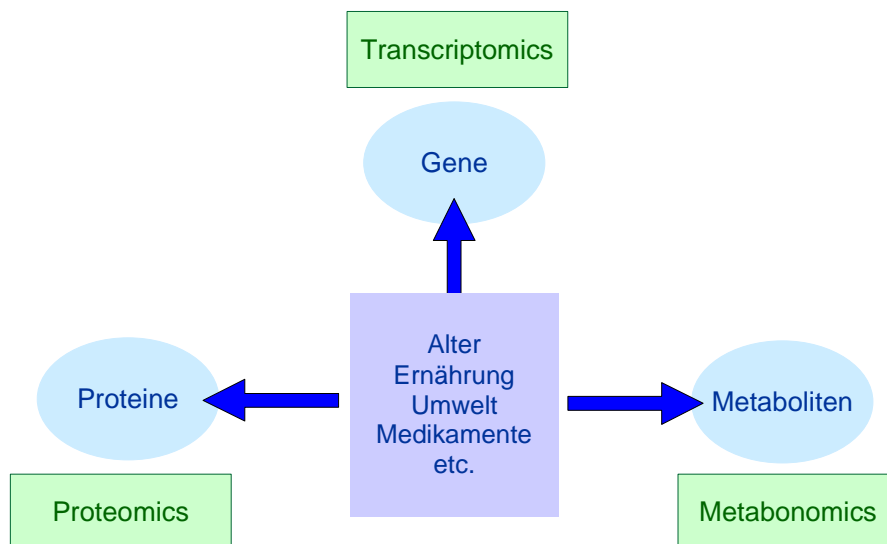


Was ist Metabonomics?

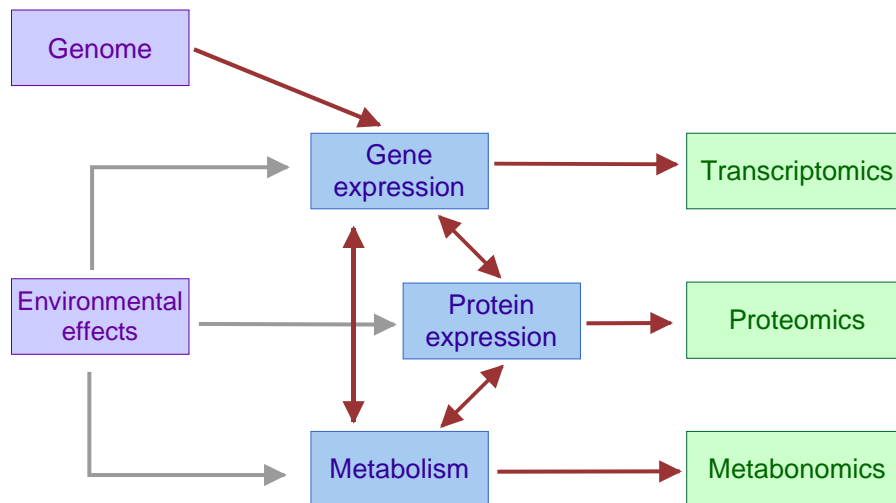
Jeder Organismus erzeugt in Abhängigkeit von seinen genetischen Voraussetzungen (Geschlecht, Rasse, Alter), den Umweltbedingungen (Kulturkreis, Lebensgewohnheiten, Nahrung) und normalen physiologischen Schwankungen ein zeitlich veränderliches Muster von Abbauprodukten, das in verschiedenen Körperflüssigkeiten (Blut, Urin, Hirnflüssigkeit) in unterschiedlicher Qualität und Quantität vorliegt. Ein gesundes Lebewesen wird demzufolge ein charakteristisches, „normales“ Metabolitenmuster z.B. im Blut oder im Urin aufweisen. Durch äußere Einfüsse wie z.B. der Einnahme einer Substanz (Medikament, Toxine) oder geänderten Umweltbedingungen (Luftverschmutzung), oder auch krankhafter biochemischer Prozesse im Körper wird sich dieses Muster ändern. Eine Analyse der Konzentration charakteristischer Substanzen (Metaboliten) in einer bestimmten Körperflüssigkeit kann nicht nur pathologischen Vorgänge detektieren, sondern diese auch lokalisieren und damit entscheidend die Diagnose von Krankheiten unterstützen. Mit der Bestimmung, Analyse und Interpretation solcher Metabolitenmuster beschäftigt sich metabonomics.



Laut Definition (Nicholson et al. Xenobiotica, 29 (1999), 181-189) bezeichnet metabonomics: die quantitative Bestimmung des zeitlich veränderlichen Metabolitenmusters eines Organismus als Reaktion auf pathophysiologische Veränderungen oder genetische Modifikationen.

Warum Metabonomics?

Viele Reaktionen von Organismen/Zellen auf Störungen manifestieren sich nicht in einer Änderung des Genoms oder wirken nur auf ein Protein. Metabolite dagegen stehen nach Transkription und Translation zur Verfügung und sind daher potentiell bessere Indikatoren für eine geänderte Enzymaktivität. Neben den bereits länger gebräuchlichen und etablierten „-omics“- Forschungsgebieten genomics/transcriptomics und proteomics, ist metabonomics daher als komplementäre Methode zu sehen, die zu einem tieferen Verständnis physiologischer Funktionen und pathologischer Fehlfunktionen von Organismen beitragen kann.



Metabonomics wird normalerweise an Körperflüssigkeiten (aber auch an Gewebeproben) durchgeführt, die relativ einfach (z.B. Blut) oder sogar nichtinvasiv (z.B. Urin) zugänglich sind. Jede dieser Flüssigkeiten weist ein charakteristisches Muster an Metaboliten (fingerprint) auf. Aufgabe der metabonomischen Analyse nicht nur die Quantifizierung bekannter Metabolitenmuster, sondern natürlich auch die Identifizierung von neuen, für das jeweilige Krankheitsbild, charakteristischen Metaboliten (Markern) und der Aufbau von allgemein zugänglichen Datenbanken.

Metabonomische Analysemethoden/ NMR- Metabonomik

Zur Analyse von Körperflüssigkeiten sind verschiedene analytische Methoden etabliert. Das heute noch am häufigsten verwendete Verfahren ist die Massenspektrometrie (MS), meist in Kopplung mit einem Trennverfahren wie Chromatographie (GC, HPLC). Diese Methode hat neben dem Vorteil ihrer Nachweisstärke aber den Nachteil der vorher notwendigen Auftrennung der Analyten, oder Derivatisierung bestimmter Verbindungen um sie der Analyse zugänglich zu machen. Diesen Nachteil hat die in den letzten Jahren immer stärker im metabonomischen Sektor zum Einsatz kommende NMR- Spektroskopie nicht. Mit Hilfe der NMR- Metabonomik können relative geringe Mengen (maximal 500µl) an Körperflüssigkeiten zerstörungsfrei, einfach (Durchflussverfahren), schnell (wenige Minuten pro Spektrum, Hochdurchsatz möglich) und direkt (ohne oder mit geringfügiger Vorbehandlung) vermessen werden. Das gemessene Spektrum beinhaltet die Signale aller (im Normalfall) Wasserstoffatome, sämtlicher in der Probe vorhandenen Substanzen, d.h. es bildet die qualitative und quantitative Information aller Substanzen/Metabolite der Probe ab und hat damit einen entscheidenden Vorteil gegenüber anderen Analyseverfahren. Zur Analyse solcher, oft sehr komplexer, Spektren gibt es verschiedene Ansätze, wie z.B. Methoden der Mustererkennung (PR- pattern recognition, PCA- principle component analysis) ohne a priori Zuordnung des Signals zu einer Substanz, oder die Zuordnung charakteristischer Signale zu einer Substanzen vor der anschließenden Quantifizierung. Trotz der oftmals starken Überlagerung von Signalen in eindimensionalen Spektren kann meist eine exakte Quantifizierung vorgenommen werden, da nur ein Signal (oftmals stehen sogar mehrere zur Verfügung) pro Analyt ausreicht. Der gravierendste Nachteil der NMR- Spektroskopie ist die geringere Nachweisempfindlichkeit im Vergleich zur Massenspektrometrie (MS), was aber durch moderne Hochfeldgeräte, neue technische Entwicklungen (z.B. Cryoprobekopf) teilweise kompensiert wird.

NMR- Spektroskopie in Kombination mit Mustererkennungsverfahren (PCA) wurde bereits erfolgreich zur Analyse der normalen physiologischen Variabilität des Metabolitenmusters, oder zur Identifizierung von genetischen Manipulationen (bei Versuchstieren) eingesetzt. Ein weiteres interessantes Anwendungsgebiet ist die Untersuchung der Wirksamkeit/Toxizität

neu entwickelter pharmazeutischer Wirkstoffe. Es kann zum einen gemessen werden, ob das neue Medikament den gewünschten Effekt erzielt und zum anderen ob Metaboliten auftreten, die auf ungewünschte Nebenwirkungen schließen lassen. Darüber hinaus kann der zeitliche Verlauf von Metabolitenkonzentrationen untersucht werden (Pharmakokinetik, Therapiekontrolle). Metabonomics wird daher bereits von vielen pharmazeutischen Unternehmen im Wirkstoffentwicklungsprozess eingesetzt. Wie schon angedeutet, führt die NMR- Metabonomik zu einer verbesserten Diagnostik (Früherkennung) von Krankheiten, die mit einer Veränderung des Metabolitenmusters einhergehen. Die NMR- Metabonomik ist mittlerweile neben der Massenspektrometrie (MS) als metabonomics- Methode etabliert.

Was sieht man im NMR-Spektrum? Beispiele aus der Praxis

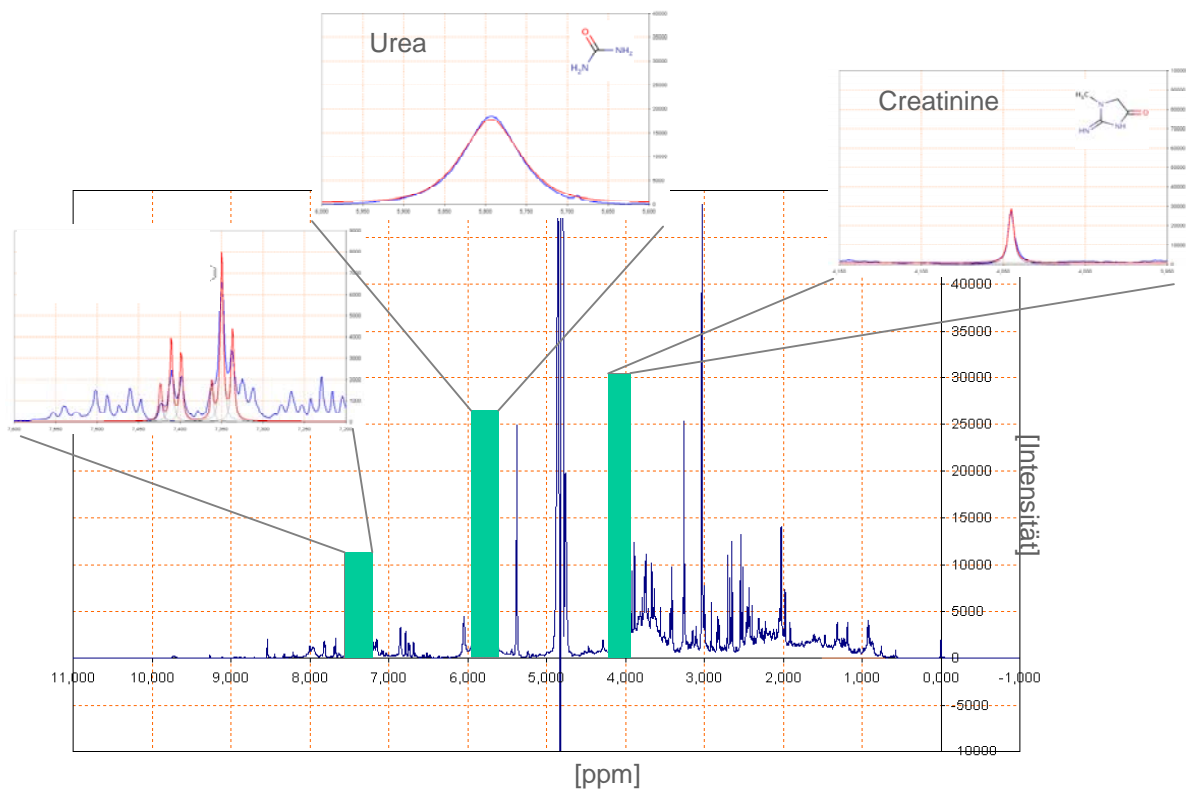
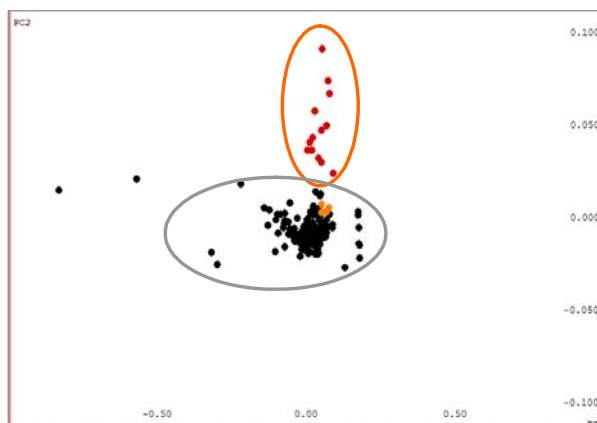


Abbildung 1: NMR-Spektrum von Urin eines Versuchstieres. Mit speziellen Programmen und rechnerischen Methoden ist es möglich, sowohl einzelne Substanzen zu identifizieren, als auch zu quantifizieren. Diese Ergebnisse können z.B: in der statistischen Datenanalyse zur Untersuchung großer Kollektive verwendet werden.



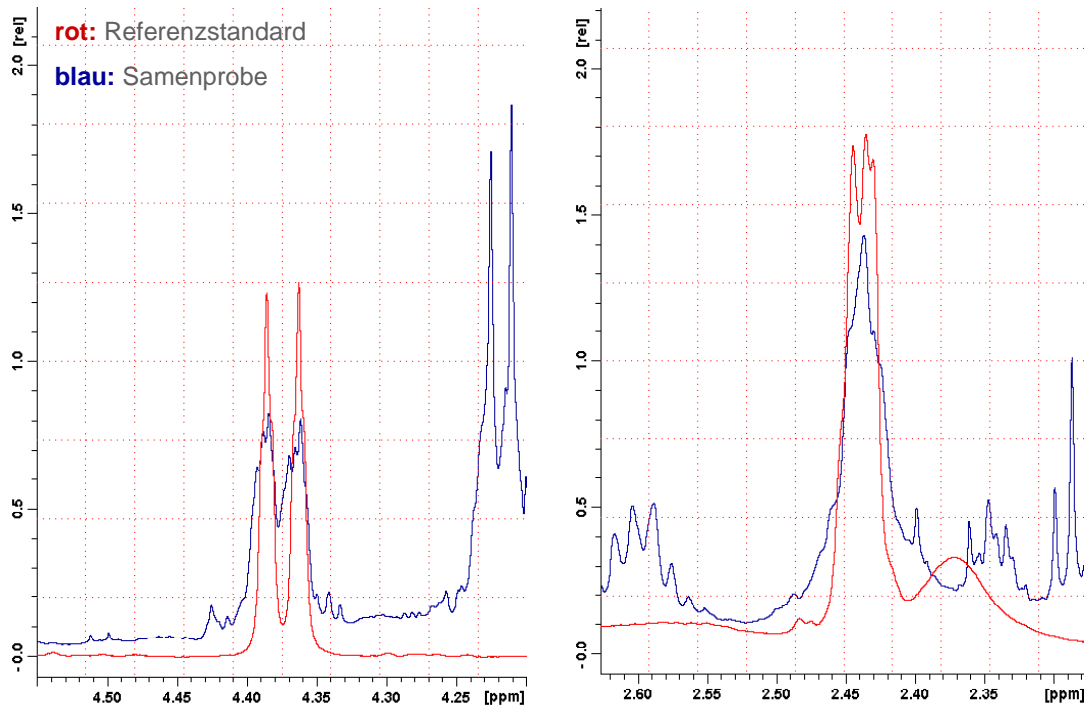


Abbildung 2: Identifizierung von Substanzen in z.B. Pflanzenextrakten anhand eines Referenzstandards. Anschließend sind Aussagen über den absoluten Gehalt dieser Substanz möglich. Dies wird insbesondere bei der Zuchtselektion angewandt.

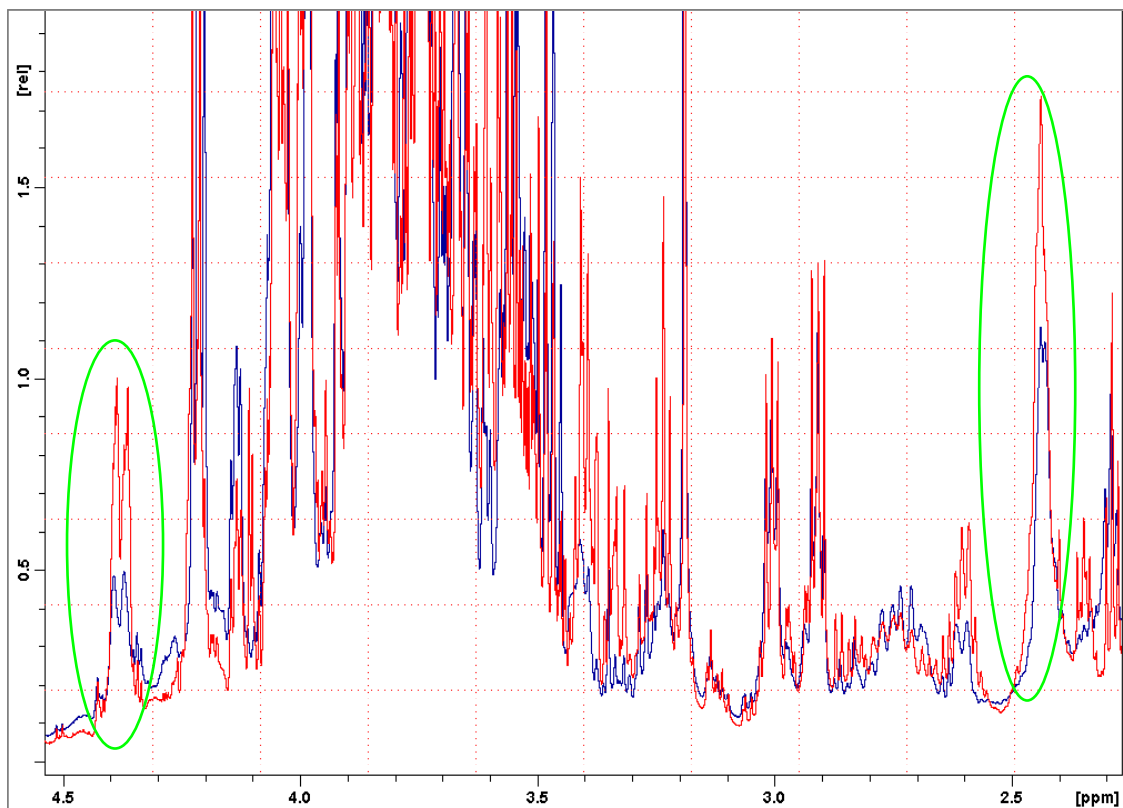


Abbildung 3: Extrakte unterschiedlicher Pflanzen mit signifikant unterschiedlichem Gehalt der gewünschten Substanz. Mit NMR können nicht nur qualitative Unterschiede gefunden werden, sondern auch Aussagen über den absoluten Gehalt getroffen werden.