

Dipl.-Ing.(FH) Susen Becker
Dr. sc. hum.

Entwicklung einer Methode zur Differenzierung von Defekten im Purin- und Pyrimidinstoffwechsel mittels Hochleistungs-Flüssigkeits-Chromatographie Elektrospray Ionisations Tandem-Massenspektrometrie

Geboren am 24. September 1977 in Hennigsdorf, Deutschland
Diplom der Fachrichtung Biotechnologie im Dezember 2001 an der Technischen Fachhochschule Berlin

Promotionsfach: Pädiatrie
Doktorvater: Univ.-Prof. Dr. med., Prof. h.c. (RCH) G. F. Hoffmann

Die sehr seltenen Erkrankungen, teilweise sind nur wenige Patienten beschrieben, im Purin- und Pyrimidinstoffwechsel zeigen ein breites und unspezifisches Spektrum an Symptomen, einhergehend mit Erkrankungen des zentralen Nervensystems, der Niere und des Immunsystems. Einige Defekte zeigen die Ausbildung von Arthropathien und Myopathien durch die erhöhte Produktion von schwer löslichen Metaboliten, wie zum Beispiel Xanthin, Hypoxanthin, Harnsäure und 2,8-Dihydroxyadenin. Da die Symptome sehr variieren, ist eine schnelle und zuverlässige Methode zur Erkennung dieser Defekte unabdingbar. Es wird eine praktikable HPLC ESI MS/MS Methode vorgestellt, mit der alle relevanten Purin- und Pyrimidinmetabolite aus Urin analysiert werden können.

Insgesamt werden 24 Metabolite im Urin bestimmt. Dazu zählen Adenin, 2,8-Dihydroxyadenin, Xanthin, Hypoxanthin, Harnsäure, Orotsäure, Adenosin, Inosin, Guanosin sowie deren Desoxyderivate, Succinyladenosin, Thymin, Uracil, 5,6-Dihydrothymin, 5,6-Dihydrouracil, β -Ureidopropionsäure, β -Ureidoisobuttersäure, Uridin, 2-Desoxyuridin, 5-Hydroxymethyluracil, Pseudouridin und Thymidin. Für die Analyse dieser Metabolite wird eine reversed-phase HPLC ESI MS/MS Methode verwendet. Für die Aufbereitung der Proben wird der Urin lediglich filtriert und auf 0,5 mM Kreatinin normiert. Die Quantifizierung der Metabolite erfolgt mittels interner Standards, welche mit stabilen Isotopen markiert sind. Die einzelnen Metabolite werden in multiple reaction monitoring Experimenten gemessen.

Die Analysenzeit beträgt 20 Minuten. Die geringe Messzeit stellt einen enormen Vorteil zu bisherigen Methoden dar, die bis zu 90 min dauern und eine arbeitsintensive Probenaufbereitung benötigen. Die Messung pathologischer Proben zeigt einen deutlichen Unterschied verglichen zu Normalproben. Die entwickelte Methode erlaubt ein schnelles,

spezifisches und zuverlässiges Screening auf Erkrankungen im Purin- und Pyrimidinstoffwechsel. Es können bis zu 13 verschiedene Defekte diagnostiziert werden.