

# Diagnose und Prognose mit Metabolomics-Tests

Dr. Henricke Kamp, BASF SE, Ludwigshafen; Dr. Therese Koal, BIOCRATES Life Sciences AG, Innsbruck, Österreich

Analysen des von einem Zelltyp exprimierten Metabolitspektrums bieten im Gegensatz zu Gentests direkte Aussagen über biologische Funktionen. Massenspektrometrische Techniken ermöglichen dabei ein Multiplexing, das der Komplexität des Krankheitsgeschehens und der Toxizitätsmechanismen wesentlich besser gerecht wird als bisherige Einzelmetabolitbestimmungen. Die Analyse von Metabolitmustern, die relevant für die Diagnose von Krankheiten und die Prognose der Toxizität von Arzneimittelkandidaten sind, bietet über ihren direkten Nutzen hinaus auch die Möglichkeit, Erkenntnisse über Krankheits- und Toxizitätspathways zu gewinnen, indem die Ergebnisse von Metabolom-, Genom- und Transkriptomdaten miteinander in Beziehung gebracht werden.



**Therese Koal**  
Diplomchemikerin und Fachchemikerin für Toxikologie, ist Director Product & Method Development der BIOCRATES Life Sciences AG.

## LABORWELT

Wo liegen Vorteile von Targeted Metabolomics gegenüber anderen massenspektrometrischen Bestimmungen zu diagnostischen Zwecken?

### Therese Koal

In der Biomarkerforschung und klinischen Diagnostik werden in jüngster Zeit ehrgeizige „Metabolomics“-Konzepte vorangetrieben, mit dem Ziel möglichst alle relevanten, niedermolekularen endogenen Stoffwechselprodukte (<1500 Dalton) aus Körperflüssigkeiten oder Gewebe zu identifizieren und quantifizieren. Dazu haben sich vor allem massenspektrometrische (MS) Verfahren etabliert, die eine simultane Analyse der Zielmetaboliten aus einer biologischen Probe ermöglichen. Hier gibt es zwei sich technisch ergänzende Ansätze: Non-Targeted und Targeted Metabolomics.

Non-Targeted Metabolomics verfolgt *de-novo*-Metabolom-Analysen mit Fokus auf der Identifizierung der detektierten Signale; Nachteile bestehen in der beschränkten Anzahl etablierter Protokolle zur Prozessierung der Rohdaten, Instrumentabhängigkeiten und der Schwierigkeit, die chemische Identität potentieller Zielmetaboliten eindeutig aufzuklären, an der man letztendlich interessiert ist. Genau dafür ist der Targeted Metabolomics-Ansatz deutlich im Vorteil, denn es werden vorselektierte Metaboliten mittels hochselektiver Triple Quadrupol-MS/MS im „Selected Ion Monitoring“ (SIM)-Modus detektiert, identifiziert

und quantifiziert. Probenvorbereitung und Analyse werden eigens für die Zielmetaboliten entwickelt, aufeinander abgestimmt und standardisiert. Sie ermöglichen so eine simultane, hochpräzise, akkurate, robuste und quantitative Analyse, die eine langzeitstabile Intra- und Inter-Laborvergleichbarkeit gewährleistet.

Targeted Metabolomics hat sich gegenwärtig bereits in der klinischen Diagnostik im Neugeborenen-Screening als Standardtechnik etabliert und wird sich zeitnah auch für weitere Anwendungen (zum Beispiel Steroid-Hormone, 25 Hydroxy-Vitamin D2 und D3) durchsetzen und dabei Einzelanalyt-Analysenverfahren wie Immunoassays ablösen, die für metabolitspezifische Limitationen (Matrixeffekte, unzureichende Antikörper-Spezifität) bekannt sind. BIOCRATES hat eine MS-basierte standardisierte Targeted Metabolomics-Plattform entwickelt, die es ermöglicht mehr als 700 Metaboliten in verschiedensten biologischen Proben zu quantifizieren. Einige dieser Assays sind dabei als kommerzielle Kit-Produkte für mehr als 200 Metaboliten erhältlich (AbsoluteIDQ® p150 Kit, AbsoluteIDQ® p180 Kit, MetaDisIDQ® Kit, AbsoluteIDQ® Stero17 Kit und SteroIDQ® Kit).



**Henricke Kamp**  
der Toxikologe leitet seit 2004 die Abteilung Services Experimental Toxicology and Ecology bei der BASF SE in Ludwigshafen.

## LABORWELT

Wie können Metabolom-Analysen beim Toxikologie-Screening in der Arzneimittelentwicklung möglichst sinnvoll eingesetzt werden?

### Henricke Kamp

Metabolomics oder Metabolite Profiling beschreibt die Analyse von endogenen Stoffwechselprodukten, wie Aminosäuren, Kohlenhydraten, Lipiden etc., aus biologischen Proben – also allen charakteristischen Stoffwechself-Eigenschaften eines Organismus. In den vergangenen Jahren wurde die Technik zunehmend auch in toxikologischen Studien eingesetzt, um Änderungen in biochemischen Prozessen zu untersuchen (Lindon et al., 2004; van Ravenzwaay et al., 2007 und 2010). BASF und Metanomics haben basierend auf einer GC/MS- und LC/MS-MS-Plattform die Datenbank MetaMap® Tox aufgebaut, in der die Änderungen im Plasma-Metabolom von mehr als 500 verschiedenen Chemikalien hinterlegt sind, die die meisten toxikologischen Wirkmechanismen repräsentieren. Durch den Vergleich der Metabolomänderung einer unbekannt Substanz mit der MetaMap® Tox-Datenbank können nun



die Wirkmechanismen dieser Substanz erkannt und zuverlässig unterschieden werden.

Mit Hilfe der Metabolite-Profilung-Methode sowie Datenbank MetaMap® Tox kann die Zahl der Tierversuche an Ratten erheblich reduziert werden, da die mit Hilfe des Metaboloms gewonnenen toxikologischen Informationen genutzt werden können, die weitere Sicherheitsprüfung von potentiellen Wirkstoffen in der Pharma- oder Pflanzenschutzmittelentwicklung zielgerichtet voranzutreiben, ohne unnötige Tierversuche durchzuführen („reduction through refinement“). Da die Metabolomanalyse schon in der frühen Wirkstoffentwicklung eingesetzt werden kann, lassen sich außerdem Substanzen mit negativen toxikologischen Eigenschaften rechtzeitig identifizieren, so dass weitergehende Tierversuche vermieden sowie Entwicklungsressourcen auf Substanzen konzentriert werden können, die ein vorteilhaftes Sicherheitsprofil zeigen. Metanomics Health bietet seit Juni 2012 zwei Produkte basierend auf MetaMap® Tox für Kunden in der Arzneimittelbranche an: den MetaMap® Tox Screener (25 Wirkmechanismen in 11 verschiedenen Organen), basierend auf 14 Tage-Studien in Ratten und den MetaMap® Tox Profiler (46 Wirkmechanismen in 17 verschiedenen Organen) auf Basis von 28 Tage-Studien.