**Identifizierung von Proteom Pattern und Proteinmarkern
durch SELDI-TOF MS bei Patienten mit chronischer
Hepatitis C**

Thomas Göbel

Schriftenreihe Infektiologie

Band 9

Thomas Göbel

**Identifizierung von Proteom Pattern
und Proteinmarkern durch SELDI-TOF MS
bei Patienten mit chronischer Hepatitis C**

D 61 (Diss. Universität Düsseldorf)

Shaker Verlag
Aachen 2009

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

Zugl.: Düsseldorf, Univ., Diss., 2008

Kontakt zum Herausgeber: mark@oette.de

Umschlaggestaltung: www.spierling-art.de

Copyright Shaker Verlag 2009

Alle Rechte, auch das des auszugsweisen Nachdruckes, der auszugsweisen oder vollständigen Wiedergabe, der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen und der Übersetzung, vorbehalten.

Printed in Germany.

ISBN 978-3-8322-8483-1

ISSN 1614-4899

Shaker Verlag GmbH • Postfach 101818 • 52018 Aachen

Telefon: 02407 / 95 96 - 0 • Telefax: 02407 / 95 96 - 9

Internet: www.shaker.de • E-Mail: info@shaker.de

Vorwort

Weltweit sind mehr als 170 Millionen Menschen mit dem Hepatitis C-Virus infiziert, in den letzten Jahren hat die Inzidenz und Mortalität des hepatozellulären Karzinoms in den westlichen Ländern signifikant zugenommen, dabei gilt die Hepatitis C-Virusinfektion als häufigste Ursache - 80-90% der hepatozellulären Karzinome entstehen auf dem Boden eines zirrhotisch veränderten Lebergewebes. Bei der Diagnose der Leberzirrhose gilt nach wie vor die Leberpunktion als Goldstandard, wobei die Aussagekraft der Leberpunktion durch den „intra- und interobserver error“ und den „sampling error“ eingeschränkt ist.

In seinem Buchbeitrag zeigt Herr Dr. Göbel auf, wie mittels Proteomanalyse eine Differenzierung von Zirrhosen und hepatozellulärem Karzinom möglich ist. Die dem Buchbeitrag zugrundeliegende Untersuchungen wurden an 120 chronisch infizierten Hepatitis C-Patienten durchgeführt, die sämtlich einer zeitnahen Leberpunktion unterzogen wurden. Die Proteomanalyse erfolgte mittels der SELDI-TOF Technik, die auf einem massenspektrometrischen Verfahren beruht. Insgesamt hat die Proteomanalyse in den letzten Jahren wesentlich an Bedeutung gewonnen und ist in vielerlei Hinsicht eine wertvolle Ergänzung zu den Genexpressions-Analysen mittels Genchips. Der vorliegende Buchbeitrag erlaubt einen fundierten Einblick in

diese neue und zugleich zukunftsweisende Technik der Proteomanalyse bei einem klinisch relevanten Thema.

Düsseldorf, im März 2009

Priv.-Doz. Dr. med. A. Erhardt

Anschriften

Dr. med. Thomas Göbel
Assistenzarzt
Klinik für Gastroenterologie, Hepatologie und Infektiologie
Universitätsklinikum Düsseldorf
Moorenstraße 5
40225 Düsseldorf

Priv.-Doz. Dr. med. Andreas Erhardt
Leitender Oberarzt
Klinik für Gastroenterologie, Hepatologie und Infektiologie
Universitätsklinikum Düsseldorf
Moorenstraße 5
40225 Düsseldorf

Prof. Dr. med. Dieter Häussinger
Direktor
Klinik für Gastroenterologie, Hepatologie und Infektiologie
Universitätsklinikum Düsseldorf
Moorenstraße 5
40225 Düsseldorf

Priv.-Doz. Dr. med. Mark Oette
Chefarzt
Klinik für Allgemeine Innere Medizin, Gastroenterologie und
Infektiologie
Krankenhaus der Augustinerinnen
Jakobstr. 27-31
50678 Köln

Danksagung

Für die Unterstützung meiner Dissertation und der Möglichkeit diese in einem Buch der Schriftenreihe Infektiologie zu veröffentlichen möchte ich mich insbesondere bei Priv.-Doz. Dr. med. Mark Oette – mittlerweile Chefarzt der Klinik für Allgemeine Innere Medizin, Gastroenterologie und Infektiologie des Krankenhauses der Augustinerinnen zu Köln – sowie bei dem leitenden Oberarzt, Priv.-Doz. Dr. med. Andreas Erhardt, und dem Direktor, Universitätsprofessor Dr. med. Dieter Häussinger, der Klinik für Gastroenterologie, Hepatologie und Infektiologie des Universitätsklinikums Düsseldorf herzlich bedanken. Eine Unterstützung junger Wissenschaftler in diesem Rahmen ist als vorbildhaft zu bezeichnen.

Düsseldorf im März 2009

Dr. med. Thomas Göbel

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	
1.1 Epidemiologie und Transmission des Hepatitis C-Virus	1
1.2 Molekularbiologie des Hepatitis C-Virus	3
1.3 Klinischer Verlauf der HCV-Infektion	6
1.4 Evaluation der Leberschädigung mittels Leberbiopsie	8
1.5 Nicht-invasive Methoden zur Beurteilung der Leberfibrose	9
1.6 Bildgebende Verfahren zur Detektion eines HCCs	11
1.7 Serologische HCC-Marker	13
1.8 Proteomics	14
1.9 Zielsetzung der Promotionsarbeit	17
2. Patienten und Methoden	
2.1 Puffer und Lösungen	19
2.2 Patientenkollektiv	21
2.3 Funktionsprinzip der SELDI-Technik	22
2.4 Auswahl geeigneter Chipoberflächen	25
2.5 Fraktionierung der Serumproben	28
2.6 ProteinChip Array Binding der fraktionierten Proben	29
2.7 Massenspektrometrische Analyse der fraktionierten Proben	30
2.8 Datenanalyse durch die Protein Chip Software	31
2.9 Reinigung ausgewählter Biomarker	33
2.10 Anionische Fraktionierung mit Q HyperD®F resin	34
2.11 Size Fractionation	35
2.12 Hydrophobic Fractionation	36
2.13 SDS-Gelelektrophorese	37
2.14 Passive Elution	39
2.15 Apolipoprotein C-I Immunoassay	40
3. Ergebnisse	
3.1 Klinische Parameter des Patientenkollektivs	43
3.2 Ermittlung der geeigneten Chipoberfläche und Fraktion	46
3.3 Pattern Analyse zum Vergleich von Zirrhosen gegen Fibrosen	48
3.4 Pattern Analyse zum Vergleich von Zirrhosen gegen HCC	52
3.5 Identifizierung eines neuen Biomarkers	54

II

4. Diskussion	
4.1 Leberfibrose vs. Leberzirrhose	63
4.1.1 SELDI-TOF zur Differenzierung von Fibrosen vs. Zirrhosen	64
4.1.2 Vergleich zu nicht-invasiven Tests	65
4.1.3 Apolipoprotein C-I	69
4.2 Leberzirrhose vs. HCC	
4.2.1 AFP	73
4.2.2 Vergleich mit anderen SELDI-Studien	73
4.2.3 Biomarker des HCCs	77
5. Zusammenfassung	81
6. Literaturverzeichnis	85
7. Abkürzungsverzeichnis	99