivität im Vergleich zu hochmolekularen Formen haben.

LITERATUR:

(1) Gerber M, Boettner A, Seidel B, Lammert A, Bär J, Schuster E, Thiery J, Kiess W, Kratzsch J. Serum resistin levels of obese and lean children and adolescents: biochemical analysis and clinical relevance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005; 90:4503-9.

Dissertation

Evaluation eines Radioimmunoassays zur Bestimmung der freien Metanephrene im Plasma im Vergleich zu bisher angewandten biochemischen Verfahren in der Diagnostik des Phäochromozytoms

Dissertation aus dem Institut f. Laboratoriumsmedizin, Klinische Chemie u. molekulare Diagnostik, Universitätsklinikum Leipzig (LEITER: PROF. DR. J. THIERY)

ULRICH MIEHE, Leipzig

Der RIA der Firma Labor Diagnostika Nord GmbH & Co. KG (Nordhorn, Deutschland) zeigt eine hohe diagnostische Sensitivität und Spezifität bei der Bestimmung der freien Metanephrene im Plasma. Der Einsatz des Kits bei Patienten mit dem Verdacht auf ein Phäochromozytom erscheint nach Datenlage dieser Studie eine sinnvolle diagnostische Option, die gegenüber anderen Methoden (u. a. HPLC, GC-MS) einige Vorteile aufweist:

- Der RIA ist relativ zeitnah durchzuführen, kostengünstig und dadurch breit verfügbar.

- Die exakte Analyse der freien Plasmametanephrene ist auch bei Patienten mit Komorbiditäten (z.B. Niereninsuffizienz) möglich.
- Eine genaue Bestimmung der freien Plasmametanephrene im Blut ist durch die schnell und einfach zu realisierende Probenasservierung auch im ambulanten Bereich möglich.

Es konnte keine Korrelation zwischen dem Lebensalter der Patienten und der Höhe der Plasmametanephrinwerte festgestellt werden. Dahingehend ist eine altersspezifische

Anpassung der Grenzwerte der freien Plasmametanephrene nicht notwendig.

Die freien Plasmametanephrene mittels RIA scheinen für das postoperative Follow-up geeignet zu sein. Ein rascher postoperativer Abfall des Normetanephrin und Metanephrin einhergehend mit einer deutlichen klinischen Verbesserung der Symptomatik ist bei den meisten benignen Verläufen zu beobachten. Bei einem malignen Phäochromozytom scheinen die freien Plasmametanephrene auch im weiteren Verlauf erhöht zu bleiben. Die Daten dieser Studie sind jedoch auf Grund einer zu geringen Patientenzahl nur eingeschränkt aussagekräftig. Weitere Untersuchungen müssen deshalb zur Beantwortung dieser Fragestellung erfolgen.

Auf Grund der Ergebnisse dieser Studie ist eine Beeinflussung der Plasmametanephrinwerte durch Erkrankungen wie arterielle Hypertonie, Niereninsuffizienz oder Diabetes mellitus unwahrscheinlich bzw. nur in geringem Maße vorhanden. Jedoch scheint eine Interferenz des RIA mit antihypertensiven Medikamenten wie Clonidin oder Moxonidin möglich. Hier sind weitere Untersuchungen nötig, um diesen Verdacht zu bestätigen oder auszuschließen.

In dieser Arbeit zeigte sich weiterhin, dass auch ohne das Befolgen spezifischer Verhaltensregeln vor der Blutentnahme (z.B. nächtliche Nahrungskarenz, Entnahme des Blutes aus einer Venenverweilkanüle) keine

vermehrten falsch-positiven Messergebnisse auftreten.

Der getestete RIA bietet sich somit für den Einsatz in der Routinediagnostik des Phäochromozytoms an, wodurch verbesserte Aussagen zum Ausschluss bzw. zur Bestätigung der Anwesenheit des Tumors möglich werden.

Habilitationen

Multiparametrische Analytik mit Tandem-Massen-Spektrometrie, eine Herausforderung für die moderne Labormedizin

DR. UTA CEGLAREK, Medizinische Fakultät, Universität Leipzig

1. EINLEITUNG

Die Kopplung der Flüssigchromatographie mit der Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS) hat neue Wege in der klinisch-chemischen Diagnostik eröffnet. Die hervorragende Richtigkeit und Reproduzierbarkeit der Messergebnisse sowie die kostengünstig durchzuführende Analytik mit LC-MS/MS bieten große Vorteile. Limitierungen liegen jedoch in der anspruchsvollen wissenschaftlichen Entwicklung geeigneter Methoden, die für die klinische Medizin und systembiologische Betrachtungen notwendigen Multiparameteranalysen erlauben. Ziel der in der vorliegenden Habilitationsschrift zusammengefassten Arbeiten war es daher, neue massenspektrometrische Verfahren für klinisch relevante Metabolitenklassen und die Analyse des humanen Metaboloms zu entwickeln und zu validieren.

2. MULTIPARAMETRISCHE ANALYTIK VON EXOGENEN UND ENDOGENEN METABOLITEN IN HUMANEN KÖRPERFLÜSSIGKEITEN

Die Forderung nach neuen spezifischen Analyseverfahren für das Therapeutische Drug-monitoring (TDM) von Immunsuppressiva

führte zu einer Entwicklung einer präzisen und genauen analytischer LC-MS/MS-Methode, die eine simultane Quantifizierung von Cyclosporin A, Tacrolimus, Sirolimus und Everolimus ermöglicht und somit dem in der Transplantationsmedizin zunehmend verwendeten Multi-Drug-Regimen gerecht wird. Die entwickelte LC-MS/MS Methode erlaubte erstmals eine Quantifizierung aller 4 Immunsuppressiva aus nur 50 µl Vollblut in einer Gesamtanalysenzeit von 3 min (1). Mit Hilfe einer zweidimensionalen chromatographischen Trennung konnte die massenspektrometrische Methode für die Bestimmung von Immunsuppressiva für die Analytik von Mycophenolsäure aus EDTA-Plasma bei einer Verlängerung der Analysenzeit auf 5 min erweitert werden (2).

In der weiteren Methodenentwicklung wurde geprüft, ob die Kombination von integrierter Probenvorbereitung mit massenspektrometrischen Analyseverfahren die simultane Analytik von klinisch relevanten Steroidhormonen erlaubt. Da die verschiedenen Zwischenstufen der Steroidbiosynthese zum Teil Strukturisomere sind und massenspektrometrisch nicht differenziert werden können,

wurde eine schnelle chromatographische Trennung der isobaren Substanzen in die Methode integriert. Durch Anwendung einer monolithischen Trennsäule wurden 12 klinisch relevante Steroidhormone innerhalb 1.5 min chromatographisch getrennt. In Verbindung mit einer online SPE und nachfolgender Atmosphärendruck-Chemische Ionisation (APCI)-MS/MS konnten aus nur 100 µl Serum die Steroidhormone DHEAS, Cortisol, 11-Deoxycortisol, Androstendion, Testosteron, 17-OHP und Progesteron in 4 min simultan quantifiziert werden (3). Die Vergleichsmessungen für Cortisol und Testosteron zeigten eine hervorragende Übereinstimmung mit immunologischen Standardverfahren (4).

Eine Substanzklasse, die den Steroiden strukturell verwandt ist, sind Phytosterole und Cholesterinmetabolite. Phytosterole werden ausschließlich über die Ernährung vom menschlichen Organismus aufgenommen. Neben ihrer Rolle als Marker für die Steroladsorption werden sie auch als unabhängige Risikofaktoren für die Atherosklerose diskutiert. Um Phytosterolkonzentrationen in großen populationsbasierten Studien messen zu können, wurde das Potential der LC-MS/MS für die Analytik von Sterolen untersucht. Erstmals wurde die Atmosphärendruck-Photoionisation (APPI) für die Ionisation von Sterolen eingesetzt. Hiermit konnte eine bis zu 250fach bessere analytische Sensitivität erzielt werden, als mit der bisher für die Quantifizierung genutzten GC/

MS Methodik. Die Probenvorbereitung wurde auf einen einfachen Verdünnungs- und Proteinfällungsschritt reduziert, um freien und verestertes Brassicasterol, Campesterol, Sitosterol, Stigmasterol, Cholesterin und Lanosterol aus nur 10 µl Serum innerhalb 5 min zu analysieren (5).

Störungen der Fettsäureoxidation und des Aminosäurestoffwechsels können bereits bei Neugeborenen zu schweren irreversiblen geistigen und körperlichen Schäden führen. Mit dem Einsatz der Tandem-Massenspektrometrie ist es möglich, die präsymptomatische Diagnostik im Rahmen des erweiterten Neugeborenencreening auf diese Stoffwechselstörungen auszudehnen. Eine ESI-MS/MS Methode wurde entwickelt, die eine simultane Bestimmung von freiem Carnitin und Acylcarnitinen aus nur 10 µl Urin als Konfirmationsdiagnostik positiver Screeningbefunde ermöglichte (6).

3. DIAGNOSTISCHER NUTZEN MULTIPARAMETRISCHER ANALYTIK MIT LC-MS/MS AM BEISPIEL DES NEUGEBORENENSCHREENINGS

Seit über 10 Jahren wird die Tandem-Massenspektrometrie für das erweiterte Screening auf angeborene Stoffwechseldefekte eingesetzt (7). Automatisierbarkeit, kurze Analysenzeiten (1.5 min) und die daraus resultierende hohe Probenkapazität bei geringen Analysekosten prädestinieren dieses Messverfahren für die Durchführung von Screeninguntersuchungen aus

Trockenblutproben. In den Analysen zur Wertigkeit der Phenylalanin/Tyrosin-Ratio für das NGS auf Phenylketonurie (PKU) wurde gezeigt, dass die Zahl falsch positiver Befunde von 1.4% auf 0.2% sank. Darüber hinaus ermöglichte die Höhe der Phe/Tyr-Ratio unabhängig von der Ernährung eine Differenzierung zwischen behandlungsbedürftiger PKU und nichtbehandlungsbedürftiger Hyperphenylalaninämie (8). Die Untersuchungen zur Wertigkeit einer erhöhten Tyrosinkonzentration für Neugeborenen-screening auf Tyrosinämie Typ I zeigten hingegen, dass sowohl Tyrosin als auch die Metaboliten-Ratios Tyrosin/Serin und der Fischer-Quotient (Verhältnis [Leuzin-Isoleuzin+Valin]/[Phenylalanin+Tyrosin]) nicht für die präsymptomatische Detektion einer hepatorenalen Tyrosinämie Typ I geeignet sind (9). Die Beispiele der Verwendung von Metaboliten-Ratios im Rahmen des Neugeborenen-screensings zeigen, dass die multiparametrische Diagnostik entsprechend den klinischen Fragestellungen validiert werden muss, bevor diese für die klinisch-chemische Diagnostik eingesetzt werden können.

4. UNTERSUCHUNG DES HUMANEN METABOLOMS MIT TANDEM-MASSENSPEKTROMETRIE

Mit der Untersuchung von Metabolitenprofilen, die lebenswichtige zelluläre Prozesse, wie Signalübermittlung und Energiehaushalt reflektieren, wird der systembiologische Einblick in die Entstehung pathophysiologischer Prozesse ermöglicht. Neben der

Quantifizierung von bekannter Metaboliten ist die Identifizierung unbekannter Analyten von großem Interesse. Während die LC-MS/MS hier nur sehr eingeschränkt genutzt werden kann, bietet die Quadrupol-Lineare Ionenfalle (QTrap-MS) Hybridtechnologie die Möglichkeit, über die Fragmentspektren Strukturinformationen zu unbekannten Metaboliten zu erhalten. Im Rahmen der Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Anwendung der QTrap-MS für die Identifizierung von Prostaglandinen anhand der charakteristischen Fragmentspektren hervorragend geeignet ist (10). Somit ermöglicht die QTrap Technologie erstmals auch „non-target“ Metabolom-untersuchungen auf Basis der LC-MS/MS.

In Kooperation mit dem Helmholtz-Zentrum München wurden in einer epidemiologischen Querschnittsstudie Phytosterole als Marker der enteralen Sterolresorption und Lanosterol als Marker der endogenen Cholesterinresorption bei 4222 Probanden analysiert. Erste Ergebnisse zeigten, dass in der normalen Bevölkerung die Höhe des BMI unabhängig von anderen Risikofaktoren für das metabolische Syndrom positiv mit Lanosterol als Marker der Cholesterinsynthese und negativ mit Phytosterolen als Marker der Sterolresorption korreliert (11). Diese war in der normalen Bevölkerung bisher nicht bekannt. Außerdem wurde in ersten vorläufigen Ergebnissen eine enge Assoziation von einer erhöhten Phytosterolkonzentration mit dem Auftreten der koronaren Herzerkrankung gefunden (12).

Systematischen Untersuchungen des humanen Metaboloms zeigen, dass der Einfluss von Ernährung und körperlicher Aktivität im Stoffwechsel glykogener und ketogener Aminosäuren sowie aktivierte Fettsäuren bei gesunden Probanden durch MS/MS Analytik deutlich erkennbar ist (13).

5. ZUSAMMENFASSUNG

Im Rahmen der Habilitationsarbeit wurden neue Methoden der Tandem-Massenspektrometrie entwickelt, die jetzt an der Schwelle zur klinischen Applikation stehen oder bereits klinisch genutzt werden. Für die Labormedizin eröffnet sich damit die Möglichkeit, oft wenig spezifische immunologische Einzeltests durch genaue und präzise massenspektrometrische Verfahren zu ersetzen. Die sorgfältige Validierung präanalytischer und analytischer Einflussfaktoren sowie der diagnostischen Wertigkeit multiparametrischer Analytik stellt die Voraussetzung für eine Anwendung in der klinisch-chemischen Routinediagnostik dar. Darüber hinaus können Stoffwechselwege simultan und umfassend in einer Analyse quantitativ erfasst werden, so dass systembiologische Untersuchungen möglich werden. Mit der Vielzahl innovativer Applikationen und der fortschreitenden Automatisierbarkeit der Analysentechnik wird die Massenspektrometrie in der modernen Labordiagnostik zukünftig fest integriert sein und helfen, den nächsten Schritt in Richtung individualisierte Diagnostik und Therapie zu gehen.

LITERATUR

1. Ceglarek U, Lembcke J, Fiedler GM, Werner M, Witzigmann H, Hauss JP, Thiery J. Rapid Simultaneous Quantification of Immunosuppressants in Transplant Patients by Turbulent Flow Chromatography combined with Tandem Mass Spectrometry. *Clin Chim Acta* 2004; 346 (2):181-90.
2. Ceglarek U, Casetta B, Lembcke J, Baumann S, Fiedler GM, Thiery J. Inclusion of MPA and in a rapid multi-drug LC-tandem mass spectrometric method for simultaneous determination of immunosuppressants. *Clin Chim Acta* 2006;373:168-71.
3. Ceglarek U, Kortz L, Leichtle A, Fiedler GM, Kratzsch J, Thiery J. Rapid quantification of steroid patterns in human serum by on-line solid phase extraction combined with liquid chromatography-triple quadrupole linear ion trap mass spectrometry. *Clin Chim Acta* 2009;401:114-8.
4. Ceglarek U, Werner M, Kortz L, Körner A, Kiess W, Thiery J, Kratzsch J. Preclinical challenges in steroid analysis of human samples. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010; 121:505-12
5. Lembcke J, Ceglarek U, Fiedler GM, Baumann S, Leichtle A, Thiery J. Rapid quantification of free and esterified phytosterols in human serum using APPI-LC-MS/MS. *J Lipid Res* 2005;46:21-6.
6. Mueller P, Schulze A, Schindler I, Ethofer T, Buehrdel P, Ceglarek U. Validation of an ESI-MS/MS screening method for acylcarnitine profiling in urine specimens of neonates, children, adolescents and adults. *Clin Chim Acta* 2003;327:47-57.
7. Müller P, Ceglarek U, Stach B, Kiess QW, Bührdel P, Pfäffle R, J. T. Tandem-Massenspektrometrie (Tandem-MS) in der pädiatrischen Stoffwechselanalytik mit einheitlichen Richtlinien für Richtlinien für das Neugeborenencreening in Deutschland. *Kinder und Jugendmedizin* 2003;6:38-41.
8. Ceglarek U, Muller P, Stach B, Buhrdel P, Thiery J, Kiess W. Validation of the phenylalanine/tyrosine ratio determined by tandem mass spectrometry: sensitive newborn screening for phenylketonuria. *Clin Chem Lab Med* 2002;40:693-7.
9. Weigel JF, Janzen N, Pfäffle RW, Thiery J, Kiess W, Ceglarek U. Tandem mass spectrometric determination of succinylacetone in dried blood spots enables presymptomatic detection in a case of hepatorenal tyrosinaemia. *J Inherit Metab Dis* 2007;30:610.

10. Ceglarek U, Leichtle A, Brugel M, Kortz L, Brauer R, Bresler K, et al. Challenges and developments in tandem mass spectrometry based clinical metabolomics. *Mol Cell Endocrinol* 2009;301:266-71.
11. Ceglarek U, Fiedler GM, Leichtle A, Baumann S, Lang O, Loewel H, Thiery J. Body Mass is Significantly Associated with Decreased Sterol Resorption and Increased Cholesterol Synthesis: Results of the Population-based MONICA/KORA Survey 1994/95. *Circulation* 2006;114:861 (abstract).
12. Thiery JC, U.; Fiedler, GM.; Leichtle, A.; Baumann, S.; Teupser, D.; Lang, O.; Baumert, J.; Meisinger, C.; Loewel, H.; Doering, A. Elevated Campesterol Serum Levels - a Significant Predictor of Incident Myocardial Infarction: Results of the Population-based MONICA/KORA Follow-up Study 1994 to 2005. *Circulation* 2006;114:II-884.
13. Brauer R, Leichtle A, Fiedler GM, Thiery J, Ceglarek U. Preanalytical standardization of amino acid and acylcarnitine metabolite profiling in human blood using tandem mass spectrometry. *Metabolomics*; DOI 10.1007/s11306-010-0256-1

VERFASSTER:

PD DR. UTA CEGLAREK
 Universitätsklinikum Leipzig
 Institut für Laboratoriumsmedizin,
 Klinische Chemie und Molekulare
 Diagnostik
 Liebigstr. 27
 04103 Leipzig

Habilitation

Peptidomanalytik mit MALDI-TOF Massenspektrometrie – Von der Präanalytik zur klinischen Diagnostik

DR. MARTIN FIEDLER, Medizinische Fakultät, Universität Leipzig

Die rasante Entwicklung der Peptidomanalytik mit Hilfe der Massenspektrometrie eröffnet neue Perspektiven für die Identifizierung bisher unbekannter krankheitsassoziierter Zielmoleküle und Signalkaskaden. Allerdings stellen die Dynamik des Proteoms bzw. Peptidoms, Matrixeffekte und der weite

Konzentrationsbereich kleiner Proteine und Peptide im Blut und in anderen humanen Proben besondere Anforderungen an die Analytik. Neue bioinformatische Methoden der Datenanalyse sowie spezielle Studiendesigns sind erforderlich, um aus den komplexen Proteom- und Peptidomdaten medizinisch nutzbare Ergebnisse zu extrahieren sowie das

Problem des „multiple testing“ und der „false positives“ zu reduzieren.

Ziele der Habilitationsarbeit waren:

1.) die systematische Analyse präanalytischer Störfaktoren und die Entwicklung von Standardprotokollen für die Peptidomanalytik von Serum, Urin und Liquor zur Minimierung der analytischen Varianz

2.) die Untersuchung des Serumpeptidoms und die Identifizierung neuer Biomarker für das Pankreaskarzinom zur sicheren Differenzierung zwischen Gesunden und Tumorpatienten.

Die Peptidomanalytik erfolgte mit der Matrix-assistierten Laserdesorptions/Ionisations-Time-of-Flight Massenspektrometrie (MALDI-TOF MS) nach Fraktionierung der Proben mit Hilfe magnetischer Trägerpartikel (MB) unterschiedlicher Oberflächenfunktionalität (MB-HIC C8, MB-IMAC Cu, MB-WCX). Zudem wurden sensitive bioinformatische Verfahren zur Auswertung der komplexen Studiendaten neu entwickelt und die identifizierten Peptide immunologisch verifiziert.

Als Ergebnis der systematischen präanalytischen Analysen konnte ein wesentlicher Einfluss von Störfaktoren wie Lagerungsbedingungen, Einfrier-/Auftauzyklen, Antikoagulantien, Temperatur, pH etc. auf die Peptidomanalytik humaner Proben nachgewiesen werden. Auf der Basis dieser Resultate wurden erstmals spezifische Standardprotokolle

für die medizinische Peptidomanalytik von Serum, Urin und Liquor entwickelt, um die Varianz der Ergebnisse zu minimieren. Im Rahmen einer klinischen Studie (Chirurgische Universitätskliniken Leipzig und Heidelberg; 60 Kontrollpersonen, 60 Patienten mit Pankreaskarzinom und 26 Patienten mit Pankreatitis), wurden das neu entwickelte präanalytische Standardprotokoll und eine durch unsere Arbeitsgruppe gemeinsam mit der FU Berlin etablierte Analysesoftware („proteomics.net“) eingesetzt. Unter Anwendung eines Studiendesigns mit externer Validation gelang es uns erstmals den Massenpeak m/z 3884 im Serum als Peptidmarker des Pankreaskarzinoms zu detektieren. ROC- (Receiver Operating Characteristic) Analysen ergaben, dass die zusätzliche Bestimmung dieses Kandidatenpeaks die Sensitivität und Spezifität der labormedizinischen Tumordiagnostik in Verbindung mit den etablierten Tumormarkern CA 19 9 und CEA deutlich erhöht. Der Kandidatenpeak konnte von uns als Fragment von Plättchenfaktor 4 identifiziert und mit einem spezifischen ELISA an einer Patientenkohorte validiert werden.

Die Ergebnisse der Habilitationsschrift unterstreichen das Zukunftspotential der Peptidomanalytik in der Klinischen Chemie und Laboratoriumsmedizin für die Entdeckung neuer krankheitsassoziierter Marker. Aktuell werden die massenspektrometrischen Verfahren weiterentwickelt, um mit hoher Sensitivität und Spezifität Peptide und Proteine

aus Kandidatenloci genomweiter Studien des Lipidstoffwechsels und der Koronaren Herzkrankung (Leipziger Herzstudie) zu identifizieren und quantifizieren. Später werden Untersuchungen der umwelt- und lebensstilassozierten Krankheiten der LIFE-Studie folgen. Wir hoffen, dadurch eine nachhaltige Vernetzung der Genom- und Peptidomanalytik zur Aufklärung der pathophysiologischen Basis und der ungeklärten Varianz häufiger Zivilisationskrankheiten zu erreichen. Die in der Habilitationsschrift dargelegten präanalytischen Bedingungen der Labormedizin und die klinische Anwendung am Beispiel des Pankreaskarzinoms bieten hierfür die entscheidende Grundlage.

LITERATUR:

- Fiedler GM, Peptidomanalytik mit MALDI-TOF Massenspektrometrie - Von der Präanalytik zu klinischen Diagnostik, 1. Aufl. 2010, Shaker Verlag, Aachen, ISBN: 978-3-8322-8987-4
- Fiedler GM, Leichtle AB, Kase J, Baumann S, Ceglarek U, Felix K, Conrad T, Witzigmann H, Weimann A, Schütte C, Hauss J, Büchler M, Thiery J., Serum peptidome profiling revealed platelet factor 4 as a potential discriminating Peptide associated with pancreatic cancer, Clin Cancer Res; 2009; 15(11): 3812-9, PMID: 19470732.
- Brügel M, Planert M, Baumann S, Focke A, Bergh F, Leichtle A, Ceglarek U, Thiery J, Fiedler GM, Standardized peptidome profiling of human cerebrospinal fluid by magnetic bead separation and matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry, J Proteomics. 2009; 72(4): 608-15, PMID: 19111955.
- Fiedler GM, Baumann S, Leichtle A, Oltmann A, Kase J, Thiery J, Ceglarek U, Standardized Peptidome Profiling of Human Urine by Magnetic Bead Separation and Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry, Clin Chem 2007; 53(3): 421-428, PMID: 17272489.
- Baumann S, Ceglarek U, Fiedler GM, Lembcke J, Leichtle A, Thiery J., Standardized Approach to Proteome Profiling of Human Serum Based on Magnetic Bead Separation and Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry, Clin Chem 2005; 51: 973-980, PMID: 15845803.
- Fiedler GM, Ceglarek U, Lembcke J, Baumann S, Leichtle A, Thiery J, Application of mass spectrometry in clinical chemistry and laboratory medicine, J Lab Med. 2004; 28(3): 184-194.

VERFASSER:

PD. DR. MARTIN FIEDLER

Inselspital, Universitätsklinik, Institut für
Klinische Chemie

IRC INO F
CH-3013 Bern

Tagungsbericht

DGKL-Symposium und Anwendertreffen der AG LC-MS/MS

Mannheim, 01.-02.10.2010

Wie bereits im Vorjahr führte die Arbeitsgruppe LC-MS/MS der DGKL ihr jährliches Anwendertreffen im Anschluss an die Jahrestagung der DGKL 2010 in Mannheim durch. Unter der wissenschaftlichen Leitung von PROF. DR. VOGESER (München) und Frau PD. DR. UTA CEGLAREK (Leipzig) veranstaltete die AG LC-MS/MS im Rahmen der Jahrestagung der DGKL außerdem ein Symposium mit dem Thema „LC-MS/MS: Schlüsseltechnologie der Biomarker-Quantifizierung“. Erfreulicherweise stieß das DGKL-Symposium, auf dem neue Entwicklungen massenspektrometrischer Verfahren für metabolom- und proteomweite Untersuchungen sowie ein Update zur endokrinologischen Diagnostik mit LC-MS/MS im Mittelpunkt standen, auf eine gute Resonanz bei den Tagungsteilnehmern.

Ebenso war das am Samstag stattfindende Anwendertreffen der Arbeitsgruppe LC-MS/MS, welches in diesem Jahr von DR. RUPERT SCHREINER (Heidelberg) organisiert wurde, wieder sehr gut besucht. Über 70 Teilnehmer aus den verschiedensten Institutionen und medizinischen Laboren kamen zu dem Erfahrungsaustausch, um neue Applikationen und Geräteentwicklungen auf dem Gebiet der LC-MS/MS kennenzulernen und zu diskutieren. Während am Vormittag im Workshop I (Moderation DR. RUPERT SCHREINER) den Herstellerfirmen die Möglichkeit gegeben wurde, neue instrumentelle Entwicklungen (z.B. hochauflösende Massenspektrometrie)

und massenspektrometrische Applikationen, wie die Analytik von Metanephrinen und 1,25 Dihydroxy-Vitamin D3 aus Plasma vorzustellen, ging es im Workshop 2 (Moderation PROF. MICHAEL VOGESER, München) um praktische Aspekte, wie im Vortrag von Herrn Krüger (Mainz) zu Interferenzen bei der Bestimmung von Posaconazol. Am Nachmittag fanden dann, wie aus den Vorjahren bereits bekannt, verschiedene Round-Table Diskussionsrunden unter der Leitung von DR. SCHREINER, DR. KIRCHHERR und PROF. VOGESER statt. Hier wurde allen Workshopteilnehmer die Möglichkeit geboten, in kurzen Erfahrungsberichten und Diskussionsbeiträgen auftretende Geräte- und Applikationsprobleme vorzustellen. Die Teilnehmer der Jahrestagung zeigten wie in den vergangenen Jahren ein großes Interesse an der Fortführung des Anwendertreffens der AG LC-MS/MS. Das nächste Anwendertreffen wird deshalb unter der Leitung von Herrn PD. DR. MANFRED RAUH vom 29.9.-30.9.2011 in Kloster Banz, Bad Staffelstein stattfinden. Wir möchten alle interessierten DGKL-Mitglieder schon jetzt dazu herzlich einladen.

VERFASSER:

PD DR. UTA CEGLAREK, Universitätsklinikum Leipzig, Institut für Laboratoriumsmedizin, Klinische Chem. u. Molekulare Diagnostik, Liebigstr. 27, 04103 Leipzig

9. Anwendertreffen der DGKL-Arbeitsgruppe LC-MS/MS in der Labormedizin

Kloster Banz bei Bad Staffelstein

29. und 30. September 2011

Die Anwendersymposien der AG sollen das Networking der medizinischen LC-MS/MS-Anwender fördern; insbesondere bieten sie die Möglichkeit, Probleme und Herausforderungen in der massenspektrometrischen Analytik in zwangloser Atmosphäre zu diskutieren.

- Die Teilnehmerzahl ist auf 80 begrenzt
- Kosten inklusive Übernachtung ca. 170 €
- Abstracts für Kurzvorträge von Anwendern (5 bis 15 Minuten) als Diskussionsgrundlage können per email eingereicht werden

Anmeldung bei:

PD DR. MANFRED RAUH

E-Mail: manfred.rauh@uk-erlangen.de

Details zum Programm können in Kürze auf der Homepage der Arbeitsgruppe unter

www.dgkl.de eingesehen werden.

Die Veranstaltung beginnt am Donnerstag den 29.09.2011 mittags und endet am Freitag den 30.09.2011 am frühen Nachmittag.

Konferenz Nachwuchsrekrutierung und Nachwuchsförderung

Liebe Kollegen,

am 23. September soll in Bremen ein Konferenz unter dem Titel „Nachwuchsrekrutierung und Nachwuchsförderung“ stattfinden. Die Konferenz richtet sich an alle, die sich für die Entwicklung von Strategien zur Nachwuchsrekrutierung und Nachwuchsförderung interessieren, nach Ideen für die Lösung lokaler Nachwuchsprobleme suchen und/oder sich um Verbesserungen der Weiterbildungen selbst bemühen. Wir freuen uns über rege Teilnahme.

Termin: Freitag, 23. September 2011, 8.30 Uhr bis 17.00 Uhr
 Ort: Klinikum Links der Weser, Bremen
 Auskünfte und Anmeldung: Prof. Dr. Eberhard Gurr, Tel. 0421/8791670
 email: eberhard.gurr@klinikum-bremen-idw.de

PROGRAMM UND ZEITPLAN

Beginn		8.30 Uhr
1. Die Identität des Faches Klinische Chemie/Laboratoriumsmedizin als Querschnittsfach	E. Wieland, Stuttgart	8.30 Uhr
2. Parallele Workshops zu folgenden Fragestellungen:		9.30 Uhr
2.1 <i>Labormedizin in der Ausbildung</i>	C. Knabbe, Bad Oeynhausen	
2.2 <i>Wissenschaft als Instrument zur Rekrutierung</i>	H. Renz, Marburg	
2.3 <i>Weiterbildung</i>	N. Katz, Giessen	
2.4 <i>Klinische Chemie als Masterstudiengang?</i>	R. Lichtinghagen, Hannover	
Mittagspause		12.30 Uhr
3. Merkmale der Berufsausübung aus Sicht eines kommunalen Arbeitgebers	D. Hansen, Bremen	13.30 Uhr
4. Klinische Chemie/ Laboratoriumsmedizin in der Krankenversorgung aus Sicht der KBV	D. Auch, Berlin	14.15 Uhr
5. Klinische Chemie/Laboratoriumsmedizin als wissenschaftliches Fach aus Sicht der DFG	N.N.	15.00 Uhr
6. Präsentation der Ergebnisse der Workshops.		16.00 Uhr
Ende der Veranstaltung		17.00 Uhr

Repetitorium Klinische Chemie 2011

Termin: 21.11.2011, 12.00 Uhr – 26.11.2011, 12.00 Uhr.

Ort: Klinikum Links der Weser, Visit-Academy, Senator-Weßling Str. 1, D-28277 Bremen.

Organisation und Leitung: Prof. Dr. E. Gurr, Bremen.

Inhalt: Die im Gegenstandskatalog zur Weiterbildung in Klinischer Chemie genannten Teilgebiete des Faches.

Unkostenbeitrag: € 670,- für Nichtmitglieder der DGKL; € 600,- für Mitglieder der DGKL. Die Kosten für Übernachtung, Verpflegung und die Tagungsunterlagen sind im Unkostenbeitrag eingeschlossen.

Zertifizierung: Ärztekammer Bremen (voraussichtlich 51 Punkte (Kategorie H)).

Leukozytendifferenzierkurs 2011

Termin: 26.11.2011, 11.00 Uhr – 27.11.2011, 14.00 Uhr.

Ort: Klinikum Links der Weser, Visit-Academy, Senator-Weßling Str. 1, 28277 Bremen.

Organisation: Prof. Dr. E. Gurr, Bremen.

Leitung: Prof. Dr. med. Schuff-Werner, Rostock.

Inhalt: Theoretische Einführung in die Hämatologie und praktische Übungen zur mikroskopischen Blutzellendifferenzierung.

Unkostenbeitrag: € 190,-. Im Unkostenbeitrag sind die Kosten für Übernachtung (EZ) und Verpflegung eingeschlossen.

Zertifizierung: Ärztekammer Bremen (voraussichtlich 11 Punkte (Kategorie C)).

Anmeldung für beide Veranstaltungen: Die maximale Teilnehmerzahl für jede Veranstaltung beträgt 20. Es entscheidet die Reihenfolge der Anmeldung.

Anmeldungen bitte an:

Frau Katja Steinbach
 Geschäftsstelle der DGKL
 Friesdorfer Str. 153
 D-53175 Bonn
 Tel: 0228-92689517/ Fax: 0228-92689527
 E-Mail: sekretariat@dgkl.de

Rückfragen:

Frau Kathrin Horstmann
 Abteilung für Klinische Chemie und Zentrallabor
 Klinikum Links der Weser
 Senator-Weßling-Str. 1
 D-28277 Bremen
 Tel: 0421/8791671
 Email: kathrin.horstmann@klinikum-bremen-ldw.de



4th EuCheMS Chemistry Congress

August 26–30, 2012, PRAGUE, Czech Republic

With great pleasure and pride, we would like to officially invite you to attend the 4th EuCheMS Congress, taking place on 26–30 August 2012 in Prague, Czech Republic. The biannual congress will offer you a possibility to learn from experts in the field of chemistry, share experiences with companies, scientists, academics and debate about challenging topics.

Registering for The Congress means:

- attending almost 2000 scientific and professional practice paper presentations
- learning from international leading key note speakers
- joining an event, where both scientific and real business experts are brought together
- enjoying our social networking events
- explore the exhibition of companies and entrepreneurs from the filed

Don't miss this opportunity! It's NOW time for Prague! Go to www.euchems-prague2012.cz for more information, to register and to submit your papers.

Kind regards,
We are looking forward to seeing you in Prague
Congress Organisers

IMPORTANT DATES

Registration opening	May 2011
Online abstract submission opening	To be announced
Early registration deadline	May 5, 2012
Abstract submission deadline	May 5, 2012
Exhibition space booking deadline	May 31, 2012

NÜRNBERG 2010 RESULTS:

Total number of registrants	2'465
Countries represented	63
Oral lectures	532
Posters	1401

4th EuCheMS WILL BE HONOURED TO WELCOME A NUMBER OF RENOWNED SPEAKERS:

NOBELISTS

Ciechanover Aaron, Tumor and Vascular Biology Research Center, Haifa, Israel
Grubbs Robert H., California Institute of Technology, Pasadena, USA
Lehn J. M., Université Louis Pasteur, Strasbourg, and Collège de France, Paris, France
Tsien Roger Y., Howard Hughes Medical Institute La Jolla, USA
Wüthrich Kurt, The Scripps research Institute, La Jolla, USA
Yonath Ada, Weizmann Institute of Science, Rehovot, Israel

VIPS

Andrew Evans, University of Liverpool, Liverpool, UK
Bach Thorsten, Technische Universität München, Garching, DE
Bonacic-Koutecky Vlasta, Humboldt Universität zu Berlin, DE

Fürstner Alois, Max-Planck-Institut für Kohlenforschung, Mülheim/Ruhr, DE
Hudlický Tomáš, Brock University, St. Catharines, Canada
Knoche Paul, Ludwig-Maximilians-Universität, München DE
Lipshutz Bruce H., University of California, Santa Barbara, USA
Paterson Ian, University of Cambridge, Cambridge, UK
Reetz Manfred T., Max - Planck - Institut für Kohlenforschung, Mülheim/Ruhr, DE
Siegel Jay S., Organisch-chemisches Institut, Universität Zürich, CH
Snyder Scott A., Columbia University, New York, USA
Tureček František, University of Seattle, USA
Yamamoto Hisashi, The University of Chicago, USA

... and many more
to be confirmed and announced.

CONGRESS VENUE

Prague Congress Centre is one of the dominant points of the City of Prague. It is located on one of Prague's hills, which provides visitors with a beautiful view of the world famous Prague panorama where the silhouette of Prague Castle, together with a myriad of towers belonging to churches, cathedrals, palaces and ancient buildings from the historical centre, rise over the Vltava River and extensive parks.



MAIN CONGRESS TOPICS:

- Analytical chemistry Electrochemistry
- Education and History, Professional chemists
- Food Chemistry
- Environment, Energy and Green Chemistry
- Inorganic Chemistry
- Life Sciences
- Nanochemistry, Nanotechnology
- Organic Chemistry, Polymers
- Physical, Theoretical and Computational Chemistry
- Solid State Chemistry





DGTI2011



44. Jahreskongress der Deutschen
Gesellschaft für Transfusionsmedizin
und Immunhämatologie (DGTI)



27. – 30. September 2011
Hannover Congress Centrum

www.dgti2011.de

Veranstaltungskalender

DATUM, ORT	VERANSTALTUNG
13.09. - 17.09.2011 Dublin - Irland	Jahrestagung der European Society for Clinical Cell Analysis (ESCCA)
16.09. - 17.09.2011 Berlin	12. Deutscher Medizinrechtstag in Berlin Programm und Anmeldung auf der Homepage
20.09. - 22.09.2011 Sao Paulo, Brasilien	2. Congress Analitica Latin America
22.09. - 25.09.2011 Dresden	10. Dresdner Symposium on Autoantibodies
23.09.2011 Bremen	Konferenz Nachwuchsrekrutierung und Nachwuchsförderung
25.09. - 28.09.2011 Essen	63. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie (DGHM) e.V.
27.09. - 30.09.2011 Hannover	DGTI 2011 - 44. Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Transfusionsmedizin
29.09. - 30.09.2011 Bad Staffelstein	9. Anwendertreffen der AG LC-MS/MS in der Labormedizin

9. JAHRESTAGUNG DER DGKL 2012 **26. - 29. SEPTEMBER**

CONGRESS CENTER ROSENGARTEN MANNHEIM

Weitere Informationen zu den Veranstaltungen finden Sie unter www.dgkl.de.



Das Laboratoires Réunis ist seit 1997 in der Laboranalytik national und international tätig. Unser akkreditiertes medizinisches Labor in Luxemburg beschäftigt zurzeit über 160 Mitarbeiter. Unsere Laborkultur ist geprägt durch unseren hohen Anspruch an Qualität, Schnelligkeit, Flexibilität und Innovation. Unser internationales und dynamisches Umfeld bietet ständig neue und verantwortungsvolle Herausforderungen für unsere team- und patienten-orientierten Mitarbeiter(innen).

Die Analyseschwerpunkte liegen auszugsweise in der Hämatologie, Gerinnung, Biochemie, Endokrinologie, Allergiediagnostik, der Genetik, Mikrobiologie, Infektionsdiagnostik mittels Real-Time PCR, etc. Weitere Bereiche sind im Ausbau wie z.B. die Immunologie oder die Pathologie.

Zur Erweiterung unseres Teams suchen wir ab sofort einen:

Facharzt für Laboratoriumsmedizin (m/w)

Ihre Aufgaben:

Sie sind verantwortlich für die medizinische Validierung in den Bereichen Hämatologie/ Durchflussszytometrie, Mikrobiologie, Biochemie/ Endokrinologie.

Sie beraten und informieren Ärzte über Diagnose- und Therapiemöglichkeiten.

Sie sind zuständig für die Erstellung und Dokumentation von Befunden.

Ihr Profil:

Sie sind Mediziner mit einer anerkannten Spezialisierung als Facharzt für Labormedizin und verfügen über erste Erfahrungen als Laborarzt, bestenfalls in einem der oben genannten Spezialgebiete. Sie arbeiten gerne selbständig in einem internationalen Team, beherrschen Englisch in Wort und Schrift und verfügen idealerweise über gute Französischkenntnisse. Hohe Lernbereitschaft, kommunikative Fähigkeiten, lösungs- und zielorientiertes Handeln, hohes Engagement und Servicedenken runden Ihr Profil ab.

Wenn Sie dieses Profil anspricht senden Sie Ihre vollständigen Bewerbungsunterlagen, mit Angabe Ihrer Gehaltsvorstellung, per Post oder gerne auch per Email an:

LABORATOIRES REUNIS

Madame Silke Breuer
HR/ Recruiting & Skill Management
38, rue Hiehl, Z.A.C. Laangwiss
L-6131 Junglinster
e-mail: bsi@labo.lu

Weitere Informationen über unser Unternehmen finden Sie unter: www.labo.lu



Die gespag ist Oberösterreichs größter Krankenhausträger und beschäftigt rund 9.800 MitarbeiterInnen.

Das **Landes-Krankenhaus Vöcklabruck**, eine Gesundheitseinrichtung der Oö. Gesundheits- und Spitals-AG, sucht eine/n

Facharzt/-ärztin für Medizinische und Chemische Labordiagnostik

Bei Nichtbesetzung der Facharztstelle Unterbesetzung mit Turnusarzt/-ärztin in Ausbildung zum/zur Facharzt/-ärztin für Medizinische und Chemische Labordiagnostik

Die Position ist vorerst für die Dauer von zwölf Monaten befristet. Bei einer Unterbesetzung als Ausbildungsstelle besteht die Option auf Verlängerung für die Dauer der Ausbildung, die Stelle für eine/n Fachärztin/-arzt wird nach erstmaliger Befristung als Dauerstelle angeboten. Bei Interesse an dieser Position laden wir Sie ein, den gesamten Ausschreibungstext unter www.gespag.at/jobs nachzulesen und sich dort das erforderliche Bewerbungsformular downzuloaden.

Für nähere Auskünfte steht Ihnen Frau Prim. Dr. Susanne Hauptlorenz, Leiterin des Institutes für Medizinische und Chemische Labordiagnostik, Tel.-Nr. 0043/50 55471-25300, susanne.hauptlorenz@gespag.at, gerne zur Verfügung.

Ihre aussagekräftigen **Unterlagen** senden Sie bitte gemeinsam mit dem Bewerbungsformular bis **30. Juni 2011** an:
Landes-Krankenhaus Vöcklabruck, Personalstelle
z.H. Frau Josefa Bruckbacher
Dr. Wilhelm-Bock-Straße 1, A-4840 Vöcklabruck



Krankenhaus
Vöcklabruck
Eine Gesundheitseinrichtung der **gespag**

www.gespag.at

75. Geburtstag von Werner Jaroß

WERNER JAROSS wurde 1936 in Senftenberg im Brandenburgischen geboren. Nach dem Abitur nahm er 1954 an der Berliner Humboldt-Universität das Medizinstudium auf, das er 1959 an der Medizinischen Akademie Dresden beendete. An dieser medizinischen Hochschule sollte er sein gesamtes Arbeitsleben verbringen. Das ist ein ungewöhnlicher Werdegang aus der Sicht der heutigen mobilen Gesellschaft, aber es bedeutete nicht 40 Jahre Routine und ein geruhames Dasein. Über dem Jahr 1961 stand die Vollapprobation als Arzt, erfolgreiche Promotion über „Sulfonamide“ und der Beginn des Allgemeinärztlichen Jahres an der Poliklinik der Medizinischen Akademie Dresden. Anschließend erfolgte die eine 5jährige Facharztausbildung für Innere Medizin unter WILHELM CRECELIUS und FRIEDRICH RINGER. 1968 wurde er als Oberarzt an der Klinik für Innere Medizin mit der kommissarischen Leitung der poliklinischen Abteilung betraut und arbeitete in der Nephrologie sowie der Diabetologie.

Zwischen 1959 und 1968 absolvierte er erfolgreich ein Fernstudium der Chemie an der Technischen Universität Dresden, das er mit dem Diplom abschloss. 14 Monate arbeitete er im Institut für Lebensmittel- und Biochemie unter ULRICH FREYMUTH und entwickelte in seiner Diplomarbeit eine Mikromethode zur quantitativen Bestimmung von Lipiden



im Leberpunktat. 1970 wurde WERNER JAROSS Facharzt für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik.

Zu den hepatologischen Forschungsthemen seiner ersten 10 wissenschaftlichen Jahre gehörten Untersuchungen zur Cholesterolesteinbildung in der Galle. Krönender Abschluss dieser Periode war die Habilitation im Jahre 1973.

1971 erhielt WERNER JAROSS die Dozentur, 1977 folgte die Berufung zum Ordentlichen Professor für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik.

1969 wurde WERNER JAROSS mit der Leitung des sog. Zentrallabors II der Medizinischen Klinik betraut und gleichzeitig beauftragt, die Zentralisierung aller Routinelabors der Medizinischen Akademie zu realisieren. 1971 war das Gründungsjahr der selbständigen „Abteilung Klinische Laboratorien“. Damit war ein für die damalige Zeit modernes Laboratorium entstanden, ausgerüstet mit Analysenautomaten und einer Labor-EDV. Es deckte die gesamte Bandbreite der Laboratoriumsdiagnostik ab. 1983 ging aus der Abteilung Klinische Laboratorien das „Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik“ hervor, dessen Direktor WERNER JAROSS bis zu seiner Emeritierung im Jahre 2001 war.

WERNER JAROSS gelang es, die Aufgaben eines Hochschullehrers in Forschung, Lehre und Krankenversorgung optimal zu verbinden. Die studentische Ausbildung im Fachgebiet Laboratoriumsmedizin wandelte sich unter seiner Leitung vom „Pinkelkurs“ über die Methodenkenntnis hin zur Indikation und Interpretation der Ergebnisse. Auch das Postgradualstudium der Naturwissenschaftler zum Fachchemiker der Medizin wurde von ihm deutlich mit geprägt und intensiv befördert.

Die Jahre zwischen 1973 und 1985 standen unter der Überschrift „Standardisierung und Apolipoproteine“. WERNER JAROSS war Leiter der Arbeitsgruppe „Lipide“ in der Gesellschaft für Klinische Chemie und

Laboratoriumsdiagnostik der DDR. Diese Gruppe war mit der Standardisierung der Bestimmungsmethoden für Lipide und Apolipoproteine beschäftigt, bereits für das DAB-7 und später für das AB2(83)-DDR und gab den Kommentarband Nr. 15 zum Arzneibuch „Lipidanalytische Prüfkomponten in der Laboratoriumsdiagnostik“ heraus. 1975 erschien die Monografie „Lipidstoffwechselstörungen - Diagnostik, Klinik und Therapie“, bekannt als ein Standardwerk zum Lipidstoffwechsel.

Am Anfang der praktischen Auseinandersetzung mit den Apolipoproteinen stand der direkte Kontakt mit den wichtigen europäischen Arbeitsgruppen von GERHARD KOSTNER in Graz und ANATOLY N. KLIMOV in St. Petersburg. 1980 wurde WERNER JAROSS Mitglied des European Lipoprotein Club und konnte somit ab 1981 die eigenen wissenschaftlichen Ergebnisse in Tutzing vorstellen. Im Rahmen der Hauptforschungsrichtung Diabetes war sein Institut mit verschiedenen eigenen Forschungsaufgaben vertreten.

Das Jahr 1973 steht als Geburtsjahr einer 30jährigen Tradition der Dresdner Lipidsymposien. Die ersten Symposien standen noch unter Leitung von HANS HALLER. Später übernahmen seine Schüler WERNER JAROSS und MARKOLF HANEFELD abwechselnd den Vorsitz. Geboren als nationales Symposium mit internationaler Beteiligung entwickelte es sich zum Internationalen Dresdner Lipidsymposium, dem es gelang, einen fruchtbaren

Wissensaustausch zwischen führenden Wissenschaftlern aus Westeuropa, Übersee und den osteuropäischen Staaten zu schaffen.

1986 bildete WERNER JAROSS eine genetische Arbeitsgruppe um das Institut methodisch zu rüsten und erfolgreich im Rahmen des Forschungsschwerpunktes „Differenzierung des Arteriosklerosisrisikos“ das Teilprojekt „Kandidatengene bei FKHL“ nach Suszeptibilitätssalellen für die FKL in den Genen der Lipoproteinlipase, der hepatischen Triglyzeridlipase und des Insulinrezeptors zu forschen.

In den Jahren 1991-1996 wirkte das Institut unter seiner wissenschaftlichen Leitung aktiv im Rahmen des BMBF-Projektes „Differenzierung des Arteriosklerosisrisikos bei kombinierter Hyperlipoproteinämie und Hypertonie“ mit.

Neben den mehr methodisch orientierten Themen standen bei WERNER JAROSS stets auch epidemiologisch ausgerichtete Patienten- und Kohortenstudien auf der Tagesordnung. Dazu gehörten die Kohortenstudie zur Häufigkeit von Dyslipoproteinämien im Raum Dresden, die Pubertätsstudie, welche die hormonelle Regulation des Lipoproteinstoffwechsels zum Inhalt hatte, sowie die Dresdner Neugeborenenstudie. Es folgten die Mitarbeit bei MONICA und die DRECAN-Studie. Letztere nutzte die unwiederbringliche Chance, den Einfluss unterschiedlicher Lebensstile und Ernährungsgewohnheiten über viele Jahre auf das kardiovaskuläre Risikoprofil

in vergleichbaren Bevölkerungsgruppen in Ost (Dresden) und West (Münster) zu untersuchen.

Die wissenschaftlichen Beiträge von WERNER JAROSS umspannten somit den Rahmen von der „Wertigkeit analytischer Methoden für die Plasmalipide und Plasmalipoproteine“ (1973) bis zu „Biological Effects of secretory Phospholipase A2 group IIA on Lipoproteins and in Atherogenesis“ (2002). Aus seiner Feder stammen mehr als 300 Beiträge in Fachzeitschriften, Kongressberichten, Sammelwerken und Monografien. Er war Mitherausgeber der Sammelbände der Dresdner Lipidsymposien. Sein wissenschaftliches Wirken wurde mit der Fetscher-Medaille und der Ehrenmitgliedschaft in verschiedenen europäischen (Schweiz, Bulgarien, Tschechien, Slowakei) und außereuropäischen (Cuba) Fachgesellschaften geehrt. 2003 erhielt er die Rudolf-Schönheimer-Medaille der Deutschen Gesellschaft für Arterioskleroseforschung.

Seine Freunde, ehemaligen Kollegen und Mitarbeiter erinnern sich bis heute gern an die Zusammenarbeit mit WERNER JAROSS, an gemeinsames Experimentieren, an die wissenschaftlichen Streitgespräche, aber auch an seinen Humor bei aller Ernsthaftigkeit, an seinen nie enden wollenden Tatendrang, seine Zuverlässigkeit und seine Hilfsbereitschaft.

Zwischen 1984 und 1993 haben sich unter Werner Jaroß fünf Mitarbeiter habilitiert. Die

Themen widerspiegeln die Vielfalt der Forschung seines Institutes und reichen von der Lipoproteinproblematik über Spurenelemente, LDL-Rezeptor und LDL-Speicherung im Tumor, Beeinflussung der Fibrinolyse bis hin zur frühkindlichen Prägung des Lipoproteinstoffwechsels. Unter seiner Leitung promovierten 5 Biochemiker bzw. Chemiker. Daneben beschäftigte sich eine Vielzahl medizinischer Diplomarbeiten und Promotionen mit klinischen relevanten Themen.

PROF. DR. MED. HABIL. DIPL-CHEM. WERNER JAROSS feiert am 25. Mai 2011 seinen 75. Geburtstag. Wir denken mit Dankbarkeit an die gemeinsamen Zeiten und wünschen dem Jubilar auch für die kommenden Jahre beste Gesundheit, Glück und Zufriedenheit.

VERFASSENDE:

SYBILLE BERGMANN, DIETER MEISSNER UND GABRIELE SIEGERT, Dresden

Erratum

Der Tagungsbericht „Banzer Minisymposium Klinische Toxikologie“ aus der Klinischen Chemie Mitteilung Heft 1, 2011 auf Seite 24 ff. ist von Frau Birgit Henschel, Städt. Klinikum München und nicht wie abgedruckt von Herrn Dr. Hallbach verfasst worden.

Wir bitten um Entschuldigung und Danken für Ihr Verständnis.



GESCHÄFTSSTELLE DER DGKL
FRIESDORFERSTR. 153
53175 BONN
TEL: 0228 92 68 95 17

☐ ANTRAG AUF MITGLIEDSCHAFT

☐ ÄNDERUNG DER ANSCHRIFT

MITGLIEDS-Nr.: _____

NAME: _____

VORNAME (ausgeschrieben): _____

GEBURTSDATUM: _____

TITEL: _____
(Prof., PD, Dr., Dipl., akademische Titel bitte vollständig eintragen!)

Dienstanschrift:
INSTITUT/KLINIK/FIRMA _____

ABTEILUNG: _____

STRASSE, HAUS-Nr.: _____

POSTLEITZAHL, ORT: _____

BUNDESLAND: _____

TELEFON / TELEFAX: _____

E-MAIL / INTERNET: _____

Zum Nachweis meiner Tätigkeit in der Klinischen Chemie und Laboratoriumsdiagnostik füge ich meinen **Lebenslauf** mit wissenschaftlichem Werdegang (ggf. **Publikationsliste**) bei.

Datum

Unterschrift

Ich möchte folgender **DGKL-Sektion** beitreten: (Informationen auf www.dgkl.de, „Sektionen“)

Der Antrag wird befürwortet von den ordentlichen Mitgliedern:

1.

Name

Datum

Unterschrift
2.

Name

Datum

Unterschrift