

# Neue Entwicklungen in der Laboratoriumsmedizin – quo vadis?

**Professor Dr. med. Joachim Thiery**

**Universitätsklinikum Leipzig**

**VDGH, Berlin, 31.1.2013**



## Produktlebenszyklus in der Labormedizin

Anforderungen an die moderne Labordiagnostik

Multiparameteranalytik des Metabololms

Herausforderung der Zukunft: Systemdiagnostik

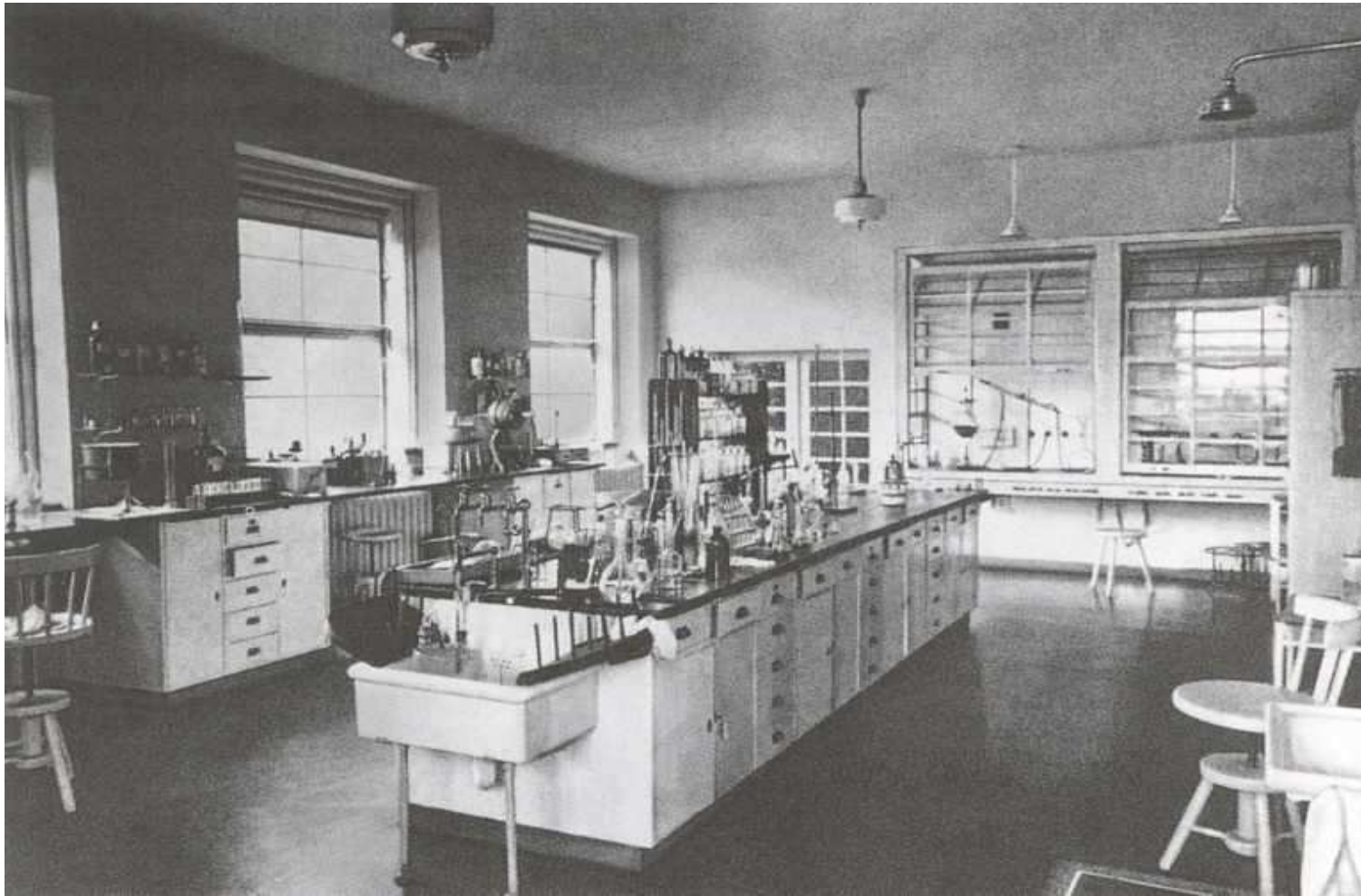


Cosmas und Damian

Urinschau als Labordiagnostik



# Labormedizin 1930: hohe Fachexpertise, viel Personal, wenige Laborparameter





# Produktlebenszyklus labordiagnostischer Technologie

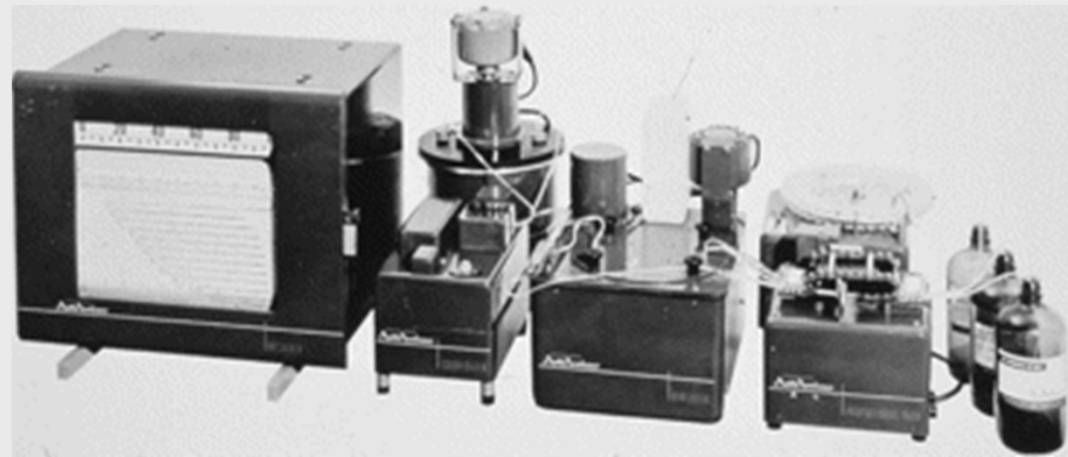
Research  
and development

1957

medical  
and  
scientific  
adoption

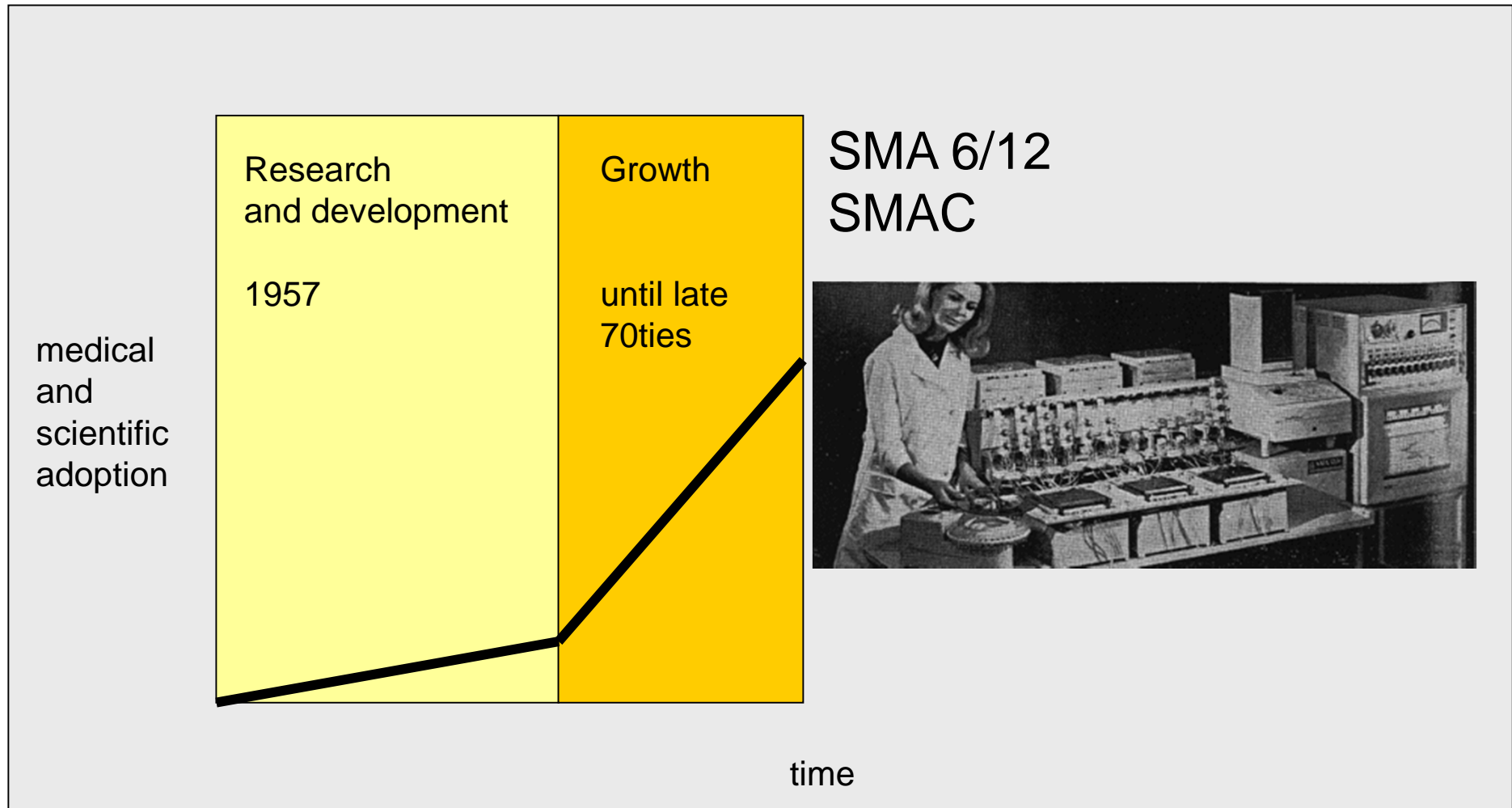
First autoanalyzer  
in laboratory medicine

Continuous flow-system developed by  
Leonard T Skeggs

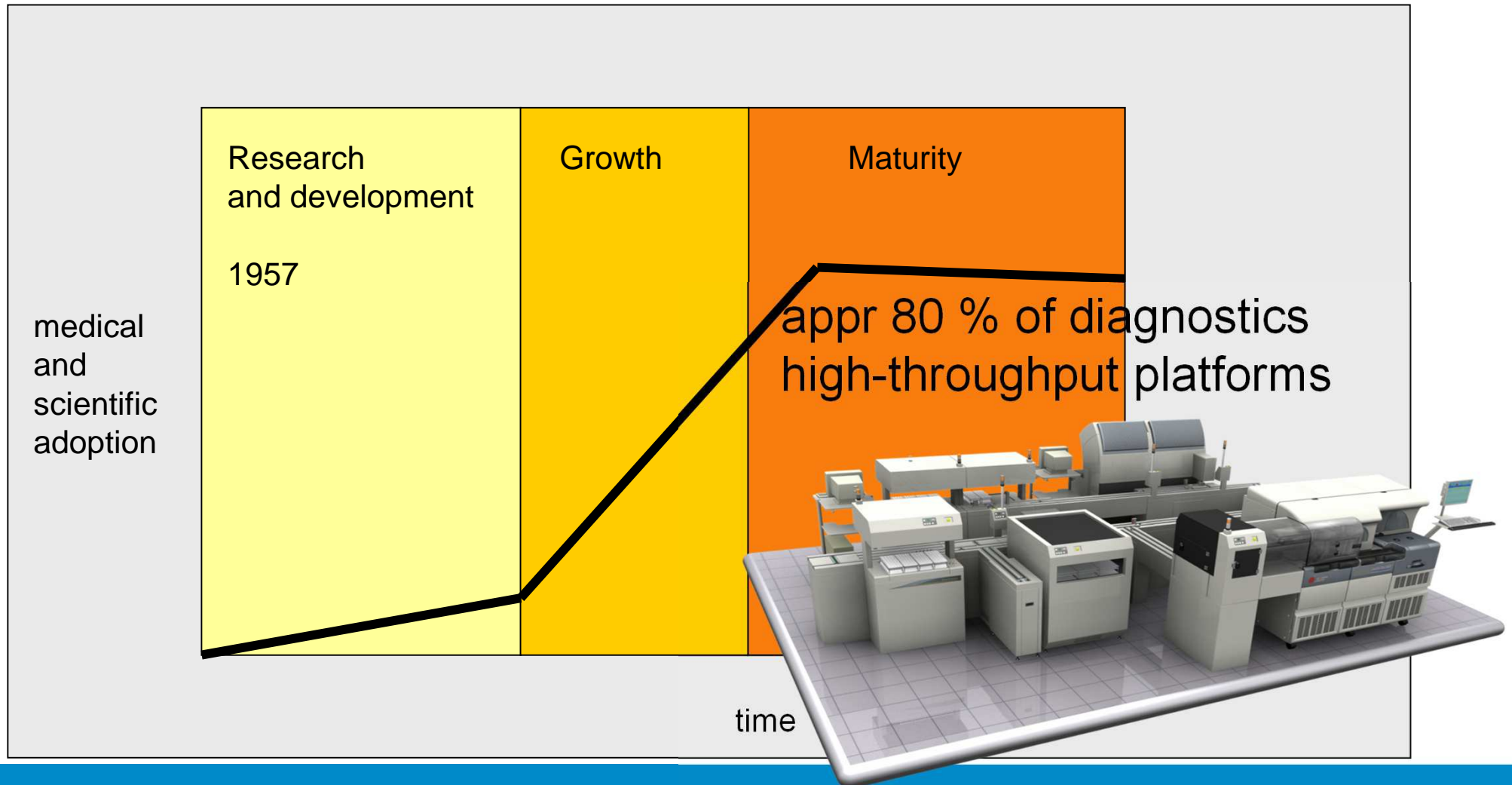


time

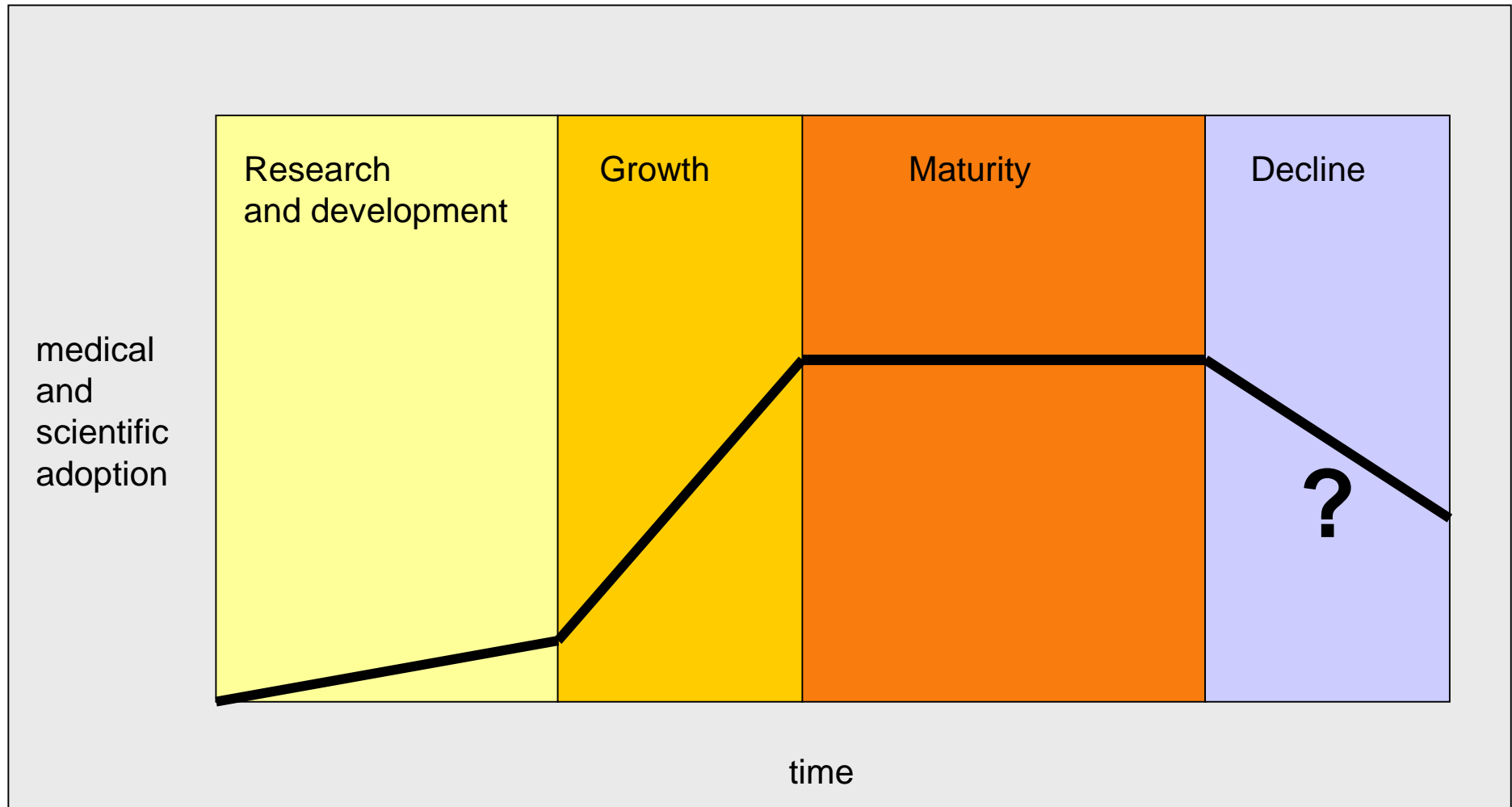
# Produktlebenszyklus labordiagnostischer Technologie



# Produktlebenszyklus labordiagnostischer Technologie

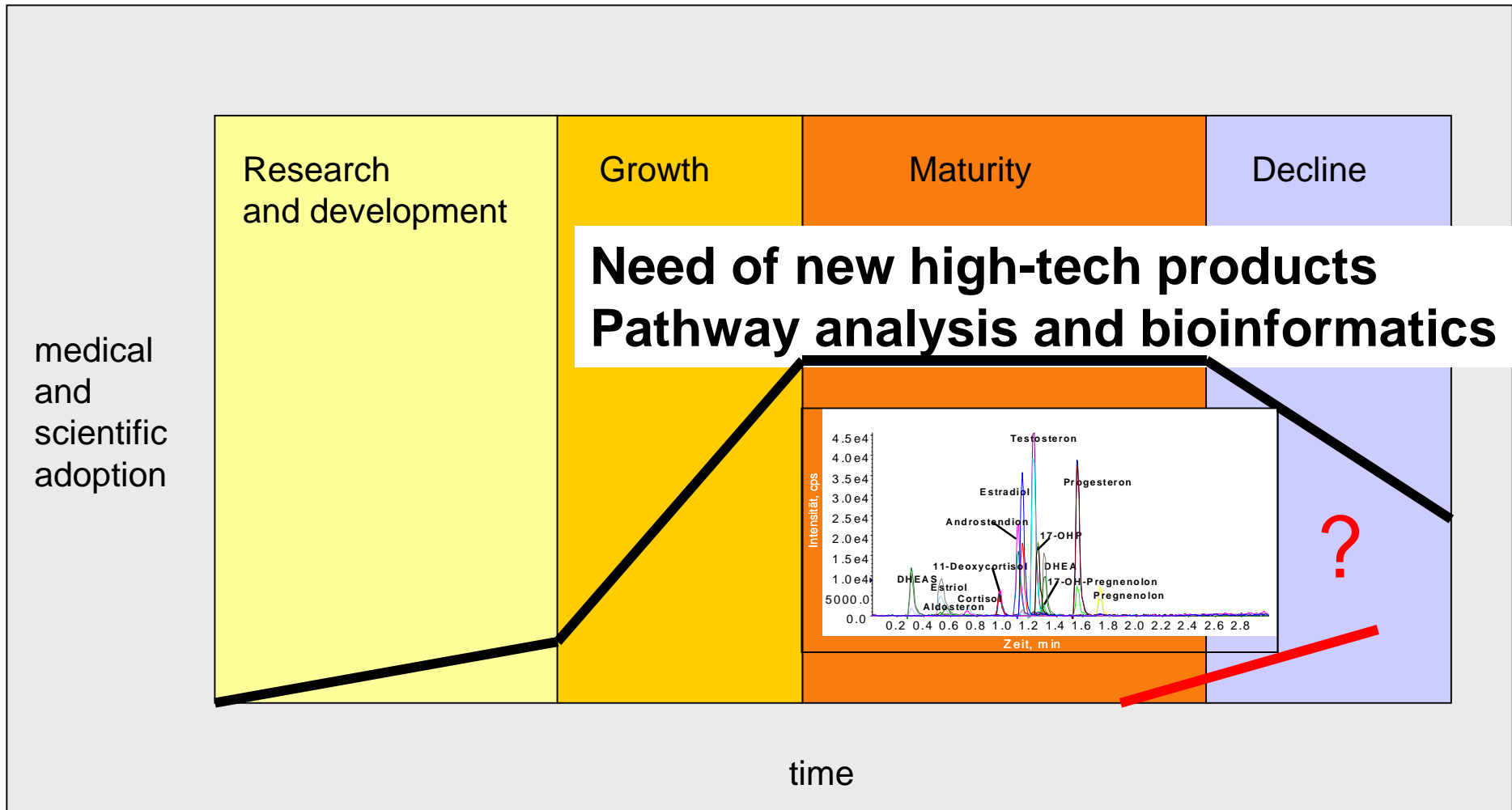


# Produktlebenszyklus labordiagnostischer Technologie





# Produktlebenszyklus labordiagnostischer Technologie



Produktlebenszyklus in der Labormedizin

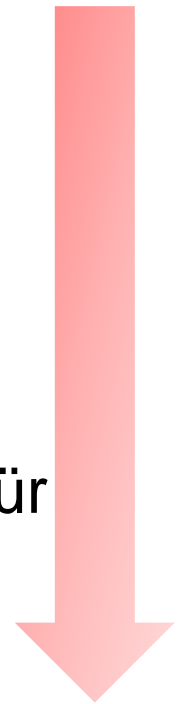
Anforderungen an die moderne Labordiagnostik

Multiparameteranalytik des Metabololms

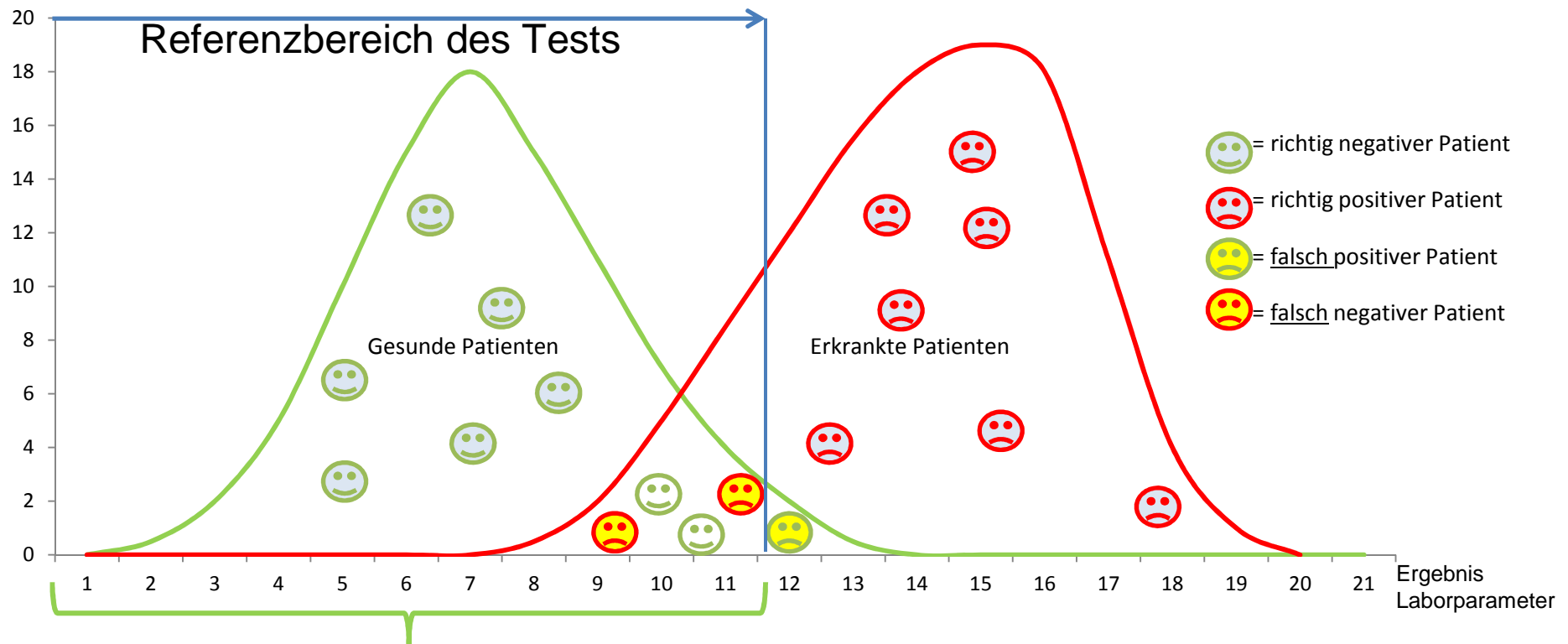
Herausforderung der Zukunft: Systemdiagnostik

# Was soll die moderne labormedizinische Diagnostik leisten?

- Optimale Verfügbarkeit labormedizinischer Diagnostik (24h/7d pro Woche)
- Beschleunigung der Diagnostik
- Verlässliche Therapiekontrolle
- Vereinfachung der Diagnostik mit geringerer Belastung für den Patienten
- Hohe Wirtschaftlichkeit
- Sicherer Ausschluss von Erkrankungen
- Sichere Diagnose von Erkrankungen



# Grenzen der automatisierten Diagnostik



## Zahlreiche Einflüsse durch:

- Alter / Geschlecht / Herkunft
- Lebensgewohnheiten
- Patientenvorbereitung
- Probenentnahme und –transport

- Analyseverfahren
- Diagnoseindikation  
(Such- oder Bestätigungstest)

...



# Patienten und krankheitsorientierte Befundung am Beispiel MELD-Diagnostik (Model of End-Stage Liver Disease)

- Formel bestehend aus 3 labormedizinischen Parametern:  
Kreatinin, Bilirubin, INR
- Verlässlicher, gut evaluierter, objektiver Prädiktor der 3-Monats-Mortalität bei verschiedenen chronischen Lebererkrankungen
- Einführung 2006 zur Priorisierung und Senkung der Mortalität auf der Warteliste für Lebertransplantation



# Patienten und krankheitsorientierte Befundung am Beispiel MELD-Diagnostik

Untersuchung	Ergebnis		Vorwerte				Referenzbereich	Einheit
MELD Score (berechnet)	24							
Kreatinin (enzymatisch)	74.0		67.0	26.10.12	63.0	23.10.12	59 - 104	µmol/l
Bilirubin, gesamt	23.1	+	17.7+	26.10.12	22.1+	23.10.12	< 17.1	µmol/l
INR	1.3		1.3	26.10.12	1.2	23.10.12		
Quick-Wert (TPZ)	70		70	26.10.12	79	23.10.12	> 70	%
Hämodialyse in der letzten Woche mind. zweimal	ja						siehe Text	



Untersuchung	Ergebnis		Vorwerte				Referenzbereich	Einheit
MELD Score (berechnet)	11							
Kreatinin (enzymatisch)	74.0		67.0	26.10.12	63.0	23.10.12	59 - 104	µmol/l
Bilirubin, gesamt	23.1	+	17.7+	26.10.12	22.1+	23.10.12	< 17.1	µmol/l
INR	1.3		1.3	26.10.12	1.2	23.10.12		
Quick-Wert (TPZ)	70		70	26.10.12	79	23.10.12	> 70	%
Hämodialyse in der letzten Woche mind. zweimal	nein						siehe Text	

# Herausforderung: Medizinische Validierung in der postanalytischen Phase

8430 Serum, 8432 10012013, 8433 0943, Befundart: V: Frythrozyten 4.18 (--)  
 4.5 - 5.9], weitere Informationen: 8428 E, 8429 02, 8430 EDTA-Blut, Befund:  
 Labor-Ident: 20200110012013, 8433 0943, Befundart: V: γ-GT 1.99 (++) u  
 Auftragsnummer: 9010790202  
 Eingangsdatum: 21.01.13  
 Ausgangsdatum: 21.01.13

Befundart: Endbefund  
 BILID 0.05 mg/dl  
 KRFA 1.26 mg/dl  
 QUICK 62 s  
 INR 1.22 kA  
 GFR 50 ml/min/1.73  
 ab 40  
 Joderat v Klartext  
 Zur weite  
 Cystatin

+ (Normalwert: 0.05-0.15)  
 + (Normalwert: 1.2-1.8)  
 - (Normalwert: 60-80)  
 + (Normalwert: 1.0-1.3)  
 - (Normalwert: 0.8-1.2)

Test	Einheit	26.09 2012	15.10 2012	22.11 2012	04.12 2012	18.12 2012
HbA1c IFCC	mmol/m					
Thrombozyten	Gpt/l	42	44	45		
MCH	%	0.34	0.35	0.36		
MCV	f1	1.99	2.00	1.98	41	
Hämoglobin	mmol/l	95.3	97.7	96.7	0.33	
Erythrozyten	Tpt/l	7.2	7.1	7.3	2.01	
MCHC	mmol/l	3.61	3.55	3.68	98.2	
Leukozyten	Gpt/l	20.9	20.5	20.5	6.8	
		2.84	2.70	3.10	3.38	

Klinische Angaben:  
 Glomeruläre Filtrationsrate  
 berechnet nach CKD-EPI-Formel  
 Kreatinin  
 GFR (ml/min)  
 59  
 60 - 89  
 30 - 59  
 15 - 29  
 < 15

Stadium der Nierenschädigung (GFR)  
 I normal GFR  
 II gering verminderte GFR  
 III mäßig verminderte GFR  
 IV stark verminderte GFR  
 V Dialyseverfahren

Natrium  
 Kalium  
 ASAT  
 ALAT  
 γ-GT  
 TSH-basal (hochsensitiv)

Blutbild  
 Leukozyten  
 Erythrozyten  
 Hämoglobin  
 Hämatokrit

85 III /  
 61  
 < 80 ) umol/l  
 ml/min/1.73  
 (135 - 145 ) mmol/l  
 (3.8 - 5.1 ) mmol/l  
 < 0.60 ) umol/l  
 < 0.65 ) umol/l  
 (0.25 - 4.00 ) mU/l  
 142.6  
 4.09  
 0.98 III  
 0.85 III  
 1.09 III  
 1.72  
 0.2 - 0.4 mU/l  
 1.5 - 4.0 mU/l  
 2.4 III (4.4 - 11.3 ) Gpt/l  
 4.20 (4.1 - 5.1 ) Tpt/l  
 7.2 III (7.6 - 9.5 ) mmol/l  
 0.359 III (0.37 - 0.47 ) f1  
 85.3 (80 - 96 ) f1  
 1.71 (1.7 - 2.2 ) mmol/l  
 20.1 (20 - 22 ) Gpt/l  
 52 III (150 - 450 ) f1  
 0 - 1  
 2 - 4  
 42 - 75  
 25 - 40  
 3 - 14

Produktlebenszyklus in der Labormedizin

Anforderungen an die moderne Labordiagnostik

**Multiparameteranalytik des Metabololms**

Herausforderung der Zukunft: Systemdiagnostik



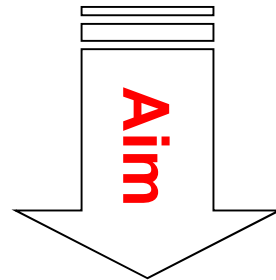
# Metabolome



- **Metabolome** refers to the complete set of small-molecule metabolites (such as metabolic intermediates, hormones and other signaling molecules, and secondary metabolites to be found within a biological sample)
- **Metabolomics:** Systematic investigation of small-molecule (<1500 Da) metabolite profiles.

# Metabolomics in Medicine

Investigation of low molecular weight substances (<1500 Da)



Unraveling and understanding of disease-related metabolic signatures in blood, cells and tissues fluids

Predisposition

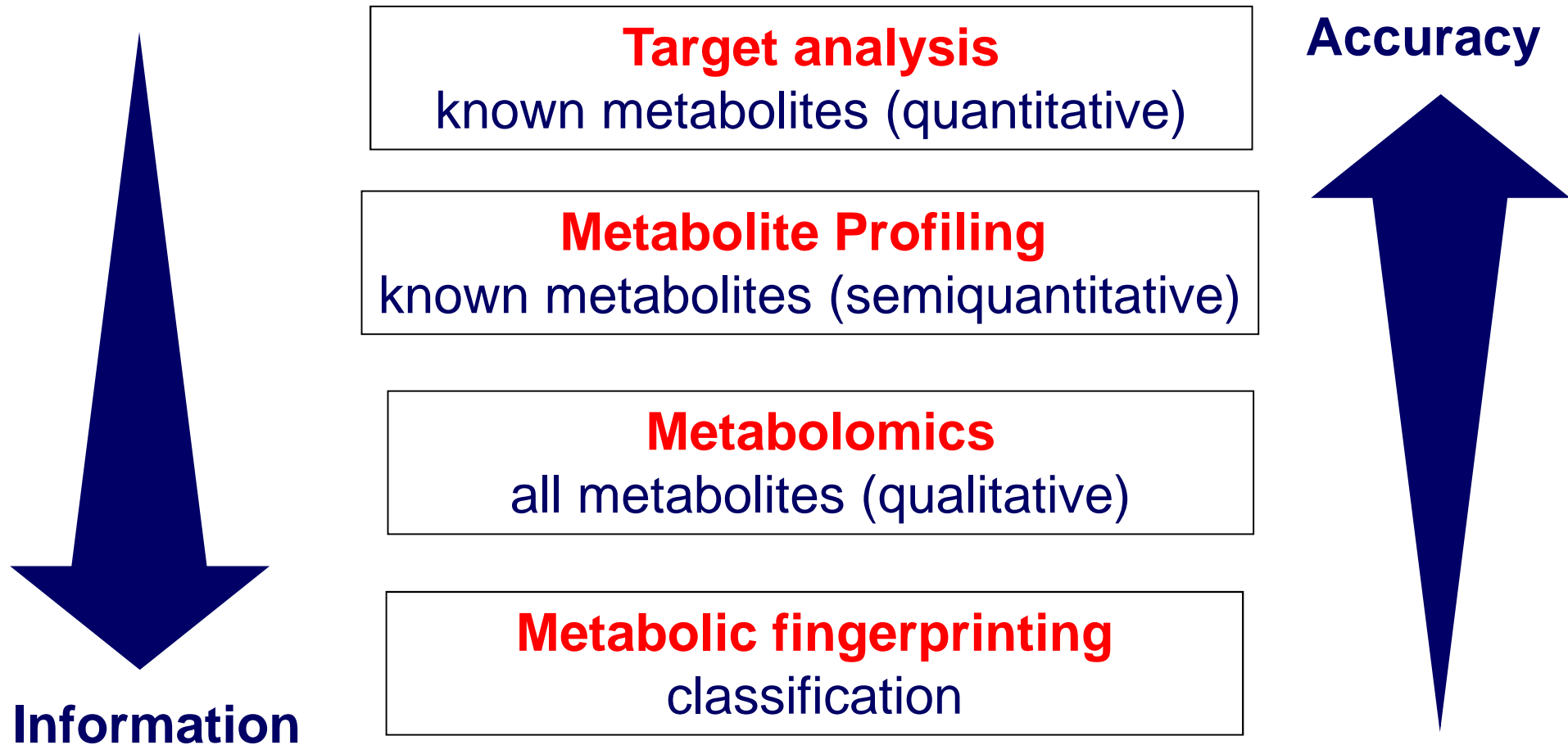
Prevention

Diagnosis

Therapy

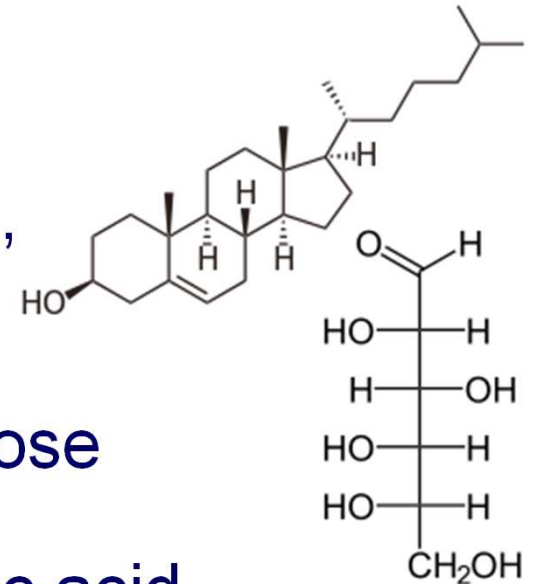
Challenge: Bioinformatics of multiparametric analysis

# Concepts for the study of metabolites and lipids using mass spectrometry



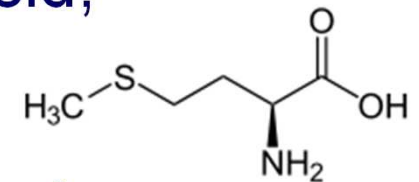
# Metabolite structures

**Lipids:** Sterols, Fatty acids, Phospholipids, Eicosanoids, Steroids, Vitamines

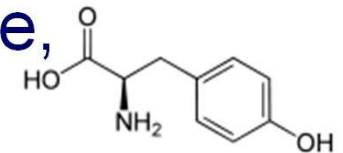


**Carbohydrate:** Glucose, Maltose, Lactose, Ribose

**Organic Acids:** Lactat, Pyruvat, Maleat, Glutaric acid, Succinat....

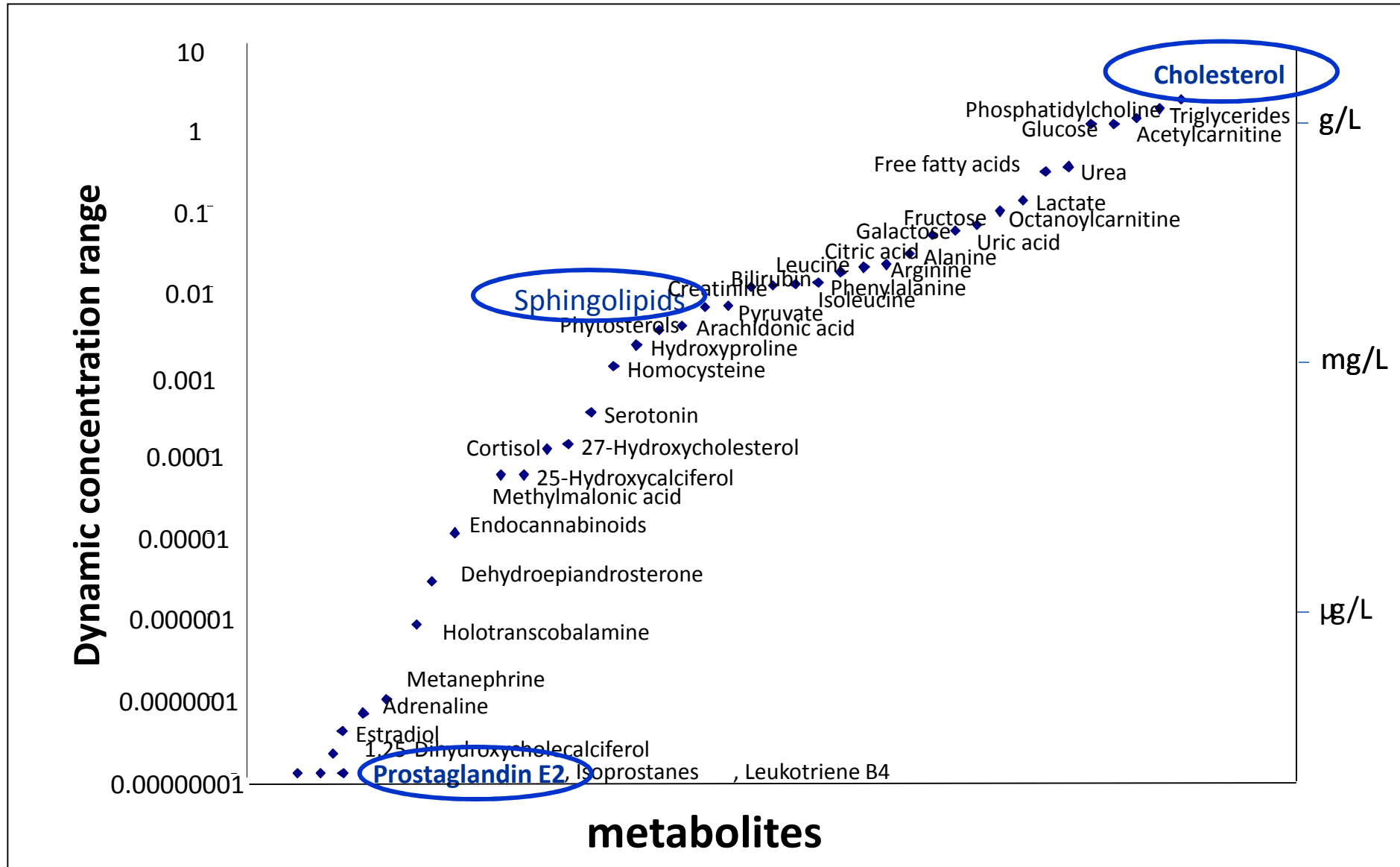


**Aminosäuren:** Alanine, Leucine, Phenlyalanine, Lysine, Methionin, Tyrosin, Threonin.....



Various chemical structures and physical-chemical properties result in different präanalytical –and analytical requirements!

# Dynamic range of metabolites in plasma



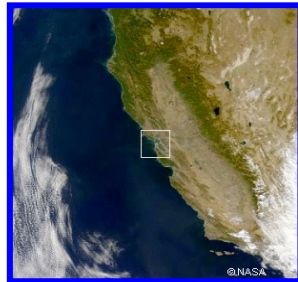
# High dynamic range of metabolite concentrations in blood

## Cholesterol

2 g/L



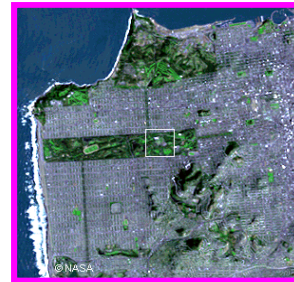
10



9



8



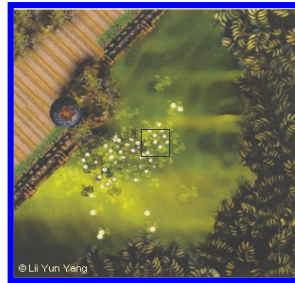
7



6



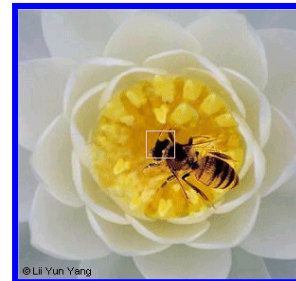
5



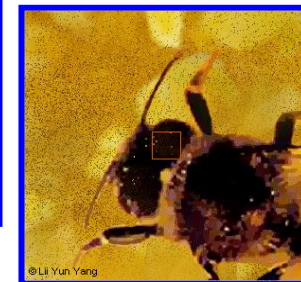
4



3



2

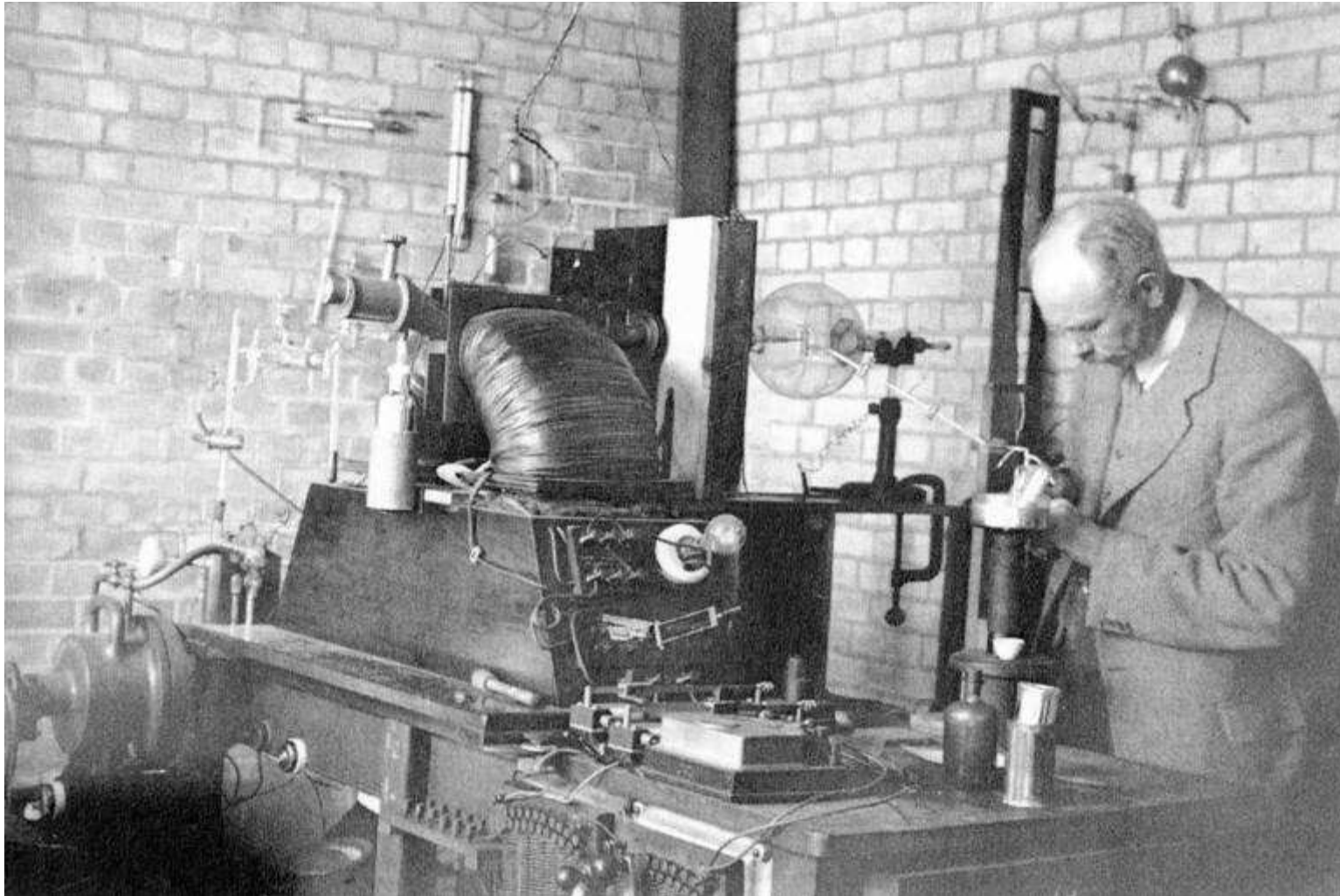


1

**PGE2**  
**40 pg/L**



# Investigations of molecular structures 1921



Massenspektrometer von Francis William Aston 1921, University of Cavendish  
(Watson JT, Sparkman OD Introduction to Mass Spectrometry, Wiley 2007)

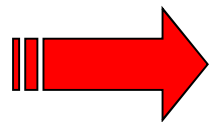


# Mass spectrometric metabolome analysis Leipzig 2012

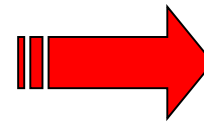
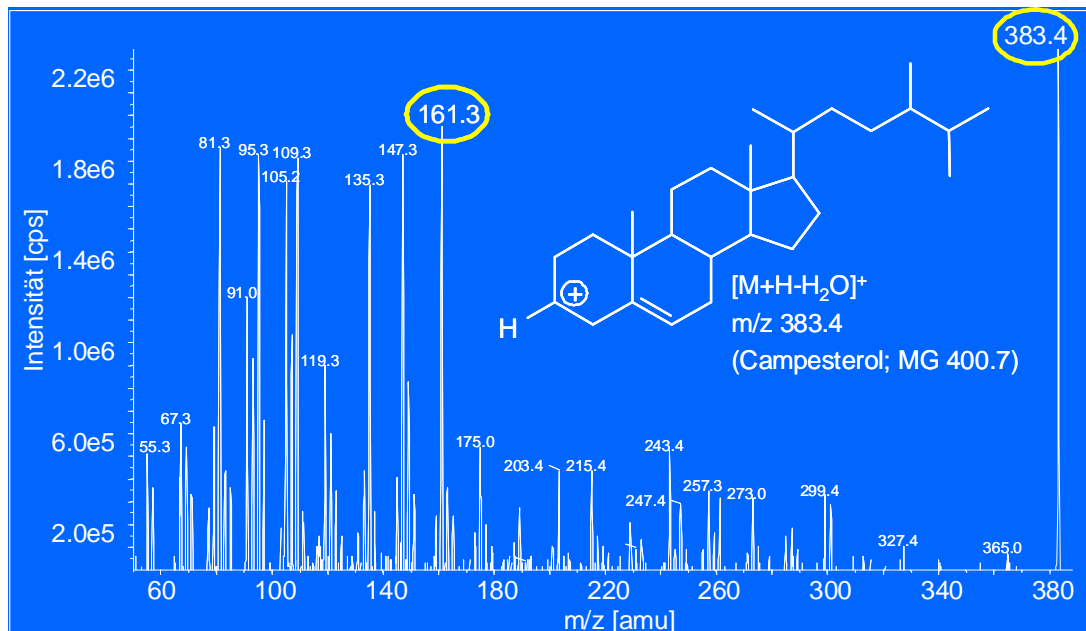


# What is mass spectrometry?

Mass spectrometry (MS) is an analytical technique that measures the mass-to-charge ratio of charged particles in an electro-magnetic field.



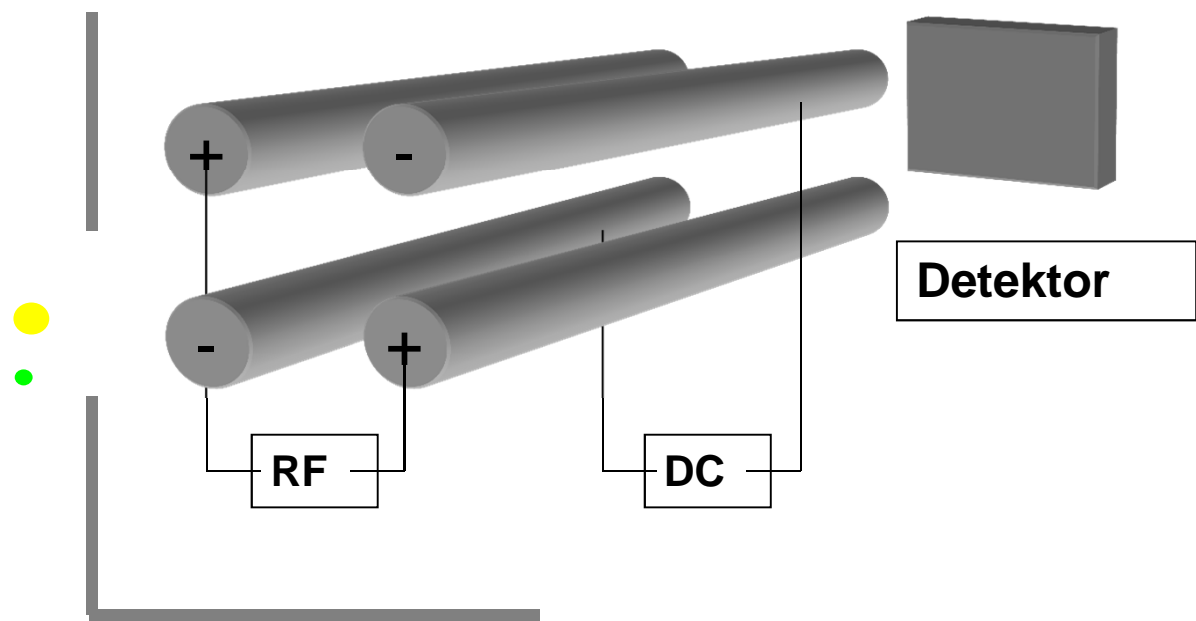
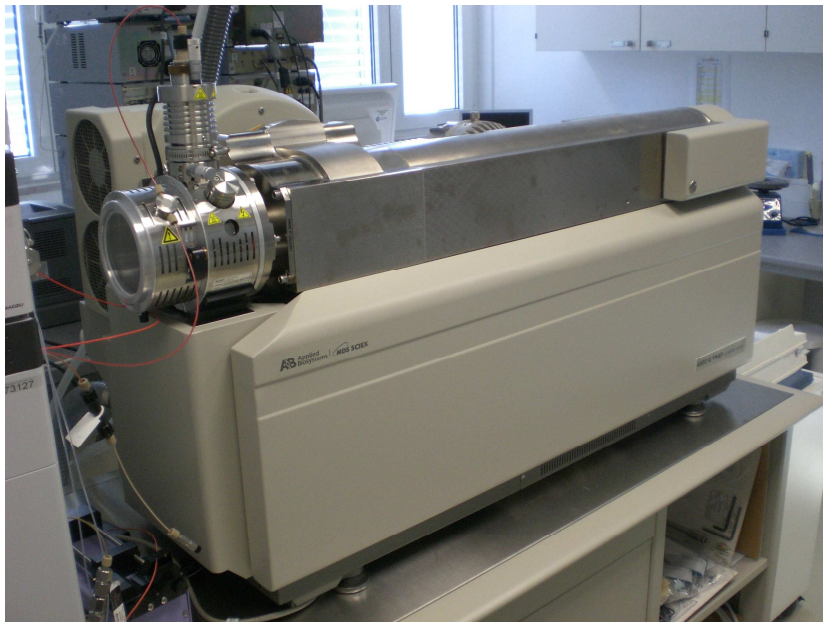
electronical weighting of molecules



Analysis of the molecule structure!

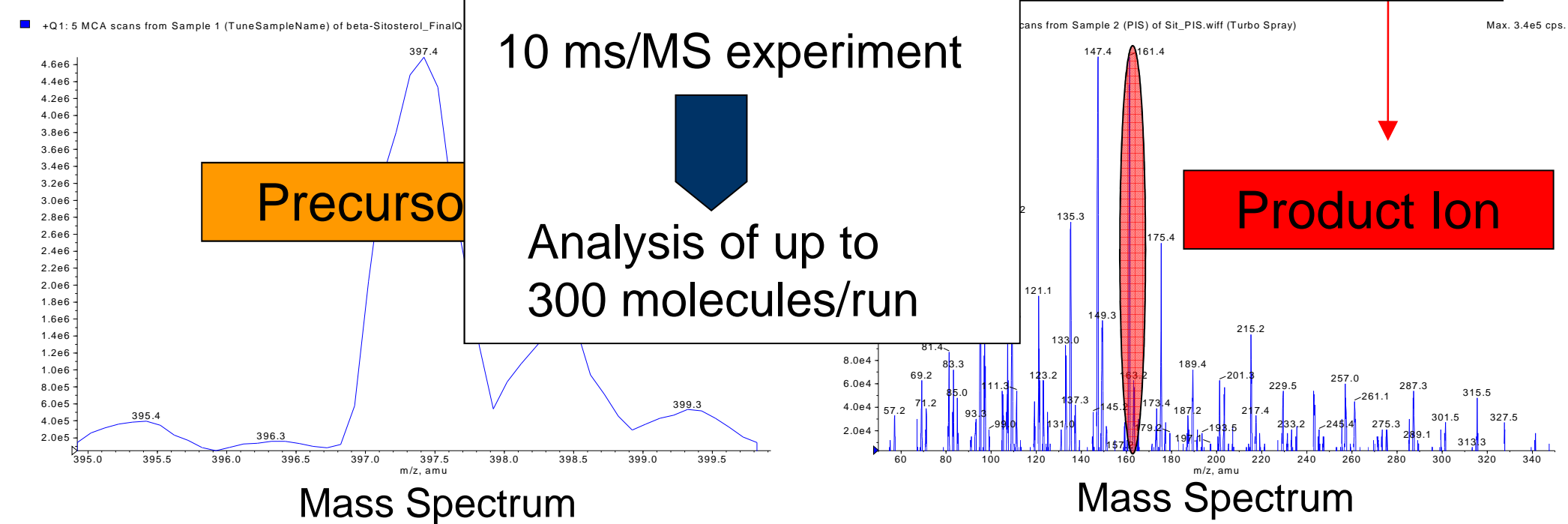
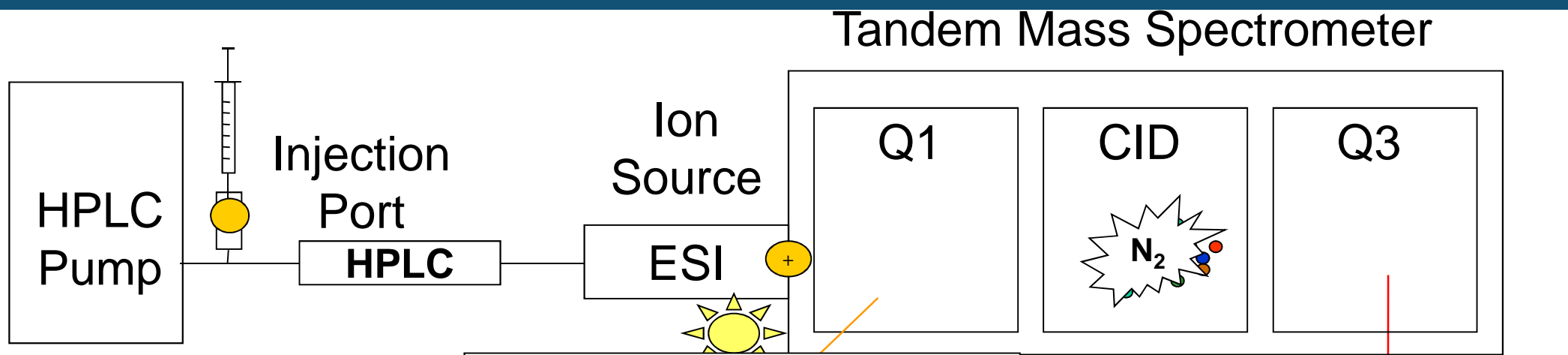
# Principle of Quadrupole-Mass Spectrometry

A quadrupole mass analyzer acts as a mass-selective filter. Ions are separated based on the stability of their trajectories in the oscillating electric fields that are applied to the rods.

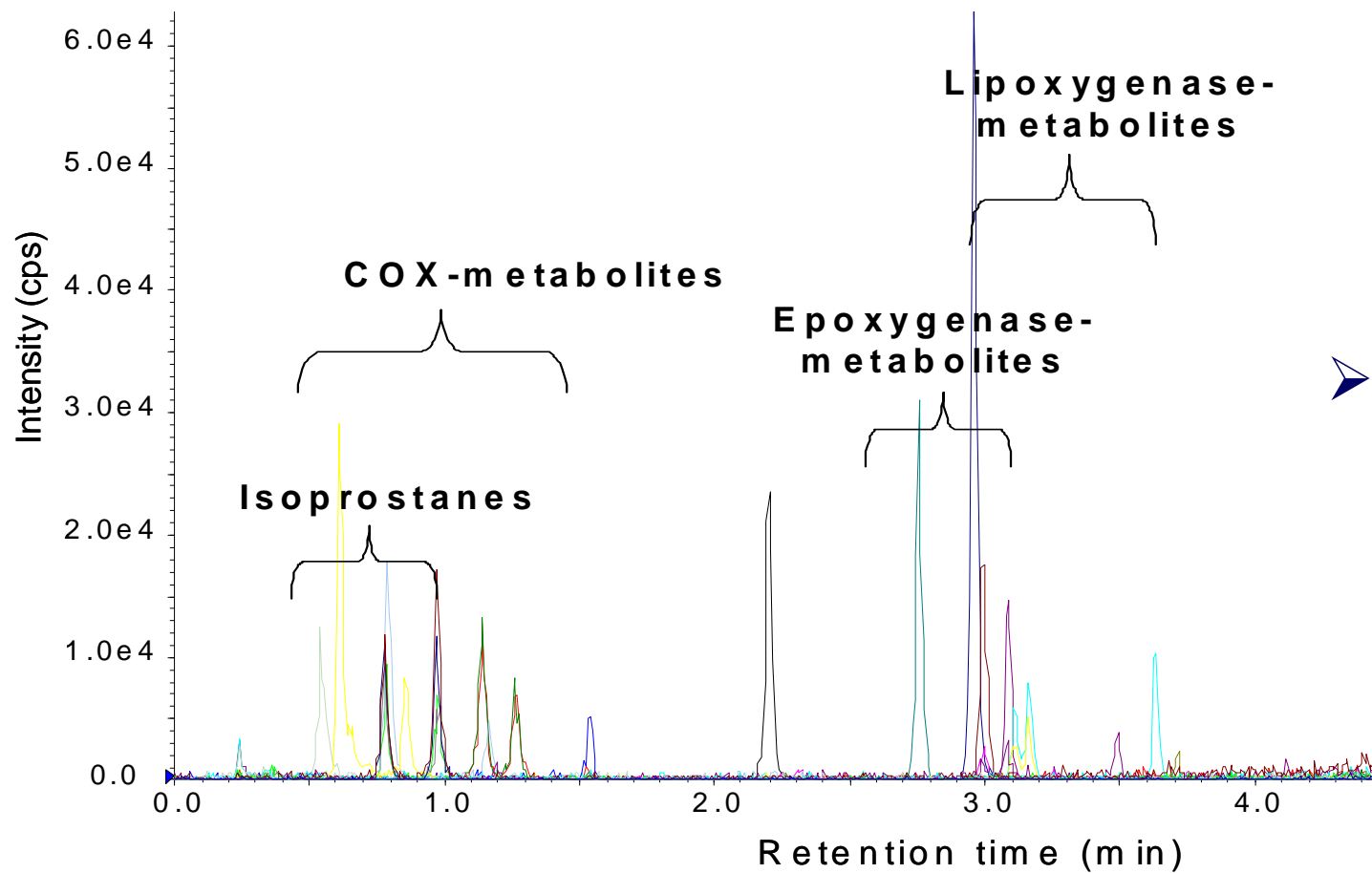


**Advantage Quadrupol MS: Signal intensity  $\sim$  concentration**

# Principle of Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry



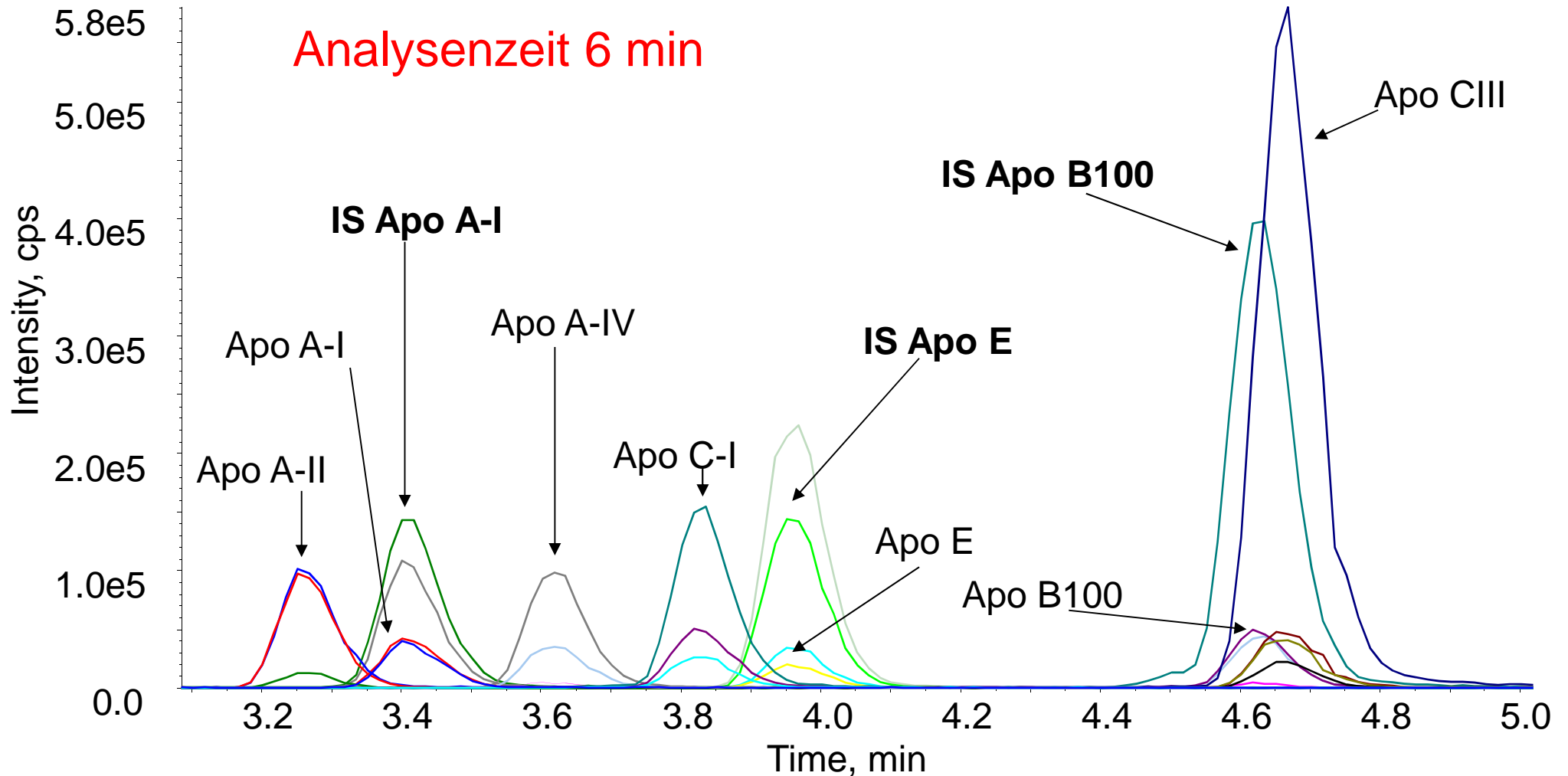
# MS/MS-Analytik von Eikosanoiden mit Massenspektrometrie (Prostaglandine, Leukotriene, Isoprostane, etc)



**100 Metabolites  
(200 µl plasma)**

➤ **Analysenzeit 6 min**

# Quantitative Proteinanalytik im Serum mit Massenspektrometrie

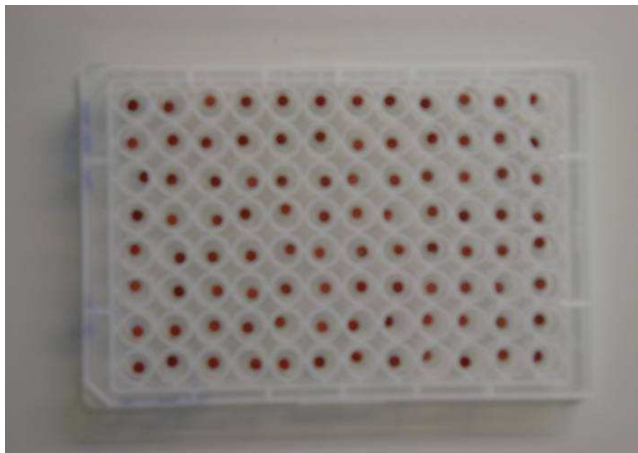




# Workflow for AS/AC Metabolite Profiling

**Example:**  
**Amino acids and acylcarnitines**  
**from 3 µl dried blood**

Sample pre-treatment → FIA-MS/MS analysis



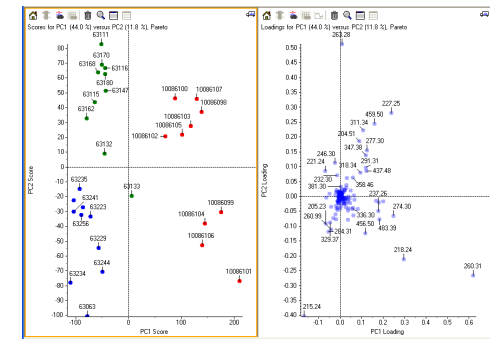
Derivatisation



MRM, PS-Scan, NL-Scan

Bioinformatics

MarkerView™

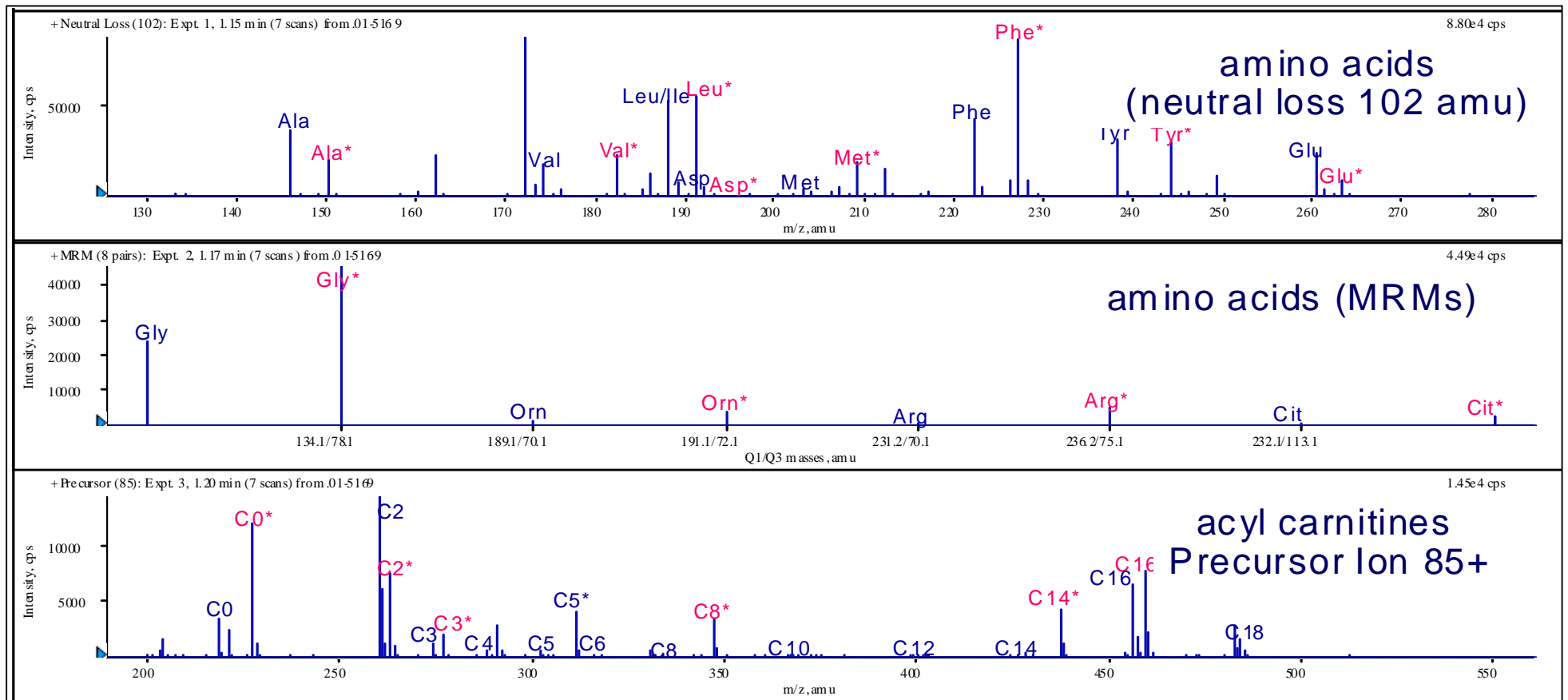


Quantification

ChemoView™

File Name	Failed Tests	Sample Type	Ala	Val	Leu/Ile	Met	Met/Pha	Pha
	99.5		686	347	418	371	1.40	963
	0.5		3	2	1	0.09	0.08	0.2
LCL of 'Unknown'			824	322	314	50	0.63	150
LW	Met, Met/Pha, Pha, Unknown		3	32	3	2	1.49	1
ACH	C/A, C0	Unknown	515	248	297	41	0.32	128
ASH	Met,	Unknown	228	86	79	118	0.43	983
KN	Val, Leu/Ile, C/A,	Unknown	601	323	335	31	0.43	71
050930-001	C/A	Unknown	202	142	176	17	0.35	48
050930-002	C14OH	Unknown	288	130	187	14	0.23	59
050930-003	Unknown	Unknown	315	112	187	31	0.48	65
050930-004	Met, C8/C10,	Unknown	230	182	182	59	0.56	89
050930-005	Unknown	Unknown	249	166	213	13	0.26	52
050930-006	Unknown	Unknown	201	167	242	34	0.41	84
050930-007	C4C8	Unknown	232	160	172	17	0.27	62
050930-008	C/A, C0, C4/C8	Unknown	244	106	90	10	0.21	48
050930-009	Gly	Unknown	430	135	194	14	0.20	67
050930-010	C/A	Unknown	163	89	108	14	0.31	46
050930-011	C3/C16, C16/C2	Unknown	229	66	145	15	0.35	43
050930-012	Unknown	Unknown	230	85	181	25	0.50	51
050930-013	C4/C8, C5/C8,	Unknown	178	70	143	25	0.54	47
050930-014	C4/C8, C5/C8,	Unknown	272	687	1756	21	0.21	100
050930-015	Pha/Tyr, Tyr,	Unknown	275	114	148	24	0.43	57
050930-016	Gly	Unknown	277	141	187	20	0.27	75
050930-017	C/A	Unknown	167	86	141	9	0.15	56
050930-018	C4/C8, C5/C8,	Unknown	319	151	193	25	0.38	65
050930-019	Unknown	Unknown	192	104	136	17	0.39	44
050930-020	Gly, C14	Unknown	418	189	205	21	0.22	94

# Mass spectrometric analysis of amino acids- and acylcarnitines in dried blood (3 $\mu$ l)



Ceglarek et al, MCE 2009



# Parameters of the MS/MS Profiling method

## 26 amino acids

alanine, valine, leucine/Isoleucine, methionine, phenylalanine, tyrosine, glutamate, proline, serine, threonine, tryptophan, glycine, ornithine, arginine, citrulline, proline, sarcosine, OH-proline, carnosine, glycine, lysine etc.

## free carnitine + 27 acylcarnitines

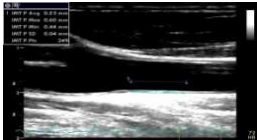
C0, C2, C3, C4, C5, C5:1, C5OH+HMG, C6, C8, C8:1, C10, C10:1, MMA, Glut, C12, MeGlut, C14, C14:1, C14OH, C16, C16:1, C16OH, C16:1OH, C18, C18:, C18OH, C18:1OH, C18:2OH



Leipzig Research Center for  
Civilization Diseases

## Leipzig Heart Study (Beutner F, et al. Thiery J, Plos ONE 2011)

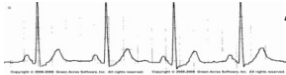
Carotid ultrasound



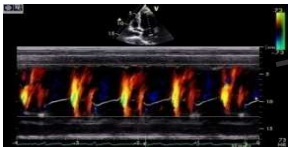
Angiography



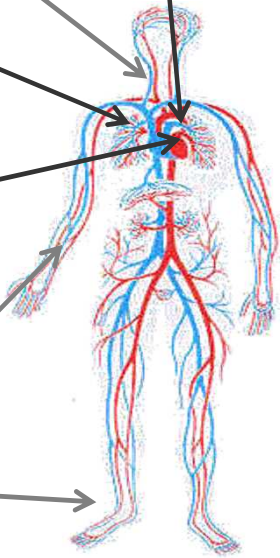
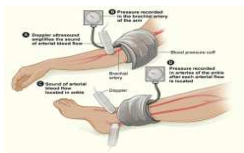
ECG/Stress test



Echocardiography



Ankle-brachial Index



# UNIVERSITÄT LEIPZIG

## Faculty of Medicine

## Biochemical Phenotyping Genotyping

Lipids and Biomarkers (n= 4038):  
e.g. nproBNP, hsTropT, hsCRP, Apo, sdLDL, sterols

Metabolom (n= 2660): AS, AC

GWA (n= 3036): Affymetrix Axiom  
CAD

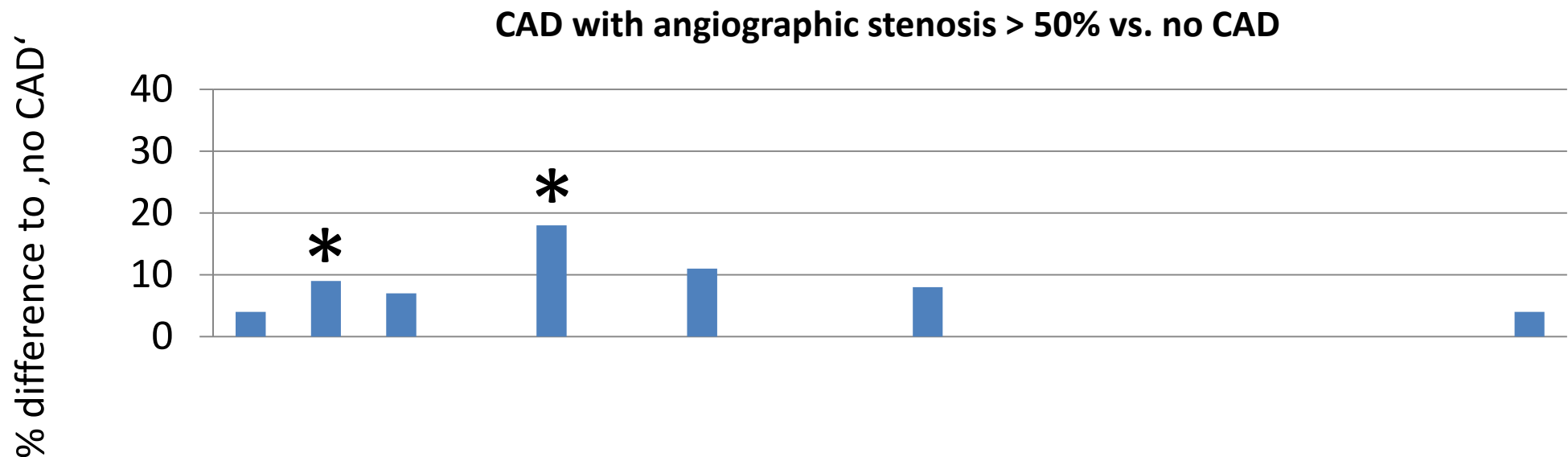
GWE (n= 3180): Illumina HT12

Statistical Analysis (finalization)



Leipzig Research Center for  
Civilization Diseases

## Metabolom – acylcarnitines and CAD



Bars indicates  $p < 0.05$ , \* Significance for multiple testing (Bonferroni)

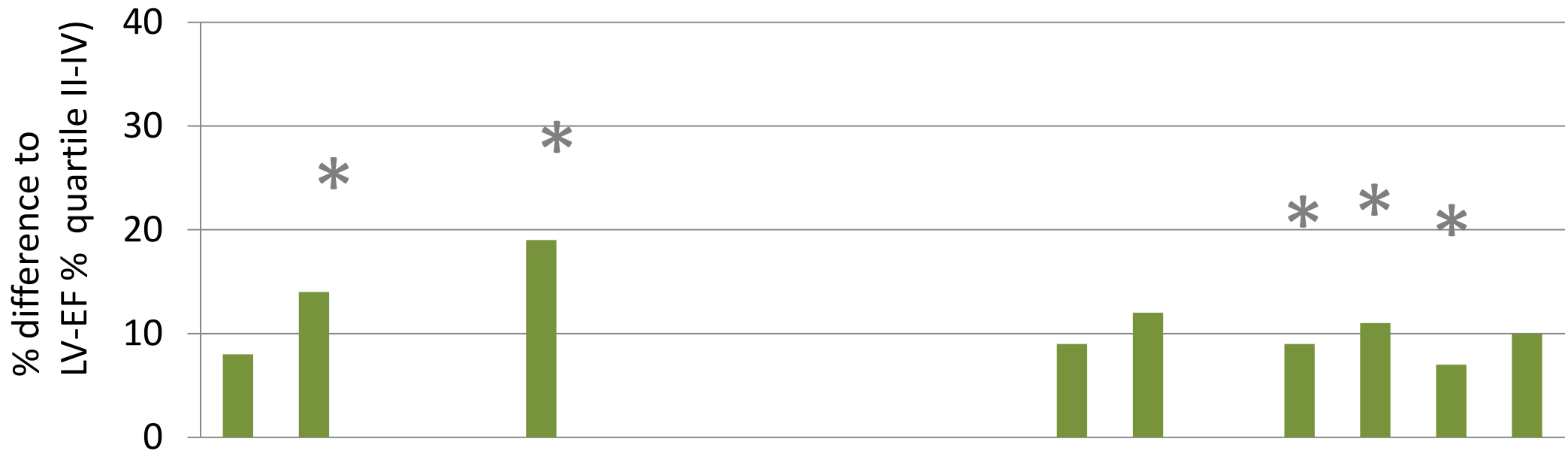
(unpublished data)



Leipzig Research Center for  
Civilization Diseases

## Metabolom – acylcarnitines and heart failure

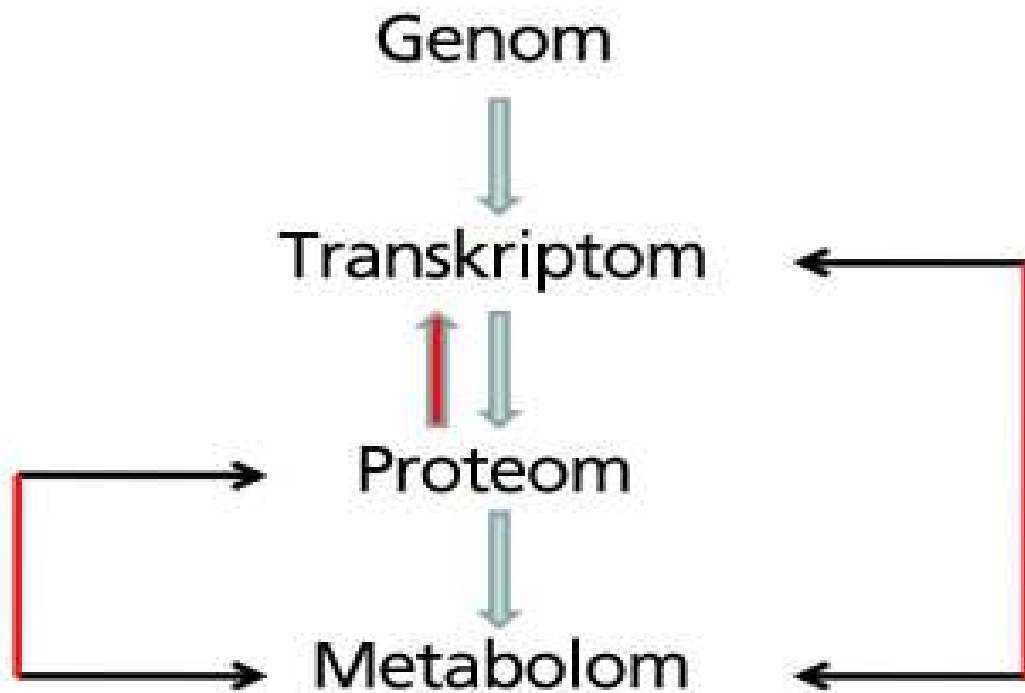
Heart failure: lowest quartile of EF% (EF  $43 \pm 16\%$ )



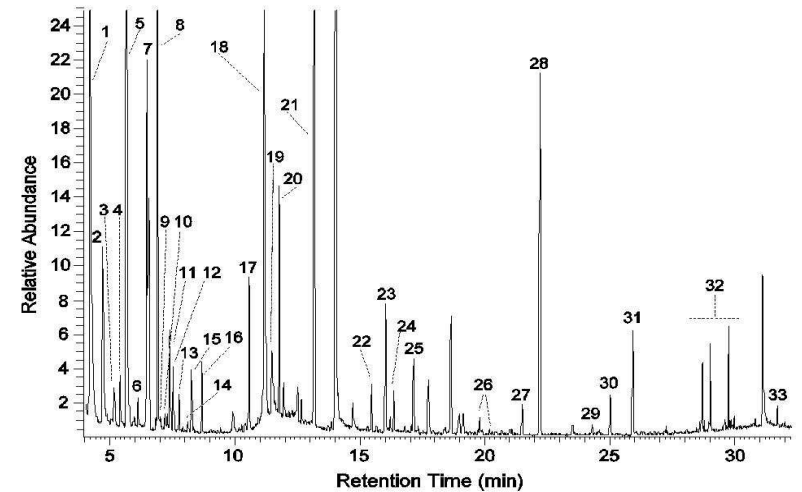
Bars indicates  $p < 0.05$ , \* Significance for multiple testing (Bonferroni)

(unpublished data)

# Metabolomic profiling



LC-MS/MS



# Metabolome applications Leipzig

Analyte class	Analytes	Pathway	Sample volume	concentration range
<b>Sterols</b>	Cholesterol		10 µL serum,	1.5 - 3 g/L
	Lanosterol, Desmosterol	cholesterol synthesis	4.5 µl dried whole blood,	0.1 - 0.5 mg/L
	Brassica-Campe, -Sito and Stigmasterol	cholesterol resorption	tissue, plaque	0.2 - 10 mg/L
<b>Cholesterol ester</b>	CE C14:0-C22:6	lipoprotein metabolism	10 µL serum	30 - 3000 mg/L
<b>Steroids</b>	DHEAS, Testosterone, Cortisol, 17-OHP	steroid metabolism	100 µL serum, sputum	0.4-350 ng/L
	Aldosterone, Estradiol, Progesterone	steroid metabolism		
<b>Oxysterols</b>	7-Ketocholesterol, 7-OH Cholestriol, Epoxycholesterol, Trihydroxycholestane	oxidative stress	80 µL plasma	2 - 25 µg/L
<b>Sphingolipids</b>	Sphingosines, Spinganines, Sphinganin-and Sphingosin1-Phosphate	sphingolipid- metabolism	50 µL plasma	5 - 300 µg/L
<b>Phospholipids</b>	Phosphatidylcholines	Phospholipids	50 µL plasma	LPC: 0.08 - 1.5 mg/L
	Lysophosphatidylcholines			PC: 0.78 - 2.5 mg/L
<b>Endocannabinoids</b>	AEA, PEA, 1-AG, 2-AG, OEA		50 µL plasma	0.2 - 7 µg/L
<b>Amino acids</b>	Ala, Val, Ile/Leu, Met, Tyr, GLU, Gly Arg, Cit, Tryp, His, (26 AA)	amino acid metabolism	3 µl dried whole blood 10 µl serum	0.5 - 50 mg/L
<b>Acylcarnitine</b>	free carnitine, total carnitines	carnitine shuttle		0.03 - 25 mg/L
	Acylcarnitine C3-C18:2OH	fatty acid oxidation		
<b>Eicosanoids</b>	Prostaglandines, Leukotrienes, HETEs Isoporstanes, PUFAs	COX, OX, EOX oxidative stress	200 µl plasma, urine	0.1-1000 ng/L

Produktlebenszyklus in der Labormedizin

Anforderungen an die moderne Labordiagnostik

Multiparameteranalytik des Metabololms

Herausforderung der Zukunft: Systemdiagnostik

# Labormedizinische Zukunftstechnologie

- Routinelaboruntersuchungen werden miniaturisiert und konsolidiert (Biosensoren, LabOnChip, Vernetzung)
- Reagenzienunabhängigkeit im Bereich Massenspektrometrie und NMR-Technologie (Metabolite und Proteine)
- Multiparametrische Testsysteme mit bioinformatischer Analytik
- Dreidimensionale Bildgebung in der Zelldiagnostik
- Molekulare Funktionsanalytik des Blutes
- Genomische Analytik (microRNA, eCHIP Technologien, NGS)



# Systemdiagnostik der Labormedizin

- Systemanalytik von Stoffwechsel, Entzündung und Zellzyklus
- Personalisierung der labormedizinischen Diagnostik

# Voraussetzung für Systemdiagnostik

- Labormedizinisch ausgerichtete Bioinformatik
- Biobanken als Referenz für Krankheiten
- Kompetenzzentren moderner Laboranalytik
- Wissenschaftliche Schwerpunktforschung zu labormedizinisch diagnostizierbaren Erkrankungen (zB Stoffwechsel, Entzündung, Tumor, Elektrolythaushalt, Gerinnung, Hämatologie, Hormone)
- Labormedizinische Kompetenz in der Beratung



## Zusammenfassung

1. Weitgehende Automatisierung und Vernetzung analytischer Prozesse hochstandardisierter Methoden sind erreicht
2. Bedarf an labormedizinischer Fachkompetenz in der prä- und postanalytischen Phase der medizinischen Befundung steigt
3. Optimierung einer zielgenauen Diagnostik durch Einbindung neuer Technologien der Stoffwechsel- und Proteinanalytik
4. Labormedizinische Zukunftstechnologien mit Einbindung einer Medizinischen Biobank für eine Systemdiagnostik in der Labormedizin

# The Future?

Here's my  
sequence ...



Source: *New Yorker*

**Personalized Medicine**

# Thank you for your attention!

[www.life.uni-leipzig.de](http://www.life.uni-leipzig.de)

[thiery@medizin.uni-leipzig.de](mailto:thiery@medizin.uni-leipzig.de)

