

University of Groningen

The influence of the sample matrix on LC-MS/MS method development and analytical performance

Koster, Remco Arjan

IMPORTANT NOTE: You are advised to consult the publisher's version (publisher's PDF) if you wish to cite from it. Please check the document version below.

Document Version

Publisher's PDF, also known as Version of record

Publication date:

2015

[Link to publication in University of Groningen/UMCG research database](#)

Citation for published version (APA):

Koster, R. A. (2015). *The influence of the sample matrix on LC-MS/MS method development and analytical performance*. [Thesis fully internal (DIV), University of Groningen]. University of Groningen.

Copyright

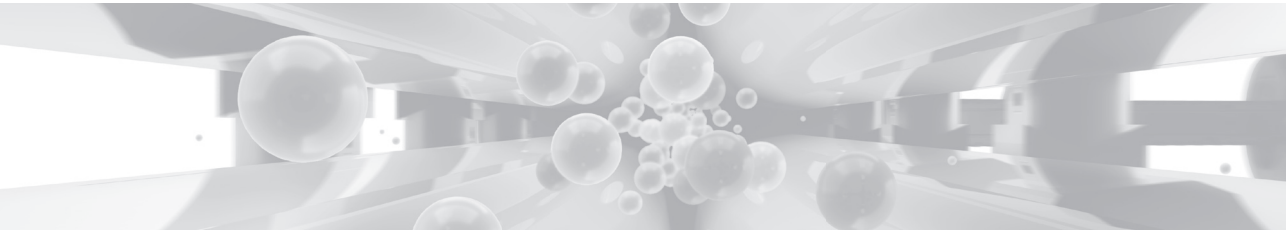
Other than for strictly personal use, it is not permitted to download or to forward/distribute the text or part of it without the consent of the author(s) and/or copyright holder(s), unless the work is under an open content license (like Creative Commons).

The publication may also be distributed here under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license. More information can be found on the University of Groningen website: <https://www.rug.nl/library/open-access/self-archiving-pure/taverne-amendment>.

Take-down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Downloaded from the University of Groningen/UMCG research database (Pure): <http://www.rug.nl/research/portal>. For technical reasons the number of authors shown on this cover page is limited to 10 maximum.



Samenvatting

In **Hoofdstuk 1** worden de achtergrond, opzet en doelstellingen van dit proefschrift beschreven. De analysetechniek “hoge druk vloeistof chromatografie gekoppeld aan tandem massa spectrometrie” (LC-MS/MS) is tegenwoordig vaak de eerste keus voor de ondersteuning van *therapeutic drug monitoring* (TDM), klinische en forensische toxicologie en het aantonen van drugsmisbruik. Dankzij de hoge gevoeligheid en selectiviteit van LC-MS/MS is een uitgebreide monstervoorbewerking, met zuivering en concentratie van de te bepalen analiet (medicijn, drug of afbraakproduct/metaboliet hiervan), vaak niet nodig. Dit betekent dat de analysetijden flink kunnen worden verkort en er veel tijd wordt bespaard ten opzichte van andere detectiemethoden. Matrixeffecten kunnen voor grote problemen zorgen bij LC-MS/MS-analyses en openbaren zich meestal tijdens de ionisatie. Een andere vorm van matrixeffect is onafhankelijk van de analysetechniek en kan plaatsvinden in het monster, of tijdens de monstervoorbewerking door een interactie tussen de matrix en de analiet.

De matrices volbloed, plasma, serum en urine worden het meest gebruikt voor TDM en toxicologische analyses. In toenemende mate worden in klinische laboratoria ook gedroogde bloeddruppels (*dried blood spots*, DBS), speeksel, zweetpatches (speciale pleisters) en haren geanalyseerd. Elke humane matrix heeft zijn klinische en analytische voor- en nadelen en de uitgevoerde analyse en interpretatie van de analyseresultaten zijn in sterke mate afhankelijk van de gebruikte matrix. Daarbij heeft het zijn specifieke toepassing voor het meten van de analietconcentratie met betrekking tot de inname. Bijvoorbeeld: bloed, serum, plasma en speeksel kunnen worden gebruikt voor het monitoren van de concentratie van de analiet op de dag van inname van het medicijn of de drug, terwijl deze in de urine tot ongeveer 2 dagen na de inname nog aanwezig kan zijn en bij zweetpatches na een draagtijd van maximaal zeven dagen. Informatie over drugs- of medicijngebruik voor een periode van maanden kan worden verkregen door analyse van gesegmenteerde haarlokken (met haargroei van ongeveer 1 cm per maand). Het gebruik van urine, zweet en haar betekent dat de gemeten concentraties moeilijk te relateren zijn aan de hoeveelheid ingenomen medicijn of drugs. In plaats daarvan worden deze matrices vooral gebruikt om informatie te verkrijgen over misbruik van medicijnen en drugs.

De laatste jaren is de populariteit van de DBS-matrix enorm toegenomen voor TDM. De patiënt heeft veel voordeel van DBS-analyses. Er is maar 1 druppel bloed uit de vinger nodig om een bloedspot te maken op een speciaal kaartje. De afname van het bloed kan thuis door de patiënt zelf worden uitgevoerd, wat reiskosten bespaart. De stabiliteit van de analiet is vaak beter dan in andere matrices. Het besmettingsrisico is lager en het transport kan ongekoeld via de reguliere post plaatsvinden.

Tijdens dit promotieonderzoek stond de invloed van de matrix op de ontwikkeling en prestatie van LC-MS/MS-methoden centraal. De verschillende parameters die van belang zijn voor een robuuste, selectieve, gevoelige, accurate en precieze methode, zijn onderzocht en zo nodig geoptimaliseerd. Uiteindelijk zijn analytische procedures opgezet in de matrices volbloed, plasma, DBS, haar en zweetpatches.

In **Hoofdstuk 2** hebben we ons gericht op humaan volbloed als matrix voor de ontwikkeling van een procedure voor de analyse van de immunosuppressiva (middelen tegen afstoting van getransplanteerde organen) tacrolimus, cyclosporine A, sirolimus en everolimus. Het doel van dit onderzoek was om in onze ziekenhuisapotheek de relatief dure, ongevoelige en te weinig specifieke immunoassays te vervangen. De door ons ontwikkelde analyse maakt gebruik van een eiwitprecipitatie gecombineerd met een snelle chromatografische gradiënt van 2,6 minuten. Uit het onderzoek bleek dat het gebruik van zinksulfaat tijdens de monstervoorbewerking een procesefficiëntie gaf van ongeveer 100% voor tacrolimus en cyclosporine A, maar minder voor sirolimus en everolimus. Met de apart ontwikkelde monstervoorbewerking zonder zinksulfaat voor sirolimus en everolimus werden wel procesefficiënties behaald van ongeveer 100%. We vonden ook dat de ontwikkelde methoden kostenbesparend, flexibeler en gevoeliger zijn en tevens een groter lineair bereik hebben dan de immunoassays. Sinds de implementatie van deze LC-MS/MS-methoden in 2007 zijn hiermee ongeveer 140.000 patiëntenmonsters in ons laboratorium geanalyseerd.

In **Hoofdstuk 3.1** hebben we ons gericht op het bepalen van de juiste procedure voor het bereiden van de hematocrietwaarde (HT, volume rode bloedcellen in bloed) voor standaarden en kwaliteitscontrolemonsters voor DBS-analyse. Omdat het effect van het HT op de DBS-analyseresultaten algemeen is erkend, is een correcte bereiding van het beoogde HT cruciaal. We hebben twee procedures voor de HT-bereiding met elkaar vergeleken door middel van het meten van het HT. In de eerste procedure werden de rode bloedcellen en het plasma gescheiden en weer in de juiste verhouding bij elkaar gevoegd. Deze procedure resulteerde in een gemeten HT die 11% lager lag dan het beoogde HT. Voor de tweede procedure werd alleen plasma verwijderd of toegevoegd. Met deze methode werd geen verschil aangetoond tussen het gemeten HT en het beoogde HT.

In **Hoofdstuk 3.2** beschrijven we de methodeontwikkeling voor de analyse van het antibioticum moxifloxacin in DBS. Hierbij is onderzocht wat de invloed is van het HT en het volume van de bloedspot op verschillende kaarttypes. Tijdens dit onderzoek is de invloed van het HT en het bloedvolume op het geschatte bloedvolume van een uitgeponste DBS en op de

analytische resultaten onderzocht. Voor het Whatman 31 ET CHR-kaartje bleek 89% van de variatie in het geschatte bloedvolume in een uitgeponste DBS veroorzaakt te worden door het HT, terwijl het opgebrachte bloedvolume zich gelijkmatig verspreidt over de DBS-kaart en dus geen significante invloed had. Het geteste bereik aan HT-waarden gaf een verlopende analytische bias die gedeeltelijk kon worden gecorrigeerd. Concluderend vonden we dat de HT de parameter was met de grootste invloed op de analytische resultaten. Een kanttekening hierbij is dat de HT-correctie alleen kan worden uitgevoerd als het HT bekend is.

In **Hoofdstuk 3.3** hebben we de interacties en matrixeffecten onderzocht van de antibiotica rifampicine, claritromycine en hun metabolieten met endogene stoffen in het bloed. Rifampicine kan een chelaatcomplex vormen met ijzerionen of kan binden met heemgroepen die aanwezig kunnen zijn in DBS-extracten. Het onderzoek heeft zich gericht op de interactie tussen rifampicine en endogene stoffen in de DBS. Het gebruik van ethyleendiaminetetraazijnzuur (EDTA) en deferoxamine (DFX) als chelatoren verbeterden de extractieopbrengst van rifampicine met 51% en elimineerden de matrixeffecten. Uiteindelijk werd de ontwikkelde analytische methode gevalideerd voor de kwantificering van rifampicine, claritromycine en hun metabolieten desacetylrifampicine en 14-hydroxyclearitromycine in DBS-monsters.

In **Hoofdstuk 3.4** hebben we een analytische procedure ontwikkeld voor tacrolimus, sirolimus, everolimus en cyclosporine A in DBS-monsters. Dit om TDM te kunnen faciliteren voor transplantatiepatiënten die niet meer in het ziekenhuis zijn opgenomen, maar nog wel met regelmaat naar het ziekenhuis moeten komen voor bloedafname. Ons onderzoek heeft uitgewezen dat het HT een significante invloed heeft op de analytische resultaten. Uitgebreide testen van de extractieopbrengsten bewezen dat de combinatie van een lage HT en een hoge concentratie niet alleen van invloed is op het formaat van de DBS, maar ook op de extractieopbrengst van sirolimus en in het bijzonder everolimus. Onze hypothese is dat het toenemende aantal waterstofbindingsacceptoren van de analieten (tacrolimus: 12, sirolimus: 13, everolimus: 14) en het verlaagde niveau van eiwitbinding in het bloed van invloed is op de formatie van waterstofbindingen met de cellulose van het papier.

In **Hoofdstuk 3.5** hebben we onderzocht of het mogelijk was om het lichaamseigen creatinine te meten in het DBS-extract voor de analyse van tacrolimus, sirolimus, everolimus en cyclosporine A. Creatinine-vrij bloed, en dus ook DBS, is niet beschikbaar en kan niet worden bereid zonder de matrix te veranderen. Daarom is onze ontwikkelde methode gevalideerd met drie verschillende kalibratieprocedures; een 7-punts kalibratiecurve gebruikmakend van de asafsnede om te corrigeren voor de natuurlijk aanwezige creatinine

in de kalibratiestandaarden; een 1-punts kalibratiecurve met een extreem hoge concentratie om de bijdrage van de natuurlijk aanwezige creatinine te minimaliseren en het gebruik van gedeutereerde creatinine met een 8-punts kalibratiecurve. De literatuur geeft aan dat creatinineconcentraties in bewaard serum en plasma binnen 1 tot 3 dagen significant kunnen toenemen. Onze validatieresultaten laten zien dat creatinine in DBS langer stabiel blijft en dus een stabielere matrix is dan serum en plasma.

In **Hoofdstuk 3.6** hebben we de invloed van het aantal waterstofbindingsacceptoren van tacrolimus, ascomycine, sirolimus, everolimus en temsirolimus op de extractieopbrengst bij DBS-analyse onderzocht. De hypothese was dat de extractieopbrengst van de analiet wordt beïnvloed door het aantal waterstofbindingsacceptoren. Dit werd getest door het evalueren van de extractieopbrengsten van tacrolimus, ascomycine, sirolimus, everolimus en temsirolimus, met respectievelijk 12, 12, 13, 14 en 16 waterstofbindingsacceptoren. De extractieopbrengsten van alle geteste analieten werden geëvalueerd bij variërende concentraties en HT-waarden. Met het toenemende aantal waterstofbindingsacceptoren van sirolimus, everolimus en temsirolimus werd een afname in extractieopbrengst gevonden. Door middel van dit onderzoek is duidelijk geworden dat het aantal waterstofbindingsacceptoren van de analiet de extractieopbrengst kan beïnvloeden bij DBS-analyses en dat dit een relevante factor is om te onderzoeken tijdens methodeontwikkeling en validatie.

In **Hoofdstuk 3.7** hebben we onderzocht of de droogtijd van de DBS van invloed kan zijn op de extractieopbrengsten van tacrolimus, sirolimus, everolimus, cyclosporine A, ascomycine en temsirolimus. Deze invloed is geëvalueerd door DBS-metingen te verrichten met een HT-bereik van 0,1 tot 0,6 L/L, na 3, 24 en 48 uur droogtijd. Hieruit bleek dat de extractieopbrengsten van sirolimus, everolimus, temsirolimus en cyclosporine A worden beïnvloed door de DBS-droogtijd, terwijl dit niet het geval is voor die van tacrolimus en ascomycine. Bij de lage HT van 0,1 L/L namen de extractieopbrengsten van sirolimus, everolimus, temsirolimus en cyclosporine A af met respectievelijk 24%, 26%, 27% en 14% tussen 3 en 24 uur droogtijd, gevolgd door een stabilisatie van de extractieopbrengst. Gebaseerd op dit onderzoek, adviseren we een DBS-droogtijd van tenminste 24 uur.

In **Hoofdstuk 3.8** hebben we de prestaties van vijf verschillende DBS-kaarten onderzocht voor de DBS-analyse van tacrolimus, sirolimus, everolimus, ascomycine, temsirolimus en cyclosporine A. De extractieopbrengst en HT-effecten werden onderzocht bij vijf verschillende types DBS-kaarten. We zagen dat alle types DBS-kaarten hetzelfde patroon vertoonden van afnemende extractieopbrengst voor sirolimus, everolimus en temsirolimus

bij afnemende HT en toenemende concentratie. De geteste kaarttypes gaven verschillende extractieopbrengsten, die meer werden benadrukt bij concentraties en HT-waarden buiten het normale bereik. Over het algemeen leken de Whatman DMPK-C-kaarten het beste te presteren. De geteste DBS-kaarten vertoonden onderling maar kleine prestatieverschillen bij de analyse van een gedeeltelijke spot. Echter, de totale HT-effecten verschilden wel tussen lage en hoge concentraties. Voor tacrolimus, sirolimus, everolimus, ascomycine en temsirolimus waren bij hoge concentraties de totale HT-effecten veel nadrukkelijker aanwezig dan bij lage concentraties. Omdat de combinatie van de HT-waarde en de concentratie van de analiet de meetwaarde kan beïnvloeden, kan de juistheid van het gebruik van een simpele lineaire correctie van de analyseresultaten op basis van alleen de HT-waarde worden betwijfeld. Indien er geen correctie plaatsvindt voor de HT-waarde, wordt door ons voorgesteld om het maximaal toelaatbare bereik van het HT en de analietconcentratie tijdens de validatie vast te stellen.

In **Hoofdstuk 4** hebben we de matrixafhankelijke stabiliteit van het synthetische opiaat remifentanil onderzocht in EDTA-bloed en aangezuurd EDTA-plasma. Remifentanil is zeer instabiel en wordt snel gemetaboliseerd in bloed en weefsels en zelfs na de bloedafname is remifentanil instabiel door endogene esterasen en chemische hydrolyse. Dit betekent dat de bloedafname en -verwerking een kritische fase is bij de bioanalyse van remifentanil. De stabiliteit van remifentanil werd onderzocht in EDTA-bloed, EDTA-plasma en aangezuurd EDTA-plasma bij kamertemperatuur, 4°C, 0°C en bij -20°C. Remifentanil in EDTA-bloed vertoonde in 2 uur een concentratieafname van ongeveer 2% bij 0°C en 42% bij kamertemperatuur. Het gebruik van mierenzuur voor het aanzuren van het EDTA-plasma verbeterde de stabiliteit van remifentanil naar 2 dagen bij kamertemperatuur, 14 dagen bij 4°C en 103 dagen bij -20°C. De verbeterde stabiliteit maakt deze analytische methode erg geschikt voor farmacokinetische studies van remifentanil.

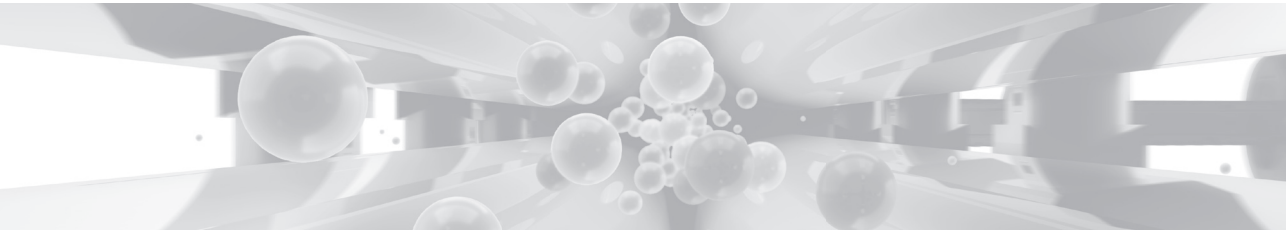
In **Hoofdstuk 5.1** en **Hoofdstuk 5.2** hebben we twee bepalingmethoden ontwikkeld voor de analyse van drugs (en misbruikte medicatie) in hoofdhaar en zweetpatches. Beide matrices zijn een niet-invasief alternatief voor urine- of bloedafname. Voor de analyse van drugs in haar werd een analytische methode ontwikkeld waarin amfetamine, methamfetamine, MDMA, MDA, MDEA, methylfenidaat, cocaïne, zijn metaboliet benzoylecgonine, morfine, codeïne, heroïne, zijn metaboliet 6-MAM, methadon, zijn metaboliet EDDP, THC (cannabis), nicotine en zijn metaboliet cotinine kunnen worden gemeten. Al deze analieten, behalve THC, werden ook toegevoegd aan de analysemethode voor zweetpatches.

Er werd gebruik gemaakt van een driestaps wasprocedure met dichloormethaan om het risico van valspositieve resultaten, veroorzaakt door externe contaminatie van het haar, te minimaliseren. Deze werd gevolgd door een simultane verpulvering en extractie van het haar met metalen balletjes.

We hebben voor onze validatie de eisen voor de qualifier-quantifier ratio's duidelijker en strenger opgesteld dan voorheen in de literatuur stond beschreven. Dit resulteerde toch nog in lagere analytische grenswaarden dan gesteld door de *'Society of Hair Testing'* voor haaranalyse en door de *'Substance Abuse en Mental Health Services Administration'* voor de zweetpatchanalyse. De ontwikkelde analytische methoden hebben zich bewezen voor het monitoren van drugsgebruik door middel van de analyse van 47 (gebundelde) haarlokken (gesegmenteerd in 129 deelmonsters) en 96 zweetpatches.

In **Hoofdstuk 6** worden de uitgevoerde onderzoeken bediscussieerd met betrekking tot de gestelde doelen van de dissertatie. Verder zullen de impact van de verschillende matrices op het uitgevoerde onderzoek en de ontwikkelde analytische methoden worden besproken. Uiteindelijk bediscussiëren we de toekomstperspectieven op basis van het uitgevoerde onderzoek, waarbij de gepersonaliseerde dosering van de patiënt gecombineerd kan worden met een gepersonaliseerde keuze van de te gebruiken matrix die het best past bij de vraagstelling van het patiëntonderzoek.

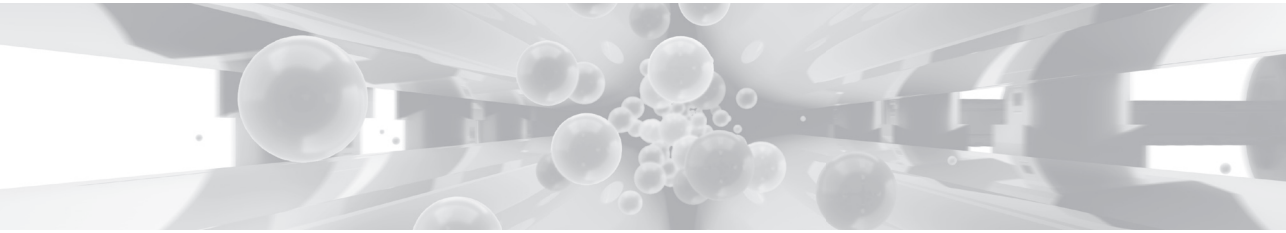
Samenvattend kunnen we zeggen dat de gebruikte monstermatrix van invloed is op de methodeontwikkeling en de analytische prestaties bij LC-MS/MS. Bij matrixeffecten wordt in eerste instantie vaak gedacht aan ionsuppressie tijdens de ionisatie. Maar in een breder perspectief gezien kunnen matrixeffecten ook veroorzaakt worden door interacties van de analiet met de matrix waar het zich in bevindt. Afhankelijk van de gebruikte matrix kunnen matrixeffecten resulteren in veranderde stabiliteit van de analiet, complexformatie met andere aanwezige stoffen, of binding van de analiet met het monsternamemateriaal. Meer inzicht in deze matrixeffecten zal leiden tot verbeterde analytische methoden en prestaties, maar bovenal tot verbeterde patiëntenzorg en onderzoek.



Publication list

1. Koster RA, Alffenaar JW, Botma R, Greijdanus B, Uges DR, Kosterink JG, Touw DJ. The relation of the number of hydrogen bond acceptors with recoveries of immunosuppressants in dried blood spot analysis. *Bioanalysis*. 7(14) (2015).
2. Koster RA, Touw DJ, Alffenaar JW. Dried blood spot analysis; facing new challenges. *Journal of Applied Bioanalysis*. 1(2), 38-41 (2015).
3. Koster RA, Alffenaar JW, Botma R, Greijdanus B, Touw DJ, Uges DR, Kosterink JG. What is the right blood hematocrit preparation procedure for standards and quality control samples for dried blood spot analysis?. *Bioanalysis*. 7(3), 345-351 (2015).
4. Koster RA, Greijdanus B, Alffenaar JW, Touw DJ. Dried blood spot analysis of creatinine with LC-MS/MS in addition to immunosuppressants analysis. *Anal. Bioanal Chem.* 407(6), 1585-1594 (2015).
5. Koster RA, Vereecke HE, Greijdanus B, Touw DJ, Struys MM, Alffenaar JW. Analysis of remifentanyl with liquid chromatography-tandem mass spectrometry and an extensive stability investigation in EDTA whole blood and acidified EDTA plasma. *Anesth. Analg.* 120(6), 1235-1241 (2015).
6. Koster RA, Botma R, Greijdanus B, Uges DR, Kosterink JG, Touw DJ, Alffenaar JW. The performance of five different dried blood spot cards for the analysis of six immunosuppressants. *Bioanalysis*. 7(10), 1225-1235 (2015).
7. Koster RA, Alffenaar JW, Greijdanus B, VanDernagel JE, Uges DR. Fast and highly selective LC-MS/MS screening for THC and 16 other abused drugs and metabolites in human hair to monitor patients for drug abuse. *Ther. Drug Monit.* 36(2), 234-243 (2014).
8. Koster RA, Alffenaar JW, Greijdanus B, VanDerNagel JE, Uges DR. Application of sweat patch screening for 16 drugs and metabolites using a fast and highly selective LC-MS/MS method. *Ther. Drug Monit.* 36(1), 35-45 (2014).
9. Koster RA, Alffenaar JW, Greijdanus B, Uges DR. Fast LC-MS/MS analysis of tacrolimus, sirolimus, everolimus and cyclosporin A in dried blood spots and the influence of the hematocrit and immunosuppressant concentration on recovery. *Talanta*. 115, 47-54 (2013).

10. Koster RA, Dijkers EC, Uges DR. Robust, high-throughput LC-MS/MS method for therapeutic drug monitoring of cyclosporine, tacrolimus, everolimus, and sirolimus in whole blood. *Ther. Drug Monit.* 31(1), 116-125 (2009).
11. Hofman S, Bolhuis MS, Koster RA, Akkerman OW, Assen S, Stove C, Alffenaar JW. Role of therapeutic drug monitoring in pulmonary infections: use and potential for expanded use of dried blood spot samples. *Bioanalysis.* 7(4), 481-495 (2015).
12. Dijkstra JA, Sturkenboom MG, Hateren K, Koster RA, Greijdanus B, Alffenaar JW. Quantification of amikacin and kanamycin in serum using a simple and validated LC-MS/MS method. *Bioanalysis.* 6(16), 2125-2133 (2014).
13. Robijns K, Koster RA, Touw DJ. Therapeutic drug monitoring by dried blood spot: progress to date and future directions. *Clin. Pharmacokinet.* 53(11), 1053-014-0197-3 (2014).
14. Vu DH, Koster RA, Bolhuis MS, Greijdanus B, van Altena R, Nguyen DH, Brouwers JR, Uges DR, Alffenaar JW. Simultaneous determination of rifampicin, clarithromycin and their metabolites in dried blood spots using LC-MS/MS. *Talanta.* 121, 9-17 (2014).
15. Vu DH, Koster RA, Wessels AM, Greijdanus B, Alffenaar JW, Uges DR. Troubleshooting carry-over of LC-MS/MS method for rifampicin, clarithromycin and metabolites in human plasma. *J. Chromatogr. B. Analyt Technol. Biomed. Life. Sci.* 917-918, 1-4 (2013).
16. Vu DH, Bolhuis MS, Koster RA, Greijdanus B, de Lange WC, van Altena R, Brouwers JR, Uges DR, Alffenaar JW. Dried blood spot analysis for therapeutic drug monitoring of linezolid in patients with multidrug-resistant tuberculosis. *Antimicrob. Agents Chemother.* 56(11), 5758-5763 (2012).
17. Vu DH, Koster RA, Alffenaar JW, Brouwers JR, Uges DR. Determination of moxifloxacin in dried blood spots using LC-MS/MS and the impact of the hematocrit and blood volume. *J. Chromatogr. B. Analyt Technol. Biomed. Life. Sci.* 879(15-16), 1063-1070 (2011).



Dankwoord

Het boekje is klaar, en een mijlpaal is bereikt. Wat begon als een handjevol ideeën over de uit te voeren onderzoeken, eindigde in een proefschrift met 12 artikelen. Het promoveren vanuit (en naast) de functie van Research Analyst had nog niet eerder plaatsgevonden binnen onze afdeling. Deze combinatie bleek dankzij een dynamische aanpak van het promotietraject een erg mooi samenspel tussen onderzoeksprojecten voor het laboratorium en het eigen promotieonderzoek. Het mooie aan dit onderzoek is dan ook dat veel van de resultaten en opgedane kennis direct zijn toegepast in het laboratorium en hebben bijgedragen aan het verbeteren van de patiëntenzorg. Voor het behalen van deze mijlpaal ben ik dankbaar voor de steun van iedereen om me heen.

Mijn dank gaat als eerste uit naar mijn promotoren en copromotor.

Beste Donald, al vanaf het eerste onderzoek heb je mij gesteund in het verwezenlijken van mijn promotietraject. Ik kon altijd binnenwandelen met vragen en ook na je pensionering was je altijd erg betrokken bij alle onderzoeken. Maar het belangrijkste is misschien wel dat het laboratorium, met het hoge kennisniveau en geavanceerde apparatuur, er is dankzij jouw jarenlange inspanningen. En dankzij die inspanningen kon ik uiteindelijk promoveren. Bedankt voor je steun, vertrouwen en de vrijheid die je me hebt gegeven tijdens alle onderzoeken.

Beste Jos, ondanks jouw ontzettend drukke baan als hoofd van de afdeling Klinische Farmacie en Farmacologie, heb je altijd tijd voor mij vrij kunnen maken. Tijdens het promotieoverleg was er regelmatig ruimte voor een grapje en dat zorgde voor een zeer fijne en gemoedelijke sfeer waarin wel spijkers met koppen geslagen werden. Bedankt voor de goede begeleiding tijdens mijn promotietraject.

Beste Jan-Willem, als er iemand vanaf dag één in mij geloofde, dan was jij dat wel. Je zag al snel in dat er meer uit mijn onderzoeken te halen was dan alleen dat eerste artikel. Jouw positieve instelling en voortvarende aanpak in nieuwe onderzoeken zijn bewonderenswaardig en hebben de afgelopen jaren dan ook gezorgd voor een zeer fijne en efficiënte samenwerking. Je hebt me ook regelmatig betrokken bij nieuwe interessante onderzoeken en publicaties die geschreven konden worden en ik hoop dat er in de toekomst nog veel gezamenlijke projecten zullen volgen. Als echte co-promotor heb jij je altijd enorm voor mij ingezet en daarvoor ben ik je zeer dankbaar.

Graag zou ik de beoordelingscommissie, bestaande uit Prof. dr. I.P. Kema, Prof. dr. N.C. van de Merbel en Prof. dr. G.W. Somsen, willen bedanken voor het beoordelen van het manuscript.

Beste Daan, in de paar jaar dat je hoofd van het laboratorium bent, heb je al bij kunnen dragen aan zes artikelen die ik gebruik voor mijn proefschrift. Ondanks dat je het ontzettend druk hebt als hoofd van het laboratorium geeft dit wel aan hoe betrokken je bent bij alle onderzoeken. Bedankt voor alle steun en betrokkenheid tijdens mijn onderzoek. Aangezien er behoorlijk wat onderzoeksaanvragen en interessante projecten klaar staan, zullen we maar zeggen dat onze samenwerking nog maar net is begonnen.

Beste Ben, van alle taken die je hebt als hoofdanalist draag je onderzoek wel het meest een warm hart toe. Dankzij jouw rustige instelling leken grote problemen altijd wat minder erg, en werd de soep nooit zo heet opgediend. Bedankt dat je me altijd gesteund hebt tijdens mijn onderzoek en dat we in goed overleg altijd overal uitkwamen.

Beste Erwin, jouw encyclopedische kennis doet mij telkens weer versteld staan. Naast analytische wetenswaardigheden is het natuurlijk altijd leuk om te weten dat voor de duurste koffie (Kopi Loewak) de koffiebonen uit de ontlasting van een civetkat worden gevestigd. En als ik tijdens mijn onderzoek een sparringpartner nodig had kon ik altijd bij jou terecht om te brainstormen, ook al was dat tijdens het sporten. Gelukkig ging het niet altijd over het werk. Belangrijke levensvragen als *hoe maak je de beste mojito?* en *wat is nu een lekkere whisky of Belgisch biertje?* maakten heel wat avonden tot een succes. Ook stond je tijdens de afronding van mijn promotieonderzoek altijd klaar om mee te denken en te helpen. Bedankt voor alle hulp en bedankt dat je mijn paranimf wilt zijn.

Beste Eli, het eerste artikel hebben we samen geschreven. Destijds heb ik veel van jou opgestoken over het schrijven van een artikel en de goede afronding van dit traject was misschien wel de basis voor mijn promotie. Bedankt voor de fijne samenwerking.

Beste Mathieu, Kim en Arianna, onze promotietrajecten overlaptten elkaar voor het grootste deel. De fijne onderlinge sfeer en open houding heb ik altijd heel fijn gevonden. Zoals Mathieu zou zeggen: Merci!

Dear Hoa, your project started the dried blood spot research and together we have worked on several method developments. After you finished your thesis and went back to Vietnam, the dried blood spot research continued and has led to new and improved methodologies, but the foundations were laid in your project. Thank you for the pleasant time that we worked together and for all the nights we drank mojitos and Belgium beers.

Beste Kai, Gerben, Albert-Jan, Hiltjo, Mireille, Jan, Justine, Renella, Pauline, Tanja, Annalie, Stephan, Ingrid, Ellen, Anet en Marieke, als collega's van het laboratorium wil ik jullie allemaal

bedanken voor alle steun en belangstelling tijdens mijn onderzoeksperiode. Zonder een grote groep kundige collega's had er niet een dergelijk kwalitatief hoogstaand laboratorium kunnen zijn. Jullie zijn de fundamenten van het lab en dus mede dankzij jullie inzet is mijn promotietraject mogelijk geweest.

Ook is er een aantal co-auteurs waar ik vooral een fijne samenwerking op afstand mee had. Joanneke, Hugo en natuurlijk Michel, jullie waren altijd enthousiast en erg betrokken bij het betreffende onderzoeksproject. Als er vragen waren over het onderzoek of de publicatie overlegden we meestal via de email, maar er zijn ook de nodige telefonische sessies geweest die altijd erg verhelderend waren. Bedankt voor de prettige samenwerking.

Zonder de hulp van mijn zeer gewaardeerde studenten Marieke, Ruben, Gardine en Rixt had dit proefschrift nooit zo snel af kunnen zijn. Allemaal heel erg bedankt! In het bijzonder wil ik Rixt bedanken voor haar inzet voor het laatste onderzoek, en de periode erna, dat heeft geresulteerd in wel vier artikelen.

Beste Annemiek, Wianda en Jessica, als ik bij jullie binnenloop is er altijd een warm onthaal en jullie staan altijd klaar om alles in goede banen te leiden. Heel erg bedankt voor al jullie steun in de afgelopen jaren en in de laatste fase van het promotietraject.

Het lijntje kan niet altijd gespannen staan. Gelukkig heb ik een aantal goede vrienden (en ex-collega's) die me het werk af en toe even laten vergeten. Martin, Hendriëtte, Roderik, Richard, Marco en Lesley, allen bedankt voor de leuke (motor)weekendjes weg en alle lol die we altijd hebben.

Beste Martin, ook al woon je jammergenoeg niet meer in Groningen, toch vind je nog regelmatig de tijd om gezellig langs te komen voor bijvoorbeeld een ouderwets potje snooker of gewoon een biertje en een goed gesprek. Ik ben blij dat onze vriendschap niet beperkt wordt door de afstand. Bedankt dat je mijn paranimf wilt zijn.

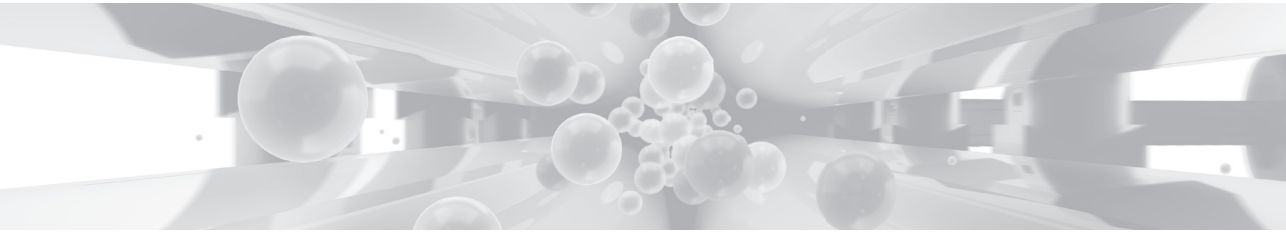
Ook wil ik al mijn familie bedanken voor hun interesse, steun en vooral welkome afleiding de afgelopen jaren. Wouter, Carolien, Nova, June (die steun gaf vanuit de buik), Oma, Willy, Arnold, Patricia, Casper en natuurlijk Pieter en Ina bedankt.

Lieve pap en mam. Jullie drukken me altijd op het hart dat ik plezier moet hebben in mijn werk en ik ben ervan overtuigd dat dat een voorwaarde is om goed te worden in je werk. Ik had blijkbaar zoveel plezier in mijn werk dat het resulteerde in dit promotieonderzoek. Gelukkig kon ik bij jullie altijd mijn verhaal kwijt en konden we met regelmaat langskomen

in Friesland om even compleet tot rust te komen op het water. Ik ben blij en dankbaar dat jullie er altijd voor me zijn.

Mijn allerliefste Karin, wat ben ik blij dat wij elkaar gevonden hebben. Vanaf het begin van onze relatie hebben we veel mooie dingen meegemaakt. Samen via China op vakantie naar Nieuw-Zeeland en Australië, en de komst van onze prachtige zoon Luca in 2013. En promoveren doe je natuurlijk niet alleen, dankzij jouw steun en liefde heeft het promotietraject zo soepel kunnen gaan. Bedankt dat je me de ruimte hebt gegeven om aan mijn proefschrift te kunnen werken. Jouw organisatietalent zorgde ervoor dat alles thuis in goede banen geleid werd, terwijl je zelf ook een drukke functie op de satellietapotheek hebt. Thuiskomen betekent 'relaxed' en stress laten we ergens onderweg naar huis achter. En als er een doctoraat in Candy Crush behaald zou kunnen worden dan was je nu ook doctor geweest. Lieve Luca, als ik weer eens te lang achter de laptop zat kwam je me zelf wel ophalen om samen te spelen (mee, mee). Dat deed me altijd weer beseffen dat er belangrijkere zaken op aarde zijn en dat het werk wel heel even kon wachten.

De afgelopen jaren zijn behoorlijk druk geweest, maar ik had het allemaal voor geen goud willen missen. Na afronding van deze mijlpaal kijk ik uit naar veel nieuwe en mooie onderzoeken. Maar vooral kijk ik uit naar de mooie toekomst samen met ons drietjes.



About the author

Remco Arjan Koster was born on the 9th of July 1979 in the city of Utrecht. At the age of 7, his family moved to the city of Hengelo. In 1996 he graduated from the HAVO at the Bataafse Kamp, a high school in Hengelo. In 2001, he received his Bachelor degree in Analytical Chemistry at the university of applied sciences, the Saxion Hogeschool Enschede.

From 2001 until 2005, Remco worked at Pharma Bio-Research (PRA Health Sciences) in Assen as a mass spectrometry technician. There he developed and validated numerous bio-analytical methods with the use of LC-MS/MS.

In 2005, Remco started working at the Laboratory for Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology (Head: prof. dr. Donald R.A. Uges) at the University Medical Center Groningen (UMCG) as a Research Analyst. There he became part of a team that performed analysis of patient samples for therapeutic drug monitoring, clinical toxicology and forensic toxicology (including 24 hour shifts on call). The team also provided practical courses for analysts and hospital pharmacists in training. In addition, he developed and validated new analytical methods for pharmaceuticals and drugs of abuse in human matrices using LC-MS/MS, guided interns and presented new developments as an (inter)nationally invited speaker. The development of a LC-MS/MS method for immunosuppressants in whole blood started in 2007 and resulted in the first published article in 2009. After that, analytical methods were developed for drugs of abuse in hair and sweat patches. These research projects laid the foundations for this PhD study, which started in Januari 2012.

Remco lives together with Karin Kruize and their son Luca. He enjoys playing with Luca, travelling to sunny places for windsurfing and scuba diving and riding his motorbike in the European mountains with friends and family.