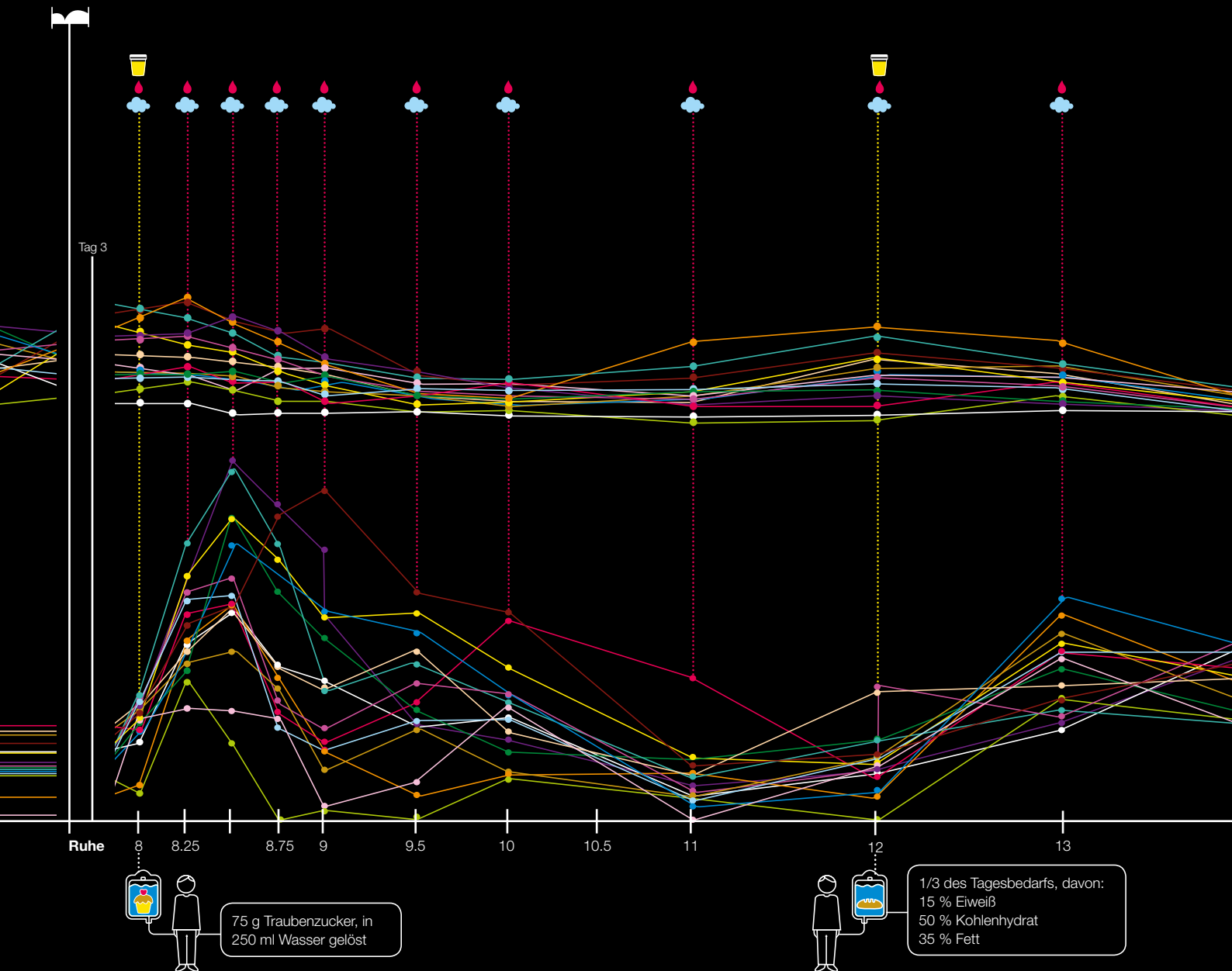


Unser Körper – das unbekannte Wesen

Essen, trinken, verdauen, nichts scheint selbstverständlicher für uns. Aber was dabei auf molekularer Ebene vor sich geht, wird erst nach und nach erforscht. Das erstaunliche Ergebnis: Der Stoffwechsel jedes Menschen ist individuell wie sein Fingerabdruck

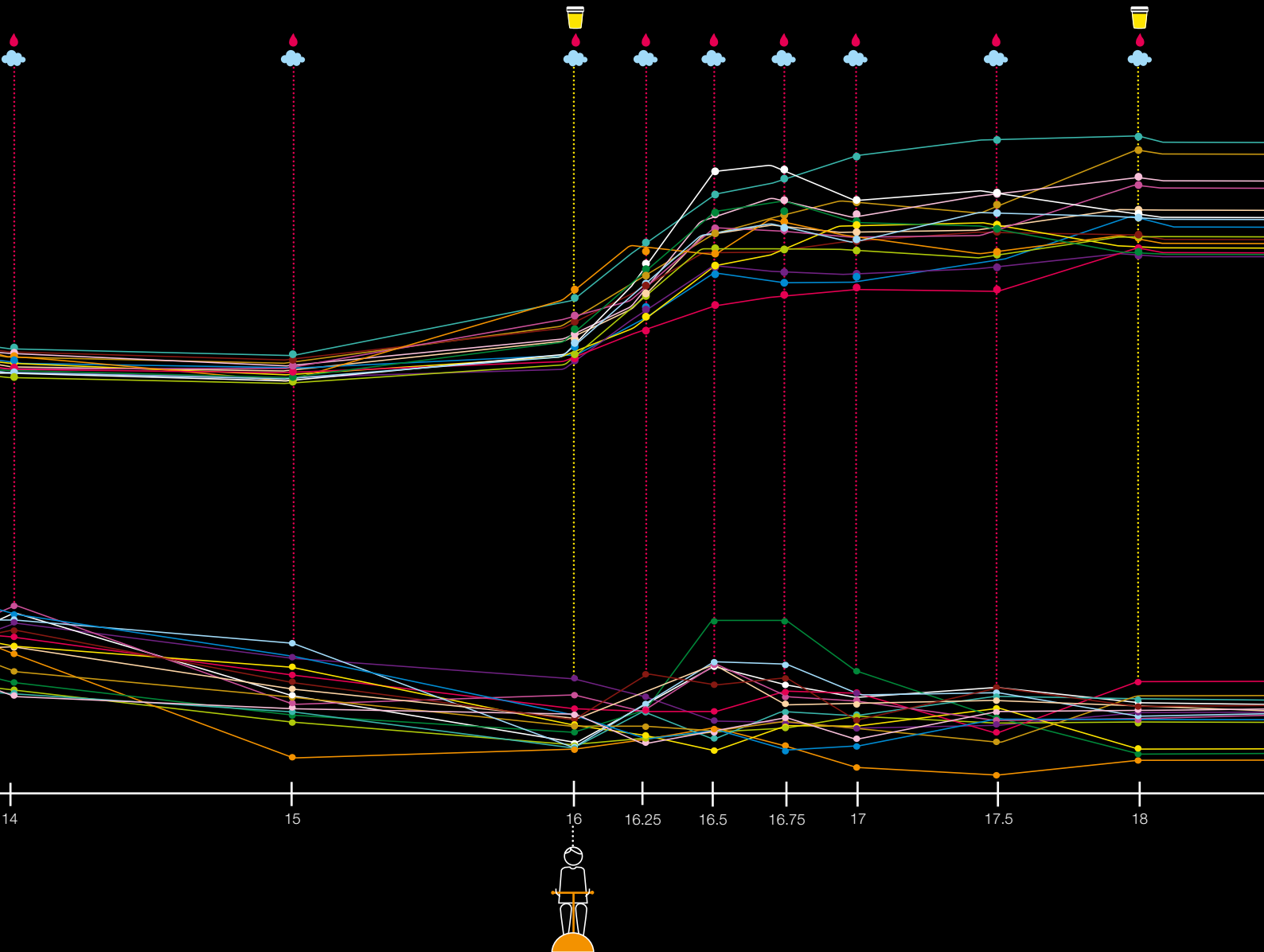


Die Grafik zeigt das Konzentrationsprofil zweier – zufällig ausgewählter – Metaboliten im Plasma der 15 Probanden der Hu-Met-Studie. Im Zeitverlauf des 4-tägigen Experimentes mit den verschiedenen diätetischen Interventionen zeigt sich deutlich die intra- und interindividuelle Varianz

Links

www.wzw.tum.de/nutrition
www.molekulare-sensorik.de
portal.mytum.de/film/metabolomics_flash

Ganz unauffällig steht im Arbeitszimmer von Professor Hannelore Daniel im Wissenschaftszentrum Weihenstephan (WZW) ein Glasfläschchen auf dem Regal. Sein schlichtes Äußeres verrät nicht, dass es einen wertvollen Inhalt hat: fünf Gramm Glukose mit dem Kohlenstoff-Isotop ¹³C im Wert von rund 500 Euro. Diese stabile Variante des Kohlenstoffs ist ein wenig schwerer als das weitaus häufigere ¹²C, weil sie ein Neutron mehr im Atom hat, und kommt in der Natur nur zu 1,1 Prozent vor. „Die fünf Gramm Zucker sind mein Weihnachtsgeschenk“, sagt die Ernährungswissenschaftlerin. „Demnächst werde ich sie essen und danach in regelmäßigen Abständen Blut- und Urinproben abgeben. So können wir verfol-

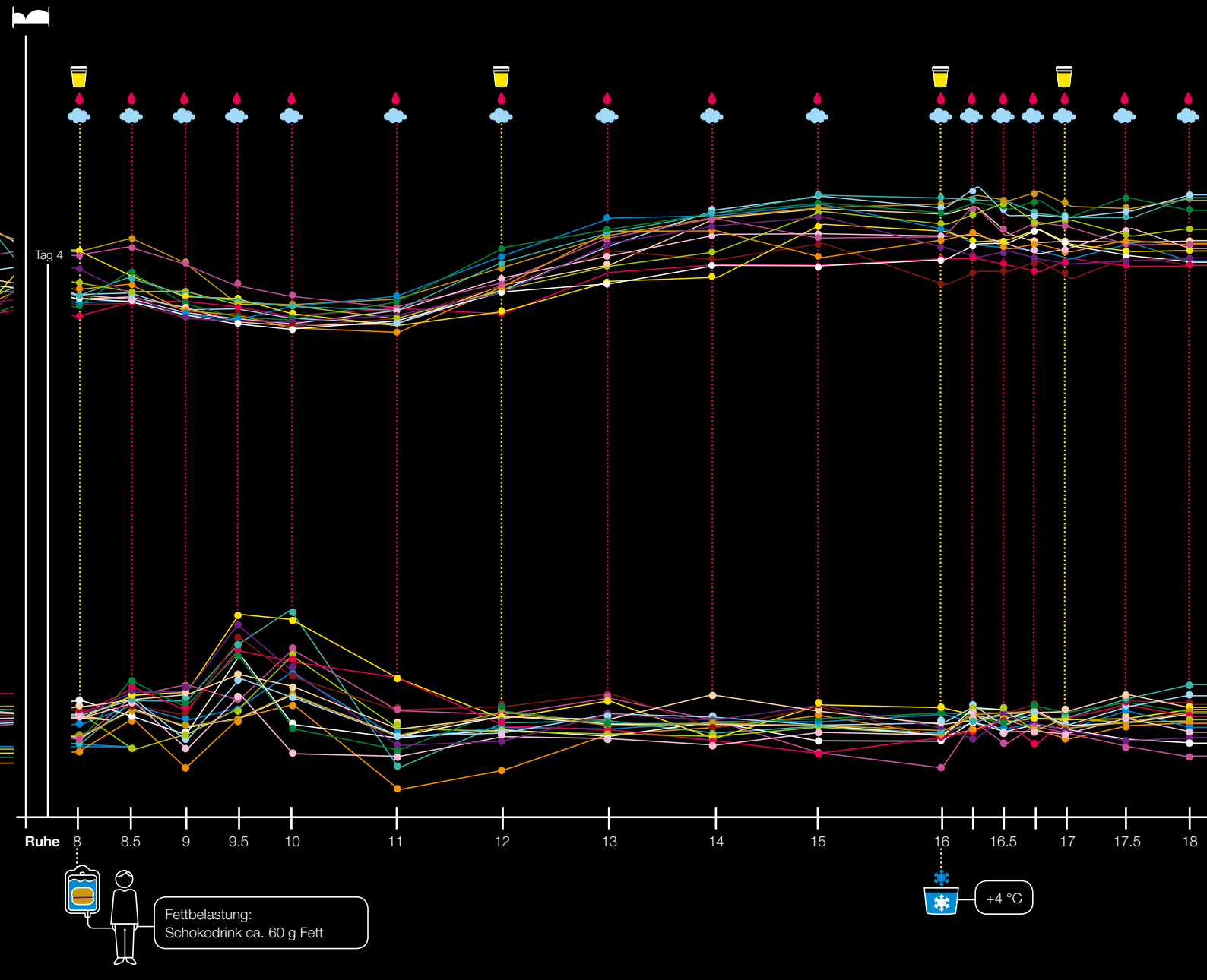


gen, welche Stoffwechselforgänge in meinem Körper ablaufen.“ Selbstversuche haben in der Ernährungswissenschaft Tradition. Um herauszufinden, was in ihrem Inneren geschieht, haben Forscher oft ausgefallene Diäten angewendet oder lange gefastet und sich dabei wissenschaftlich beobachtet. So gibt es etwa eine Arbeit aus den 50er-Jahren, bei der vier der sechs Autoren selbst Probanden waren. Sie ließen sich Katheter in die Portalvene, die nährstoffreiches Blut in die Leber transportiert, legen und maßen, was das Organ im Fastenzustand aus diesem Blut herausnimmt bzw. an es abgibt. Auch Hannelore Daniel, die den Lehrstuhl für Ernährungsphysiologie an der TUM innehat, probiert gern Versuchsmethoden, die sie später an Probanden

anwendet, zunächst an sich selbst aus. So hat sie beispielsweise tagelang Online-Messgeräte für den Blutzuckerspiegel getragen und erprobt. Die Anwendung der wertvollen Glukose bedeutet aber einen Schritt in die Zukunft.

Metabolomik ist Stoffwechselforschung

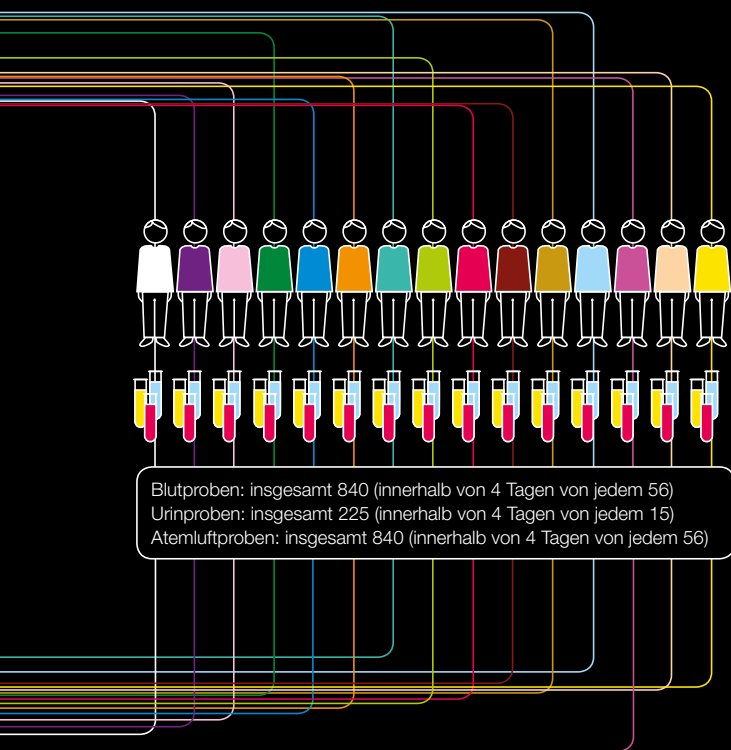
Zunächst einmal geht es im Grunde darum, zu erfahren, was in unserem Körper abläuft, wenn er Nahrung verdaut und die Nährstoffe verwertet. In groben Zügen sind die Vorgänge dabei bekannt, aber was noch fehlt, sind die chemischen und molekularen Details. Schließlich ist hier eine gigantische chemische Fabrik an der Arbeit, die letztlich Energie für unseren Körper produ- ▶



Das Probenmaterial wird in großen Mengen automatisiert zur Analyse vorbereitet

ziert, egal, ob wir vorher Schwarzwälder Kirschtorte oder Sushi gegessen, Limonade oder Milchshake getrunken haben. Tausende von organischen Säuren, Eiweißstoffen, Zuckermolekülen und anderen chemischen Produkten entstehen und vergehen dabei und beeinflussen sich gegenseitig.

Dieses Netzwerk an Prozessen und seine dynamischen Änderungen aufzuklären, damit beschäftigt sich seit einigen Jahren der Wissenschaftszweig Metabolomik. Er erhielt seinen Namen analog zu den anderen Forschungsrichtungen, die sich mit biologischen Vorgängen befassen: Genomik erforscht die Gene, Transkriptomik die Übertragung der Informationen in der Zelle und Proteomik die Gesamtheit der Proteine und ihr Zusammenspiel. Angesichts der Bedeutung unse-



1 Wie bestimmt man die Menge der enthaltenen Bestandteile?

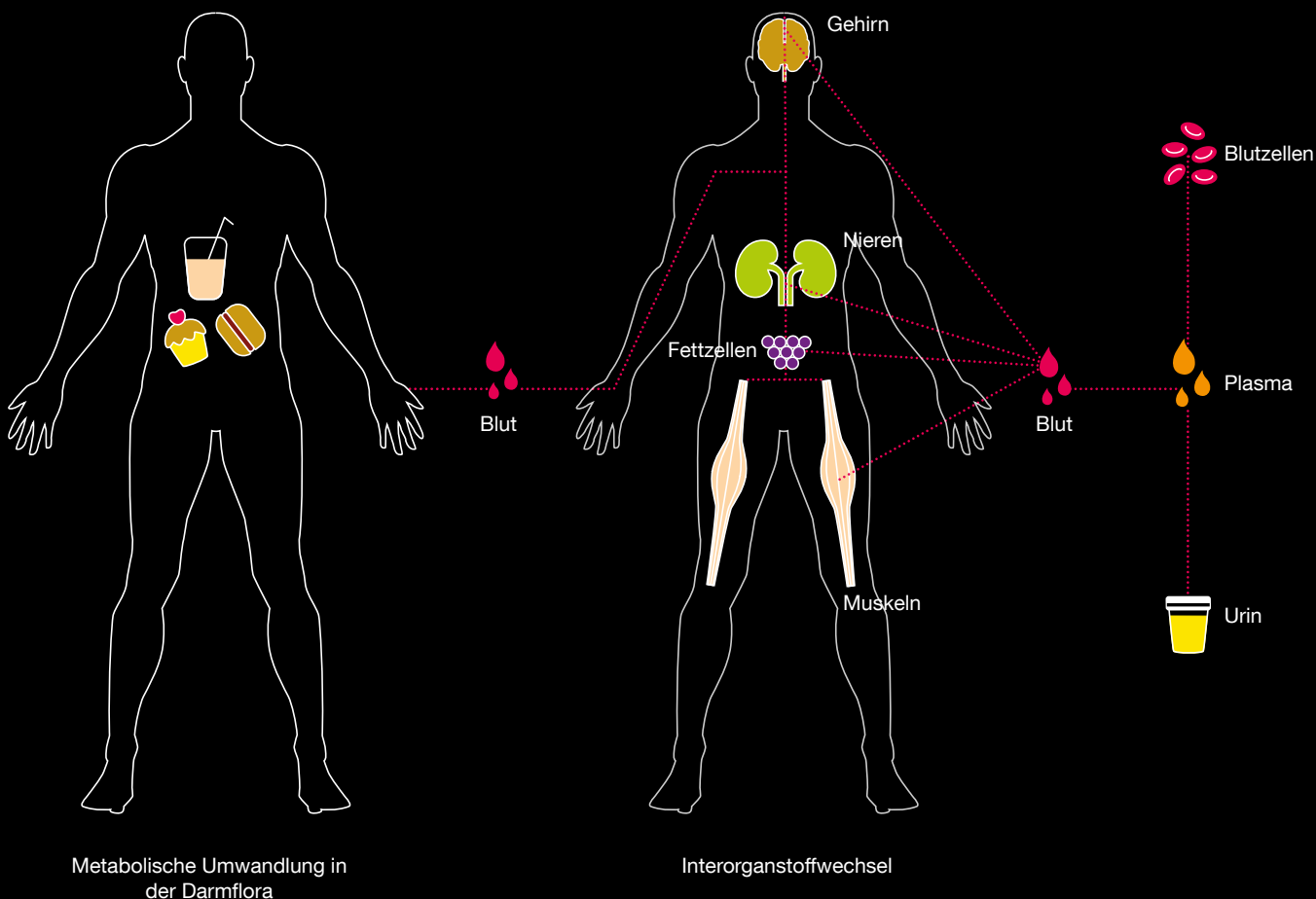
Die vorbehandelten Proben werden in das Massenspektrometer überführt. Man verdampft dort das Lösungsmittel und ionisiert die Substanzen durch Anlegen einer Hochspannung an die Spitze einer Metallkapillare. Diese nun elektrisch geladenen Ionen durchlaufen im elektromagnetischen Feld des Massenspektrometers je nach ihrem Molekulargewicht unterschiedliche Wege und treffen am Ende des Messgeräts auf einen Detektor, der zählt, wie viele Ionen ankommen. Ein Vergleich mit markierten Standardsubstanzen erlaubt die Eichung des Geräts. So kann die Konzentration der einzelnen Metaboliten durch einen Vergleich der Signalgröße von Ziel- und Standardsubstanz berechnet werden.

res Stoffwechsels für die Gesundheit ist es erstaunlich, dass bis heute relativ wenig darüber bekannt ist. Das hat zwei Gründe: Erstens mag sich kaum jemand der Mühsal aussetzen, regelmäßig Proben aus seinem Körper entnehmen zu lassen. So bleibt die Verdauung für die Forscher immer noch eine Art Black Box, bei der man genau weiß, was hineingeht und herauskommt, aber nur sehr begrenzt, was dazwischen passiert. Und zweitens fehlten bis vor wenigen Jahren die analytischen Mittel, um derart komplizierte Vorgänge quantitativ zu erfassen und qualitativ exakt aufzuklären. Nun aber haben sich Hannelore Daniel und ihr TUM-Kollege, der Lebensmittelchemiker Professor Thomas Hofmann, mit Experten vom Helmholtz Zentrum München zu einem schlagkräftigen Netzwerk, der Munich

Functional Metabolomics Initiative, zusammengefasst, um die Forschung auf diesem Gebiet voranzubringen. Jeder trägt seine Stärken zu dem Projekt bei – derzeit wird die Zusammenarbeit im Rahmen der sogenannten HuMet-Studie erprobt.

Junge Männer liefern ihr Metabolom

15 junge, gesunde Männer unterzogen sich dazu vier Tage lang einem standardisierten Programm im Human Study Center des WZW. Sie wurden nach Alter und Body-Mass-Index ausgewählt, damit sie eine möglichst homogene Gruppe bildeten. Man erhob alle wichtigen körperlichen Daten wie Gewicht, Blutdruck, Körperzusammensetzung, Leistungsfähigkeit oder Grundumsatz. Bei Beginn der Studie mussten sie zunächst ▶



Metabolomik-Anwendungen beim Menschen beschränken sich meist auf die Analyse von Blutplasma, Urinproben und in Einzelfällen auch von Blutzellen, d. h. Proben, die leicht und minimal-invasiv zu gewinnen sind. Die Veränderungen von Metabolitspiegeln im Blut und Urin sind dabei nicht nur das Resultat von Nahrungsaufnahme und Stoffwechsel (Interorganstoffwechsel), sondern zum Teil auch bestimmt von der Funktion der Darmflora des Menschen. So sind häufig aufgrund der unterschiedlichen Fähigkeit der Darmflora zur Umwandlung von Nahrungsinhaltsstoffen zu bestimmten Metaboliten „Responder“ von „Non-Respondern“ unterscheidbar

Grafik: edlundsepp

36 Stunden fasten; während dieser Zeit gaben sie alle zwei Stunden Blut ab, dazu kamen Urin- und Atemluftproben. Danach erhielten sie standardisierte Flüssignahrung. Im Laufe der nächsten Tage durchliefen die Probanden schließlich mehrere Tests: Sie mussten eine genau abgemessene Zuckerlösung trinken, später eine bestimmte Menge Fett zu sich nehmen, auf dem Ergometer strampeln und in der Kälte frieren. Und immer wurden zu vorher festgesetzten Zeitpunkten von ihren Körperflüssigkeiten Proben entnommen. „Eine derartig systematische und umfassende Studie am Menschen hat bisher noch niemand auf der Welt gemacht“, sagt Hannelore Daniel. Am Ende hatte man eine Vielzahl von Proben – von jedem Teilnehmer 56 Blut- und 15 Urinproben – gewonnen, die

jetzt analysiert werden müssen. Jeder Forscher bekam von allen (Blut-)Plasma- und Urinproben eine Portion und benutzt nun zur Analyse jeweils seine Messmethoden. Am Lehrstuhl von Professor Hofmann stehen dabei vor allem Verfahren der Tandem-Massenspektrometrie (Kasten 1), der Hochleistungschromatographie (Kasten 2) und der Kernresonanz(NMR)-Spektroskopie (Kasten 3) im Vordergrund. Einige wichtige Schritte sind dabei schon automatisiert. Nach einer geeigneten Probenvorbereitung gibt man die Plasma- oder Urinprobe in den Analysenapparat und bekommt die Stoffe, die bestimmt werden, anschließend gar nicht mehr zu Gesicht. Sie geben sich nur noch in der Online-Auswertung durch Signale auf Schreibern und Bildschirmen zu erkennen.

2 Wie trennt man ein Substanzgemisch in seine Komponenten auf?

Die Hochleistungsflüssigchromatographie macht sich zur Auftrennung von Gemischen die Tatsache zunutze, dass Substanzen unterschiedlich schnell in anderen Stoffen absorbiert oder gelöst werden. Das Herzstück eines Chromatographen ist eine sogenannte Trennsäule. Ihre Innenwände sind mit einem dünnen Film einer Substanz belegt, die eine derartige Trennung der Bestandteile ermöglicht. Spült man nun ein Tröpfchen eines Substanzgemisches, das in einem sogenannten Eluenten gelöst ist, durch die Säule, so kommt es zu einer mehr oder weniger starken Wech-

selwirkung der Bestandteile des Gemisches mit dem Trennfilm. Die einzelnen Stoffe durchwandern je nach ihren physikalischen Eigenschaften die Säule unterschiedlich schnell und kommen getrennt an deren Ende an.

Nach dem Verlassen der Trennsäule werden die einzelnen Substanzen massenspektrometrisch untersucht und somit kann man Informationen zur Identität und zur Quantität der einzelnen Metaboliten erhalten.

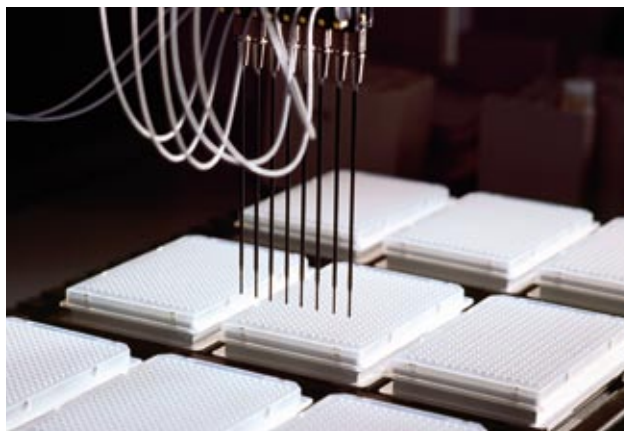
Bisher verwendeten Thomas Hofmann und seine Mitarbeiter diese Methoden der Höchstleistungsanalytik vor allem, um sensorisch aktive Biomoleküle in Lebensmitteln zu untersuchen. „Diese Moleküle regen Geschmacksrezeptoren auf der Zunge an“, erklärt der Lebensmittelchemiker den Zusammenhang zwischen Sensorik und Stoffwechsel. „Vor Kurzem wurde gefunden, dass es diese aber auch im Darm gibt. Da fragt man sich natürlich: Warum? Wir wollen untersuchen, welche Auswirkung die Aktivierung der Geschmacksrezeptoren im Verdauungstrakt auf das Stoffwechselfgeschehen und auf den Haushalt von Peptidhormonen hat, die zum Beispiel in der Sättigungsregulation eine Rolle spielen. So kamen wir vom Geschmack immer näher zur Metabolomik.“

Analytische Herausforderungen

Die Sensitivität und die Auflösung der analytischen Methoden sind in den letzten Jahren im Eilschritt verbessert worden, und das war auch nötig. „Das neue Fachgebiet wird ja erst dann richtig schlagkräftig, wenn es uns gelingt, möglichst viele Metaboliten und deren Dynamik im Stoffwechselgeflecht zu messen“, betont der Lebensmittelchemiker. „Anfangs konnten wir vielleicht Metaboliten aus zwei oder drei chemischen Klassen messen. Mit der Kernresonanz- und der Massenspektroskopie, wie wir sie hier einsetzen, können wir nun aber neue Fenster öffnen.“ Das ehrgeizige Ziel ist es, möglichst umfassend zu beobachten, wie der Stoffwechsel reagiert, wenn man eine bestimmte Nahrung oder einen Wirkstoff zu sich nimmt oder körperlichem Stress ausgesetzt wird. Thomas Hofmann zieht dazu einen bildhaften Vergleich heran: „Das ist wie bei einem Foto: Wir sehen den Stoffwechsel bisher nur als Bild mit geringer Pixelauflösung, wir wollen das Foto aber in Hochofflösung aufnehmen. Heute befinden wir uns auf dem Entwicklungsstand der Digitalkamera in den 80er-Jahren. Wir müssen die Auflösung unserer analytischen Kamera weiter erhöhen, um ein möglichst scharfes Bild aller Stoffwechselprodukte zu erhalten.“

Das Akkordeon des Metaboloms

Wenn in jeder Probe Dutzende von Stoffwechselprodukten gemessen werden, entsteht schnell eine riesenhafte Menge an Daten, die anschließend sortiert und statistisch ausgewertet werden muss. Das ist die Aufgabe der Bioinformatiker, die ebenfalls an dem Projekt beteiligt sind. „Wir setzen die Vielzahl an Informationen am Ende zu einem großen Bild zusammen“, sagt Professor Karsten Suhre vom Helmholtz Zentrum München, einer der Mitbegründer der Initiative. Bereits die ersten Auswertungsschritte der HuMet-Studie haben aufregende Ergebnisse erbracht: „Grundsätzlich reagiert jeder Mensch auf bestimmte Nahrungsbestandteile gleich“, sagt Hannelore Daniel, „aber in der Ausprägung gibt es große Unterschiede.“ Gibt man zum Beispiel den Probanden eine bestimmte Menge Traubenzucker, dann steigt ihr Blutzuckerspiegel zunächst an und nimmt danach wieder ab. Die Ergebnisse der HuMet-Studie offenbarten hier Erstaunliches: Anfangs, im nüchternen Zustand, waren die Werte extrem homogen. Aber nach der Zuckergabe zeigte jeder eine andere Antwort. „Natürlich gehen alle Werte nach oben, der Blutzucker ▶

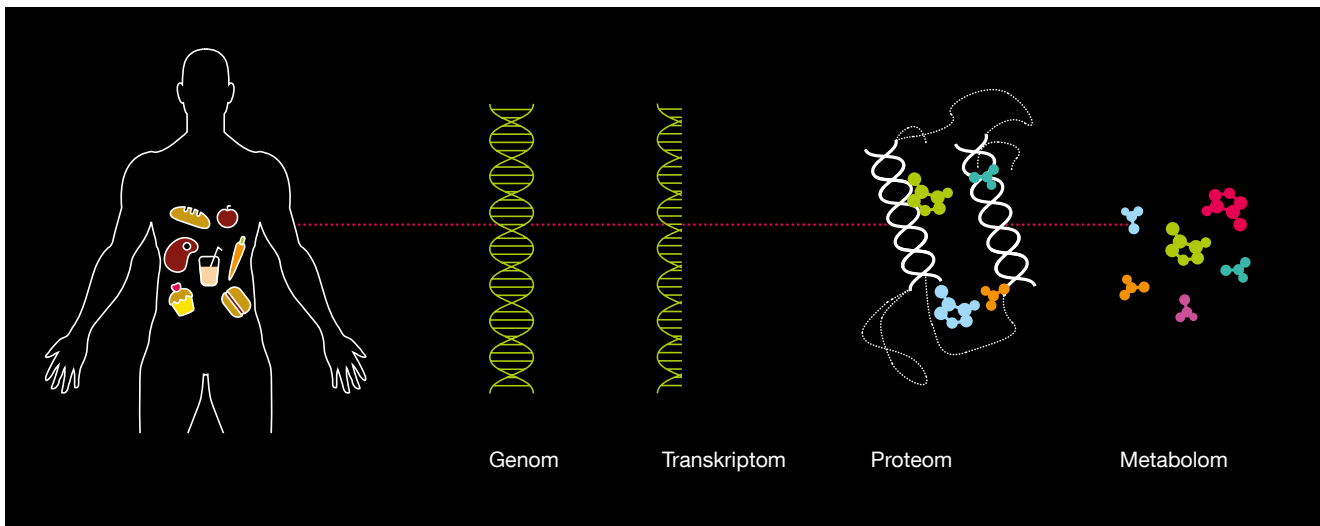


Pipettierroboter erlauben die Verarbeitung der Proben im Hochdurchsatzverfahren und gewährleisten höchste Genauigkeit und Reproduzierbarkeit.

3 Analyse von Urinproben mit Kernresonanz

Die Kernresonanz- oder NMR-Spektroskopie untersucht Moleküle oder Molekülkomplexe in ihrer natürlichen Umgebung, also in Lösung. Deshalb eignet sie sich gut für die Analyse von Urinproben. Dabei wird die Tatsache genutzt, dass manche Atomkerne aufgrund ihrer Eigendrehung – ihres Spins – und ihrer Ladung ein magnetisches Moment haben. Durch Einstrahlung von Impulsen mit einer geeigneten Radiofrequenz können die Atomkerne angeregt werden. Aus den von der Probe emittierten Signalen

kann der Analytiker Informationen über Bindung und Reihenfolge von Atomen in Molekülen der untersuchten Probe ableiten. Diese erscheinen für jeden Kern bei einer leicht unterschiedlichen Frequenz, die von der chemischen Umgebung des Kerns im Molekül abhängt. Nur wegen dieser sogenannten chemischen Verschiebung kann man die Kerne im Molekül überhaupt voneinander unterscheiden. Sie macht die atomare Auflösung der NMR-Spektroskopie möglich.



Grafik: edlundsepp

Metabolomik erfasst, quantifiziert und identifiziert die kleinen Moleküle in biologischen Proben, d. h. im biologischen System, und ist komplementär zu den anderen Querschnittstechnologien der Lebenswissenschaften. So erfasst die Transkriptom-Analyse die Gesamtheit der Boten-RNAs, die, ausgehend von den kodierenden Gensequenzen, in einem Genom gebildet werden, während die Proteom-Analyse die Gesamtheit der daraus resultierenden Proteine abbildet

muss ansteigen. Aber es ist hochinteressant zu sehen, wie unterschiedlich er ansteigt und wieder abfällt. Nach vier Stunden sind alle Probanden wieder gleich.“ Die Ernährungswissenschaftlerin vergleicht deshalb den menschlichen Stoffwechsel mit einem Akkordeon: Auch das lässt sich zusammenpressen und auseinanderziehen. Wie weit, das wollen die Forscher nun näher erkunden, und zwar nicht nur für die Verdauung von Zucker, sondern auch für Fett und Eiweißstoffe. Große Bedeutung wird dabei die Isotopenanalyse haben, und hier kommt wieder das Fläschchen auf Hannelore Daniels Regal ins Spiel. Denn Moleküle, die das schwerere Kohlenstoffatom ^{13}C in sich tragen, benehmen sich zwar chemisch genauso wie ihre leichteren Artgenossen, aber in den analytischen Messgeräten verhalten sie sich ein wenig anders. Deshalb kann man beispielsweise den markierten Zucker vom körpereigenen unterscheiden und seinen Weg durch den Stoffwechsel verfolgen. „Bisher sitzen wir an einer Autobahn und zählen weiße, schwarze, rote und grüne Autos, quan-

titativ und pro Zeiteinheit“, beschreibt die Ernährungswissenschaftlerin das Vorgehen bildlich. „Aber wir wissen nicht, woher sie kommen und wohin sie fahren. Das festzustellen wird erst dann möglich sein, wenn wir die Autos – also unsere Metaboliten – mit stabilen Isotopen markieren. Dann kann man sagen: Hier habe ich ein markiertes Zuckermolekül hineingegeben, und dort finde ich ein markiertes Citratmolekül wieder. Damit weiß ich, dieses ist aus jenem entstanden. Wir können also erkennen, wo die Autos auf der Autobahn herkommen und wohin sie fahren, ein großer Fortschritt.“

In der Zukunftsperspektive gehen Hannelore Daniel und Thomas Hofmann sogar noch ein Stück weiter. Sie möchten gerne im nächsten Schritt die Dynamik des Stoffwechsels beschreiben, also seinen zeitlichen Verlauf. „Dazu wollen wir unsere Verfahren so automatisieren, dass sie bei hoher Auflösung in kurzer Zeit eine Vielzahl von Einzelbildern liefern. Diese kann man dann wie bei einem ‚Daumenkino‘ zu einem kleinen Film kombinieren.“

Brigitte Röthlein