



Hannelore Daniel, Jg. 1954, studierte Ernährungswissenschaft an der Justus-Liebig-Universität Gießen und promovierte 1982. 1989 habilitierte Sie sich für Physiologie und Biochemie der Ernährung. Danach war sie bis Ende 1992 an der School of Medicine der Universität Pittsburgh (USA) tätig und wurde dann an die Universität Gießen auf den Lehrstuhl für Biochemie der Ernährung berufen. Seit Dezember 1998 ist sie Ordinaria für Ernährungsphysiologie und eine wissenschaftliche Direktorin im Zentralinstitut für Ernährungs- und Lebensmittelforschung an der Technischen Universität München. Hannelore Daniel untersucht mit einem breiten Spektrum von molekularen und zellbiologischen Methoden die Wirkungen von Nährstoffen auf die Genexpression, Proteinsynthese und das Metabolom. H. Daniel erhielt eine Reihe von wissenschaftlichen Auszeichnungen, so auch die Auszeichnung PRO MERITIS SCIENTIAE ET LITTERARUM des Bayerischen Ministeriums für Wissenschaft, Forschung und Kunst. 2003 wurde sie zum Mitglied der Nationalen Akademie der Wissenschaften Leopoldina ernannt und 2009 in den Bioökonomierat der Bundesregierung berufen. Hannelore Daniel war viele Jahre in der DFG-Senatskommission zur Beurteilung der Unbedenklichkeit von Lebensmitteln und in der European Technology Platform Food for Life tätig. Darüber hinaus war sie acht Jahre gewählte Fachkollegiatin der Deutschen Forschungsgemeinschaft. Sie ist Mitglied in Aufsichtsräten und diverser nationaler wie internationaler Fachgesellschaften und leitet das wissenschaftliche Beratergremium der neuen Joint Program Initiative der EU „A healthy diet for a healthy life“. Hannelore Daniel hat mehr als 300 wissenschaftliche Originalarbeiten sowie Übersichtsbeiträge und Bücher publiziert.

Renaissance der kleinen Moleküle

Neue Einblicke in den Stoffwechsel

Prof. Dr. Hannelore Daniel

Lehrstuhl für Ernährungsphysiologie, Technische Universität München

Pyruvat, Succinat, Fumarat, Oxalacetat, Mevalonat und Hydroxymethylglutaryl-CoA – wer erinnert sich nicht an seine Biochemieprüfungen. Allosterische Regulation, Substrate, Produkte, Metabolite. Generationen von Biochemikern haben uns die Grundlage für das Verständnis von Stoffwechselvorgängen geliefert und umfangreiche Lehrbücher der Biochemie und physiologischen Chemie stehen in den Regalen. Mit dem Einzug der Genetik, Molekular- und Zellbiologie ist dieser Wissensschatz vielfach jedoch in den Hintergrund gerückt.

Wir waren alle beseelt und davon überzeugt, dass nun endlich die Zusammenhänge von genetischer Varianz und Phänotyp sowie die Kontrolle auf der Ebene der mRNA und Proteine aufgeklärt und somit die Biologie umfassender verstanden werden können. Vor allem die Methoden zur Profilierung aller mRNA-Spezies (Transcriptomics) und Proteine (Proteomics) in biologischen Proben weckten Hoffnungen darauf, koordinierte regulative Netzwerke vorzufinden, die die häufig beobachteten pleiotropen Effekte eines biologischen Systems erklären können. Diese Hoffnungen wurden in Einzelfällen bestätigt – vielfach sind die Datensätze aber nur zur Überforderung der Wissenschaftler geeignet.

Prinzipien, Möglichkeiten und Grenzen

Metabolomics beschreibt in Analogie zu den anderen Profilierungstechniken alle Ansätze, die geeignet sind, Veränderungen im Pool der kleinen Moleküle bzw. die Gesamtheit aller Metabolite in einem biologischen System bzw. einer Probe qualitativ und/oder quantitativ zu erfassen. Metabolite stehen am Ende der Sequenz von Genom, Transkriptom und Proteom. Sie sind Bausteine biologischer Oligomere, Vorläufer für spezifische Synthesen und Intermediate in Stoffwechselwegen der Energiehomöostase. Metho-

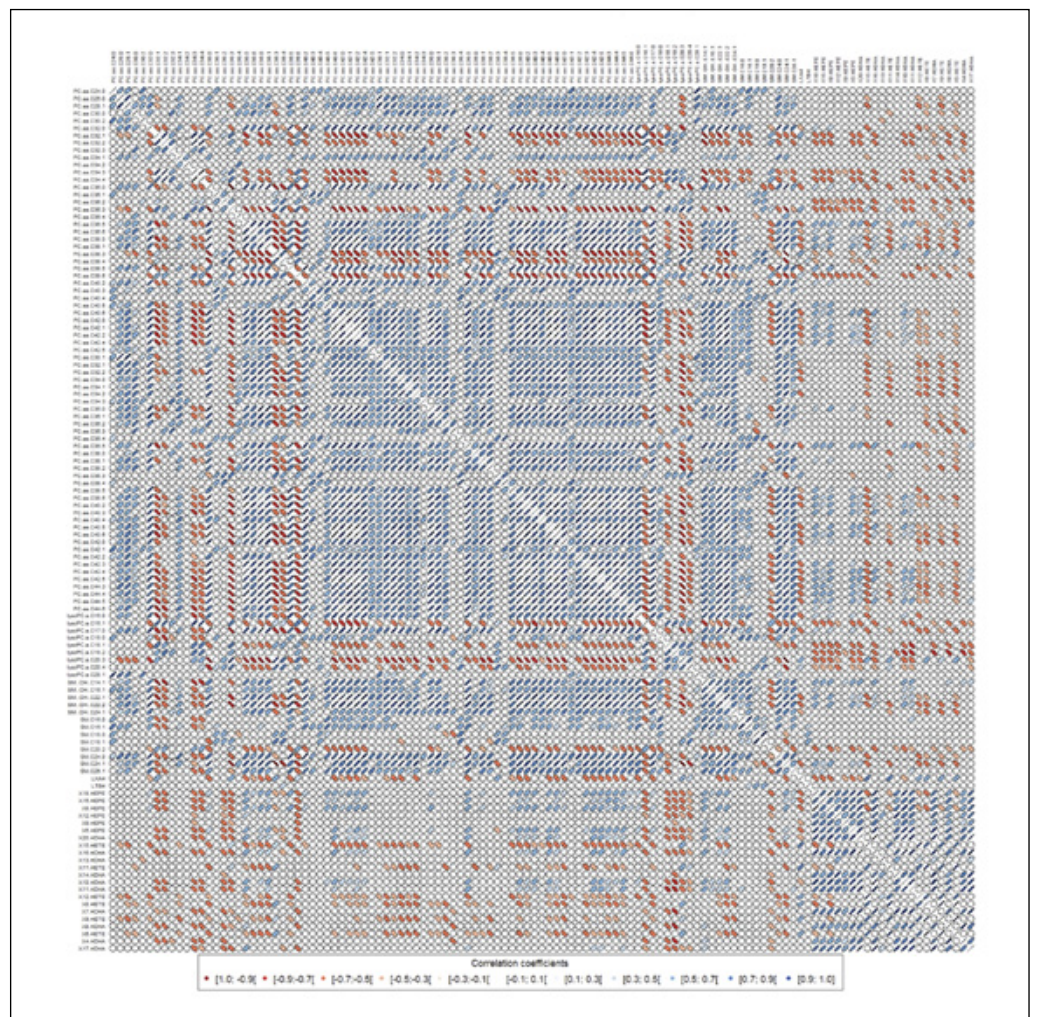


Abb. 1 Kendall-Cross-Korrelation von einigen Hundert Metaboliten gegeneinander

dische Plattformen für Metabolitprofilierungen sind die ^1H -Kernspinresonanz-Spektroskopie (nuclear magnetic resonance: NMR) sowie die Massenspektrometrie (MS) mit den vorgeschalteten Trennverfahren der Gaschromatografie (GC) oder Flüssigchromatografie (LC). Mit jeder dieser Technologien lassen sich ungerichtete (non-targeted) oder gerichtete (targeted) Analysen durchführen. Bei den Non-targeted-Anwendungen werden vor allem Unterschiede zwischen Proben erhoben und mittels deskriptiver, statistischer Verfahren betrachtet, ohne dass alle Metabolite in ihrer Identität bekannt sind. Bei den gerichteten Techniken ist dagegen jeder Analyt bekannt und wird fast immer auch quantitativ erfasst. Jedes technische Verfahren zur Metabolitprofilierung – ob NMR oder MS – hat seine Vor- und Nachteile im Hinblick auf Sensitivität und Selektivität, Probenvorbereitung, Probendurchsatz, Reproduzierbarkeit und mehr; Investitionen von einigen 100 000 Euro und kluge Köpfe benötigen sie aber alle. Zweifellos sind die enormen technischen und ingenieurwissenschaftlichen Fortschritte – vor allem in der Massenspektroskopie – maßgeblich an der schnellen Verbreitung und den Erfolgen von Metabolomics-Anwendungen beteiligt. Man kann es spektakulär nennen, dass es gelingt, hunderte von chemisch recht heterogenen Metaboliten aus wenigen Mikrolitern einer Probe zu quantifizieren. Auch wenn Metabolomics bei der Zahl der erfassten Entitäten bisher deutlich hinter Transcriptomics- und Proteomics-Anwendungen liegt, so können auch bei den Metaboliten schnell Datensätze generiert werden, deren Interpretation eine Lebensaufgabe darstellt. Nur: Hier hilft das über Jahrzehnte von Chemikern und Biochemikern generierte Wissen, das auch in diverse Datenbanken eingeflossen ist. Beispiele dafür sind KEGG, Brenda oder HMDB (Human Metabolome Data Base). Allerdings ist auch hier für die Interpretation der Befunde ein vertieftes Verständnis von Physiologie und Biochemie erforderlich – beides Qualifikationen, die vom Aussterben bedroht sind. Altersbedingt und etwas moralisierend merkt die Autorin hierzu an, dass selbst in anspruchsvollen wissenschaftlichen Journalen nun biochemische Reaktionen und Stoffwechselketten ausgewiesen werden – wie z. B. die Biosynthese der Aminosäure Leucin – die bisher nach ihrer Kenntnis nicht zum Repertoire des menschlichen Stoffwechsels gehörten.

Anwendungsfelder

Metabolomics-Anwendungen finden sich in allen Bereichen der Lebenswissenschaften und der

Medizin. Sie scheinen bis auf die Nachweisgrenzen und die Probenmatrix unlimitiert, da immer dieselben Moleküle erfasst werden und somit die Spezies bzw. der Organismus zunächst keine Rolle spielt. Unter den vielen Applikationsfeldern seien hier nur wenige Bereiche exemplarisch angesprochen.

Identifizierung von Expositions- und Biomarkern

Metabolomics-Anwendungen zur Identifizierung von Biomarkern sind en vogue. Es gibt kaum eine Erkrankung, für die nicht Proben wie Plasma, Urin oder Biopsiematerial auf Auffälligkeiten im Metabolitspektrum durchmustert werden. Etwaige Auffälligkeiten werden danach meist in Kohortenstudien daraufhin geprüft, ob sie als Marker für die Genese der Erkrankung

„Das, was wir jetzt Metabolomics nennen, ist auch eine Rückkehr zur Biochemie des Stoffwechsels, eine Renaissance – und es bleibt zu hoffen, dass Metabolomics hierzu substantielle neue Erkenntnisse liefert.“

dienen können, also schon lange vor der Diagnose der Erkrankung auffällig werden und somit eine prädiktive Qualität haben. Für einige Erkrankungen sind entsprechende Metabolitprofile bereits geschützt und bilden die Grundlage für kommerzielle Anwendungen von Metabolomics in der Diagnostik.

Beispiele für Expositionsmarker finden sich in der Toxikologie, aber auch in der Lebensmittelwissenschaft. So steigt z. B. der Gehalt an Prolinbetain im Blut und Urin von Menschen nach dem Verzehr von Zitrusfrüchten, vor allem Orangensaft, an. Prolinbetain ist ein dominanter Osmolyt in diesen Früchten und wird nach dem Konsum unverändert mit dem Urin ausgeschieden. Mit diesen Metabolomics-Ansätzen sucht die Wissenschaft u. a. nach besseren Methoden zur Erfassung des Lebensmittelverzehr, der inhärent schwer zu bestimmen ist. Klassische Methoden nutzen Fragebogen, die ihre Schwächen haben und die – nicht immer gegebene – Ehrlichkeit des Konsumenten voraussetzen. Zumindest im experimentellen Bereich der Lebensmittelforschung scheint es daher sehr attraktiv, über Marker-Metabolite im Urin den Lebens-

mittelverzehr zumindest qualitativ und in Zukunft vielleicht auch quantitativ abzubilden. Auch im Plasma sind solche Marker zu identifizieren. So können Veränderungen im Spiegel bestimmter Phosphatidylcholin- und Lysophosphatid-Spezies den Verzehr von Seefisch mit einem hohen Anteil an mehrfach ungesättigten Omega-3-Fettsäuren widerspiegeln.

Wesensmerkmale und Herkunft

In den Pflanzenwissenschaften dienen Metabolitprofilierungen u. a. dem Nachweis von Merkmalen (traits), die dann gezielt in Modellorganismen wie *Arabidopsis thaliana* systematisch genetischen Loci zugeordnet werden können. Das gilt auch für andere Modellorganismen, die sich hier auch als Werkzeuge mit vielen verfügbaren Mutanten und Stämmen/Linien für Metabolomics bestens bewähren. Auch für den Menschen finden sich nun erste Studien, die die Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs) in Kandidatengenomen von Probanden mit Veränderungen von Metabolitspiegeln in deren Plasma oder Urin in Verbindung bringen. Es ist zu erwarten, dass die Zahl dieser Studien dramatisch zunehmen wird, da viele Kohorten, die schon auf genetische Varianz in Assoziation mit Krankheitsrisiken durchmustert wurden nun – ergänzt um Metabolitprofile – erneut betrachtet werden. Hier bleibt noch zu klären, inwieweit die zwischen hunderten oder tausenden von Probanden vorgefundenen Unterschiede in den Konzentrationen ausgewählter Metabolite – die meist im absoluten Spiegel gering aber dennoch hochsignifikant sind – für das Individuum bzw. die Diagnostik nützlich sein können.

Robuste Phänotypen mit reproduzierbaren Metabolitmustern bilden auch die Grundlage von Studien zur Authentizität von biologischen Materialien einschließlich von Lebens- und Genussmitteln. So lässt sich z. B. die Herkunft von Wein anhand der Metabolit-Signatur bestimmen. Noch erstaunlicher ist, dass sich die Signatur des Holzes beim Ausbau im Barrique-Fass sogar fassspezifisch im Wein wiederfinden lässt. Auch für andere Lebensmittel und Rohstoffe dient die Metabolitprofilierung schon dem Echtheits- bzw. Herkunftsnachweis. Zunehmend werden Metabolitprofile auch als Parameter zur Sicherung der Qualität von Produkten in der Prozesskontrolle eingesetzt.

Stoffwechselbiochemie

Auch wenn die Grundprinzipien aller Stoffwechselvorgänge und viele Reaktionen gut beschrieben sind, so überrascht es immer wieder,

wie wenig über den Ursprung mancher Metabolite bekannt ist. Vielfach führt die Detektivarbeit zu Literatur aus den 50er- und 60er-Jahren des vergangenen Jahrhunderts. Sie bietet aber viele wertvolle „Entdeckungen am Wegesrand“. In diesem Sinne ist das, was wir jetzt Metabolomics nennen, auch eine Rückkehr zur Biochemie des Stoffwechsels, eine Renaissance – und es bleibt zu hoffen, dass Metabolomics hierzu substanzielle neue Erkenntnisse liefert. Auch wenn die Autorin in ihrer Laufbahn in erster Linie hypothesengetrieben gearbeitet hat, so erfreut sie sich doch auch an Metabolomics-Befunden, die ohne Hypothese erhoben wurden und nun überraschende und neue Einblicke in den Stoffwechsel des Menschen bieten. Wer hätte geahnt, dass sich bei einem oralen Glucosebelastungstest – wie er millionenfach zur Diagnose eines Diabetes durchgeführt wird – nicht nur Glucose- und Insulinspiegel, sondern hunderte Metabolite im Plasma zeitgleich verändern. Für eine ganze Reihe dieser Metabolitveränderungen gibt es bisher jedoch weder plausible Erklärungen zu ihrem Ursprung noch zu den möglichen Auswirkungen – und das ist spannend.

In jedem Feld der Wissenschaft, in das neue Technologien einziehen, werden diese mit großen Erwartungen und Hoffnungen verbunden – so auch im Metabolomics-Feld. Es wird sich zeigen, wie gut die Anwendungen in der Qualität der Analysen wirklich sind und wie spezifisch Metabolitprofile tatsächlich mit bestimmten Erkrankungen einhergehen und so geeignete diagnostische Marker erhalten werden können. So werden für recht unterschiedliche Erkrankungen ähnliche Metabolitmuster beschrieben und dies mag darauf gründen, dass gegenwärtig fast alle Plattformen dieselben abundanten und damit gut messbaren Metabolite quantifizieren. Daraus folgt, dass sich Metabolomics-Verfahren spezifischen Metabolitklassen zuwenden und diese mit guter Nachweisempfindlichkeit erfassbar machen müssen, wenn sie ein höheres Maß an Diskriminierung und Selektivität erreichen wollen. Gut ausgebildete Physiologen und Biochemiker werden gebraucht, um bestehende Lücken zur Herkunft von Metaboliten, zu Abfolgen in den Stoffwechselwegen, ihrer Regulation und auch zu ihrer Spezifität zu schließen. Erfreulich ist aber, dass die kleinen Moleküle wieder eine große Bedeutung bekommen.

→ hannelore.daniel@tum.de

Foto © istockphoto.com | gioadventures
© pantbermedia.net | stillfx

... and the winner is ...

EHEC Alarm

von Lothar Beutin

Wir bedanken uns für die zahlreichen Zusendungen zum Gewinnspiel der Ausgabe 0713.

**Und gratulieren unseren Gewinnern:
Dr. Dirk Lebrecht, Christine Schwarz, Anne Hergott**



Sie wollen schneller ans Ziel? ... dann geben Sie Gas – mit Chromolith® HighResolution

Monolithische Kieselgel-Säulen eröffnen eine neue Dimension der HPLC:

- Freie Bahn – lassen Sie den Druck gepackter UHPLC-Säulen hinter sich
- Ultra Fast HPLC – auch mit Standard-HPLC-Systemen
- Deutlich längere Säulen-Standzeiten auch für Matrix belastete Proben

Entdecken Sie die neue Chromolith® HighResolution
www.merckmillipore.com/analytical-hplc

