

Massenspektrometrie: Gamechanger der Labordiagnostik?

Die Massenspektrometrie hat sich seit einigen Jahren zu einem unverzichtbaren Werkzeug der modernen Labormedizin entwickelt.

Die Fähigkeit, Moleküle mit hoher Präzision zu identifizieren und zu quantifizieren, eröffnet eine Vielzahl diagnostischer Möglichkeiten. Welche klinische Relevanz der Methode zufällt und wie sich neue Technologien in praktische Anwendungen umsetzen lassen erläutert Prof. Dr. Michael Vogeser vom Institut der Laboratoriumsmedizin des LMU Klinikums München.

Dr. Jutta Jessen, Weinheim



Prof. Dr. Michael Vogeser

M&K: Welche diagnostischen Fragestellungen lassen sich mit der Massenspektrometrie beantworten und welche Krankheitsbilder profitieren besonders vom Einsatz dieser Technologie?

Prof. Dr. Michael Vogeser: Die in der Labormedizin im Bereich der Klinischen Chemie heute am weitesten verwendete Technologie ist die Flüssigkeitschromatographie-Tandem-Massenspektrometrie (LC-MS/MS). Sie ist besonders gut dafür geeignet, „kleine Moleküle“ (das heißt unter einem Atomgewicht von etwa 1.500) in diagnostischen Proben zuverlässig zu quantifizieren. Dazu gehören zum einen endogene Biomarker verschiedenster Stoffwechselwege (wie Hormone), zum anderen Substanzen, die von außerhalb in den Körper gelangen, die Xenobiotika. Die potentiellen Anwendungsbereiche sind damit sehr breit und betreffen einen großen Teil der Medizin; insbesondere die klinische Pharmakologie kann durch die Messung von Arzneimittelspiegeln und angepasster Dosis-Individualisierung potentiell sehr stark von der MS profitieren. Die qualitative Analyse von Peptiden und Proteinen mit Hilfe der Flugzeit-Massenspektrometrie (TOF) besitzt inzwischen eine essentielle Bedeutung in der mikrobiologischen Diagnostik zur Identifikation von Erregern.

Ein gutes Beispiel für echten Zusatznutzen der Massenspektrometrie in der Diagnostik ist die Messung von Methylmalonsäure, MMA. Das ist der anerkannte Goldstandard für die Erfassung eines funktionellen Vitamin B12-Mangels, bei dem es zu erhöhten MMA-Konzentrationen in Blut und Urin kommt. Das Molekül ist so klein und so niedrig konzentriert, dass alleine massenspektrometrische Techniken zur Messung eingesetzt werden können. Aufgrund der bislang stark begrenzten Verfügbarkeit der MS in Routinelabors führt die MMA bislang quasi ein Schattendasein, obwohl sie diagnostisch der Vitamin B12-Messung mittels vollautomatisierter Ligandenassays klar überlegen ist.

Ein zentrales Einsatzgebiet der Massenspektrometrie ist das Therapeutische Drug Monitoring. Welche Rolle spielt die Massenspektrometrie dabei?

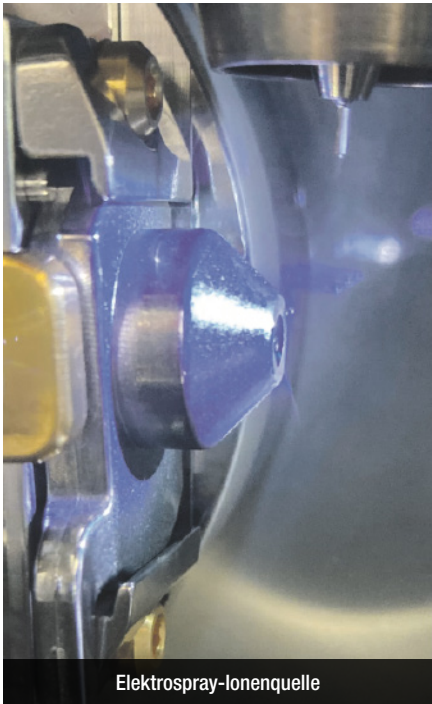
Vogeser: Für die Messung von niedermolekularen Pharmaka ist die LC-MS/MS-Technik (Flüssigkeitschromatographie-Tandem-Massenspektrometrie) klar als die bestmögliche heute verfügbare Technik zu bezeichnen. Sie ist extrem spezifisch, kann einzelne Metabolite eines Arzneistoffs sicher unterscheiden, ist extrem robust gegenüber Störfaktoren; die Technik ist für praktische alle Substanzen anwendbar, erlaubt potentiell die simultane Erfassung und Quantifizierung von hunderten von Substanzen in einem kurzen Analysenlauf. Die MS erlaubt Matrix-unabhängige Analysen z.B. auch in Liquor oder Gewebedialysaten und dies mit im allgemeinen sehr geringen erforderlichen Probenvolumina. Damit ist die Technik zur Messung kleiner Moleküle in vielen Aspekten den bisherigen Standardtechniken Photometrie und Immunoassay prinzipiell überlegen. „Große“ Moleküle wie Biologika sind eher Ziele für Immunoassay. Das zeigt klar: die Massenspektrometrie ist eine komplementäre Technik, in Ergänzung der bereits bisher sehr leistungsfähigen Verfahren im Routinelabor. Sie wird keine der etablierten Techniken überflüssig machen.

Die personalisierte Medizin verfolgt das Ziel, Therapien individuell auf den einzelnen Patienten abzustimmen. Die Massenspektrometrie spielt dabei eine

zunehmend wichtige Rolle. Inwiefern unterstützt die Technologie die Entwicklung der personalisierten Medizin?

Vogeser: Das Konzept des Therapeutischen Drug Monitoring (TDM) ist es, anhand der gemessenen Blutkonzentrationen eines Arzneimittels, dessen Dosierung individuell anzupassen. Das ist insbesondere wichtig bei Arzneimitteln, deren Wirkung nicht direkt erfasst werden kann (wie das z.B. für Blutdrucksenker mit der Blutdruckmessung möglich ist), die interindividuell unterschiedlich verstoffwechselt werden, oder deren Verstoffwechselung von anderen Arzneimitteln beeinflusst wird.

Die Massenspektrometrie ist die ideale Technologie für eine sehr zuverlässige Messung der Spiegel niedermolekularer Arznei-



Elektrospray-Ionenquelle

mittel, und in der Regel als „Goldstandard“ hierfür zu betrachten. Essentiell ist hierbei die Technik der Stabilisotopen-Verdünnung zur internen Standardisierung. Methoden für neue Zielsubstanzen können extrem kurzfristig und flexibel entwickelt werden; viele unterschiedliche Substanzen können simultan quantifiziert werden – dabei auch Metaboliten beispielsweise von Pro-Drugs. Damit können z.T. direkt wichtige individuelle pharmakologische Aussagen gemacht werden. Außerdem ist die Technik extrem robust gegenüber Störfaktoren. Dagegen weist die Immunoassay-Technologie im Hinblick auf die Messung von niedermolekularen Arzneimitteln schwerwiegende, grundsätzliche Limitierungen auf – u.a. bezüglich der analytischen Spezifität. Entsprechend sind über die letzten Jahrzehnte kaum noch TDM-Assays auf den IVD-Markt gekommen.

Immer umfangreichere Daten sprechen für das TDM – u.a. in Neurologie und Psychiatrie – und dieser stark wachsende Bedarf wurde in den letzten beiden Dekaden praktisch ausschließlich durch die Anwendung von MS-Methoden in recht wenigen Speziallaboren adressiert. Damit hat die MS also bereits ihre wesentliche Rolle in der Weiterentwicklung der personalisierten Medizin demonstriert.

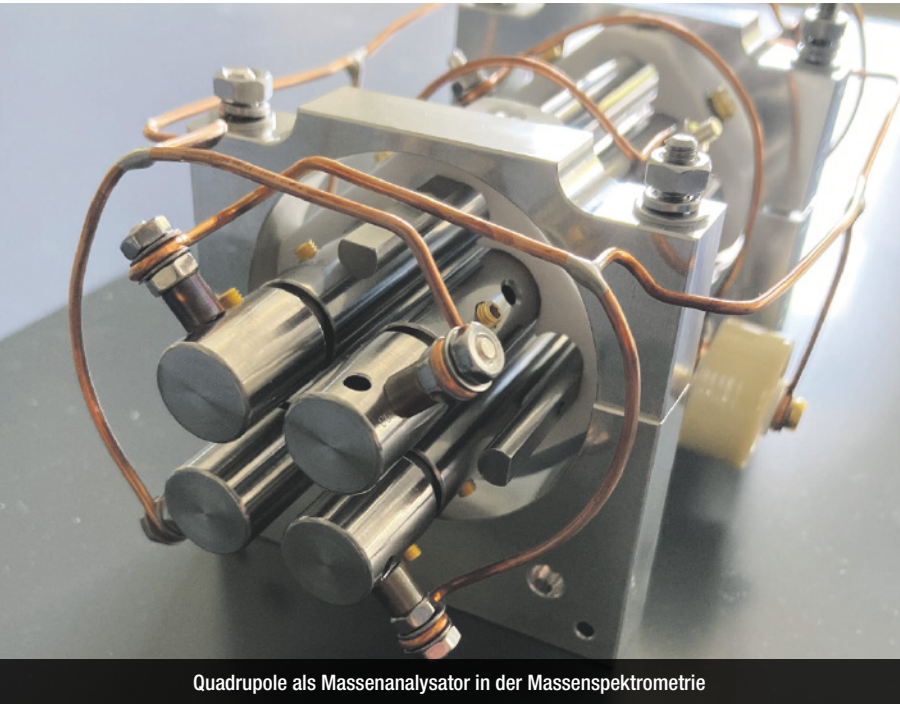
Dringlichkeit und klinischer Nutzen eines TDM unterscheiden sich zweifellos zwischen verschiedenen Substanzgruppen, aber grundsätzlich gibt es für praktisch jedes Arzneimittel Gründe, die für die Verfügbarkeit von Spiegelmessungen sprechen. Im 21. Jahrhundert kann es eigentlich als legitime Anforderung der Medizin betrachtet werden, bei jeder unserer großteils hochwirksamen Substanzen verifizieren zu können, ob eine adäquate Menge des Stoffes zur richtigen Zeit im richtigen

Zur Person

Prof. Dr. Michael Vogeser ist Arzt für Laboratoriumsmedizin und als Oberarzt am Institut für Laboratoriumsmedizin des Klinikums der LMU in München-Großhadern tätig; dort leitet er den Bereich Spezialanalytik. Seit 25 Jahren verantwortet er die massenspektrometrische Routineanalytik, die vor allem im Bereich des Therapeutischen Drug Monitorings Einsatz findet. Die Automation massenspektrometrischer Verfahren, die Translation dieser komplexen Technologien in die Routineversorgung, sowie die Qualitätssicherung und das Qualitätsmanagement in diesem Bereich stellen wesentliche Forschungsschwerpunkte von Prof. Vogeser dar.

Patienten vorhanden ist – im Grunde also ein Total Drug Monitoring. Adherence der Behandelten, korrekte Applikation, regelrechte Resorption, genetische Varianten in der Verstoffwechselung oder auch potentielle Wechselwirkungen mit anderen Fremdstoffen (Xenobiotica) sind typische Gründe, die für die Messung von den Blutspiegeln eines Arzneimittels sprechen. Auch für Stoffklassen mit eher einheitlichem pharmakokinetischem Profil – wie etwa die modernen oralen Antikoagulantien – können Spiegelmessungen im Einzelfall von hoher Relevanz sein – z.B. beim Auftreten von Rezidivthrombosen bei unklarer Medikations-Adherence.

Die MS kann auch potentiell wichtige Beiträge zur Organfunktionsdiagnostik im Rahmen der personalisierten Arzneimitteltherapie leisten – z.B. durch exogene



Quadrupole als Massenanalysator in der Massenspektrometrie

Testsubstanzen, wie Iohexol in der Nierenfunktionsdiagnostik bei nephrotoxischen Behandlungsregimen v.a. in der Onkologie; oder auch potentiell mit anderen Testsubstanzen für eine pharmakogenetische / metabolische Phänotypisierung oder als enterale Resorptionstests.

Können Sie ein konkretes Beispiel nennen, wie die Massenspektrometrie dazu beigetragen hat, eine Therapie individuell anzupassen oder zu optimieren?

Vogeser: Das passiert täglich tausendfach in TDM-Laboren u.a. der großen Laborverbünde und v.a. auch in vielen Uniklinik-Laboren. In diesen spezialisierten, zentralisierten Diagnostiklaboren stellt die Massenspektrometrie inwischen die Kern- und Standardtechnologie für das spezielle TDM dar. Adressierte werden u.a. die immunsuppressive Dauerbehandlung in der Transplantationsmedizin, die Einstellung von Patienten mit Krampfleiden, sowie die Behandlung mit hochaktiven Psychopharmaka. Hier werden z.B. Rapid- oder Poor-Metabolizer identifiziert, oder Adherence-Probleme bei unerwartet geringem Therapieerfolg aufgedeckt. Bei Patienten nach Nieren-, Herz- oder Lebertransplantation unterscheidet sich die notwendige Dosierung des wichtigsten Immunsuppressivums Tacrolimus zur Aufrechterhaltung ausreichender Blutspiegel von Patienten zu Patienten etwa im Verhältnis 1 zu 10. „One-size-fits-all“ – für einen großen Teil der Arzneimittel gilt dies keineswegs. Nur mit einem analytisch sehr zuverlässigen TDM zur individualisierten Immunsuppression konnten die heute üblichen geringen Abstoßungsraten nach Organtransplantation erreicht werden.

In der Intensivmedizin führt ein breiter angewandtes TDM bereits zu Anpassungen in der allgemeinen Dosierungspraxis

von Antibiotika. So konnten wir zuletzt aus den Daten unserer Routineanalytik für Antimykotika schlussfolgern, dass die vom Hersteller empfohlenen Dosierungen bei einem Großteil der kritisch kranken Patienten zu Blutkonzentrationen unterhalb der Effektivitätsgrenze führen.

Das zentrale Problem für die heutigen spezialisierten MS-Labore im TDM ist der zunehmende Fachkräftemangel; die Analytik ist extrem komplex und wird nur von wenigen Technologen beherrscht. Eine „flächendeckende“ Ausweitung des TDM-Service – z.B. in den Bereich der Onkologika – ist vor diesem Hintergrund mit den bisherigen, konventionellen MS-Verfahren schwer vorstellbar. Vielmehr gilt: der zunehmende Fachkräftemangel gefährdet auch das bisher Erreichte, das heißt die Versorgung von Patienten durch Analysen in MS-Speziallaboren. Ich überblicke jetzt ein Vierteljahrhundert klinische MS-Anwendung und dabei muss leider festgestellt werden, dass die Bedienerfreundlichkeit der konventionellen Systeme von den Herstellern in keiner Weise verbessert wurde. Noch immer ist es jeden Tag und jede Woche wieder eine Herausforderung, die komplexen Analyseverfahren eines TDM-MS-Labors in einem hochspezialisierten Team am Laufen zu halten.

Kürzlich hat Roche das weltweit erste vollautomatisierte Massenspektrometrie-System für Routinelabore vorgestellt. Welche Veränderungen bringt diese neue Technologie für den klinischen Alltag?

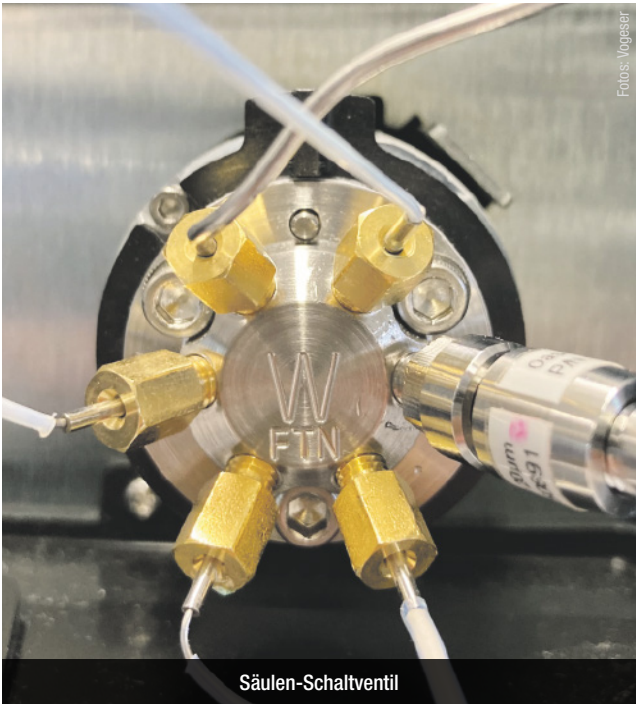
Vogeser: Das wesentlich Neue an diesem System ist, dass es den Einsatz der Massen-

besonders an die kontinuierliche Gabe von Antibiotika bei schweren Infektionen. Diese erweist sich in Studien zunehmend als der Verabreichung von Einzeldosen überlegen – wenn die Dosissteuerung durch die kurzfristige Spiegelmessung verfügbar ist. Model based precision dosing und Bayesian Modelling sind hoch-innovative Konzepte in TDM und klinischer Pharmakologie, die in der Tat eine möglichst zeit- und patientennahe Analytik erfordern.

Neue Technologien haben es heute in der Labormedizin im Grunde eigentlich schwer, weil die bisherigen Verfahren aus klinischer Sicht bereits außerordentlich leistungsfähig sind und gar nicht so viele klinische Fragen offen lassen. Dennoch bietet die Massenspektrometrie im klinischen Labor uns – aber vor allem unseren Patientinnen und Patienten - essentielle neue Potentiale: u.a. durch analytisches Multiplexing; höchste Spezifität und Zuverlässigkeit und unerreichte Flexibilität. Man könnte mit Blick auf die traditionellen Techniken Photometrie und Immunometrie von „next generation clinical chemistry“ sprechen und von der wichtigsten Innovation in der Labormedizin in den letzten Jahrzehnten seit der Einführung der PCR.

Wie sehen Sie die Rolle der Massenspektrometrie im Kontext von Point-of-Care-Diagnostik oder dezentralen Laborstrukturen?

Vogeser: Ein vollautomatisiertes MS-Analysen-System wie Roche Cobas i601 zielt insbesondere auch auf die Zentrallabore von Schwerpunktkliniken ab. Wenn man betrachtet, dass gegenwärtig auch diese



Säulen-Schaltventil

Schwerpunktkliniken einen wesentlichen Teil der TDM-Analytik in teils weit entfernte Speziallabore beauftragen müssen, ist Cobas i601 ein wesentlicher Fortschritt im Hinblick auf Dezentralisation – Kliniklabore können damit potentiell die Rate der Versandanforderungen reduzieren.

Allerdings gilt: auch wenn das Zentrallabor einer Großklinik MS-Analysen vor Ort anbieten kann, so kostet der innerklinische Probentransfer und die Präanalytik potentiell wertvolle Zeit – vor allem wenn man an die Optimierung von Antibiotika-Behandlungen denkt, die zunehmend in der Form von kontinuierlicher Gabe mittel Perfusor erfolgt. Hier würde langfristig betrachtet sicherlich eine Analytik, die ebenso unverzüglich verfügbar ist, wie es heute für Blutgasanalysen auf Intensivstationen gilt, einen weiteren Fortschritt bedeuten, der sich letztlich in verbesserten Behandlungserfolgen widerspiegeln kann.

Massenspektrometrie im POCT-Format ist noch Zukunftsmusik aber durchaus vorstellbar. Mobile MS-Systeme unterschiedlicher Bauart sind in der Sicherheitstechnik bereits weltweit lange im Einsatz. Quantitativ arbeitende Tandem-MS-Module sind mittlerweile nicht mehr viel größer als ein Schuhkarton. MS-Analyse von Einzelproben (statt von Probenserien wie im Zentrallabor) ohne dezidierte Automation, bzw. mit miniaturisierter Automation als „Lab-on-the-Chip“ könnten nach meiner Einschätzung relativ kurzfristig technisch realisiert werden. Dies würde der Arbeitsweise von heutigen POCT-Systemen in der Intensiv- bzw. Akutmedizin entsprechen.

Welche weiteren klinischen Parameter könnten künftig mittels Massenspektrometrie analysiert werden?

Vogeser: Das kurz- und mittelfristig attraktivste und wichtigste Anwendungsfeld der MS ist meines Erachtens wie gesagt gegenwärtig klar das TDM niedermolekularer Arzneimittel. Dort sollten insbesondere neu in die Anwendung kommende Antibiotika schnell abgebildet werden, um ihren möglichst effektiven Einsatz zu unterstützen. Vor dem Hintergrund der globalen Resistenzproblematik ist das sehr wichtig. Ein bislang wenig adressiertes Feld sind die Onkologika. Hier ist eine große Zahl von oralen Wirkstoffen verfügbar geworden, bei denen Arzneimittelinteraktionen und Adherence-Probleme von hoher Relevanz sein können. Für das TDM von Biologika – dem bei weiten kostenintensivsten Bereich des Arzneimittelsektors – erscheinen mir dagegen Immunoassays in der Regel als die überlegene Technik. Hier besteht m.E. ein sehr großer Nachholbedarf und wesentliches, klinisch relevantes Entwicklungspotential.

Insgesamt geht es um viele hundert Substanzen, für die nach meiner Einschätzung im Interesse der Patienten möglichst bald routinemäßige Analysemethoden eingeführt werden sollten.

Metabolomics, und allgemeiner „omics“-Ansätze sind seit mindestens zwei Jahrzehnten quasi „in aller Munde“. Allerdings werden die Begrifflichkeiten hierbei oft unscharf verwendet. Man kann Metabolomics-Analysen charakterisieren als Analysen, bei denen simultan zahlreiche Stoffe aus unterschiedlichen Stoffklassen und aus unterschiedlichen Stoffwechselwegen erfasst werden, und bei denen nicht nur Einzelkonzentrationen ausgegeben werden, sondern diagnostische