

Daniel H, Klein U

**Im Blickpunkt: Metabolom - Momentaufnahme des Stoffwechsels**

*Journal für Ernährungsmedizin 2012; 14 (1), 6-9*

**Homepage:**

**[www.aerzteverlagshaus.at](http://www.aerzteverlagshaus.at)**

**Online-Datenbank mit  
Autoren- und Stichwortsuche**

MIT NACHRICHTEN DER



**For personal use only.**

**Not to be reproduced without permission of Verlagshaus der Ärzte GmbH.**

# **Erschaffen Sie sich Ihre ertragreiche grüne Oase in Ihrem Zuhause oder in Ihrer Praxis**

## **Mehr als nur eine Dekoration:**

- Sie wollen das Besondere?
- Sie möchten Ihre eigenen Salate, Kräuter und auch Ihr Gemüse ernten?
- Frisch, reif, ungespritzt und voller Geschmack?
- Ohne Vorkenntnisse und ganz ohne grünen Daumen?

**Dann sind Sie hier richtig**





## MODERNE ERNÄHRUNGSFORSCHUNG

## METABOLOM

MOMENTAUFNAHME  
DES STOFFWECHSELS

Der menschliche Stoffwechsel stellt ein Kontinuum zwischen katabolen und anabolen Zuständen dar. Mit der Nahrung aufgenommene Nährstoffe werden entweder zur Energiegewinnung oxidiert, als Energiereserven in Leber und Fettgewebe gespeichert oder als Baustoffe für die Zellenergie genutzt. Metabolite des Stoffwechselgeschehens wechseln kontinuierlich in Struktur und Ort. Das Metabolom beschreibt die Gesamtheit aller endogen produzierten sowie exogen zugeführten Stoffe und wird vor allem mit Methoden der Kernspinresonanz (NMR) und Massenspektrometrie (MS) erschlossen.

Hannelore Daniel, Ulla Klein

## TEIL 2

**M**etabolomanalysen stellen also charakteristische Momentaufnahmen eines Stoffwechselzustandes dar.

Welche Zusammenhänge zwischen Veränderungen im Metabolom und dem Ernährungsstatus eines Menschen sowie seinem Gesundheitszustand bestehen, ist noch weitgehend unbekannt. In der Ernährungsforschung sind bisher nur wenige Metabolom-Analysen durchgeführt worden. Es ist das Ziel dieses Beitrages, die Prinzipien und Chancen, aber auch Grenzen der Metabolom-Profilierung im Zusammenhang mit der Ernährung aufzuzeigen. In der modernen Ernährungsforschung liefern die Methoden der Nutrigenomik neue Möglichkeiten, individualtypische Beschreibungen eines Organismus zu erhalten und charakteristische Biomarker für bestimmte Zustände zu identifizieren (siehe Teil 1, JEM 3/2011). Neben der Genomik, der Transkriptomik und der Proteomik, die unterschiedliche Ebenen auf dem Weg der Genexpression zur Proteinbiosynthese untersuchen, befasst sich die Metabolomik mit den Stoffwechselprodukten. Das Metabolitspektrum in einer Plasma- oder Urinprobe zu einem bestimmten Zeitpunkt wird von unzähligen Faktoren beeinflusst. Dazu gehören endogene Eigenschaften wie Genotyp, Geschlecht, Hormonstatus und Alter, aber auch exogene Einflüsse wie Ernährungsweise, Bewegung, Stress oder Krankheiten. Auch konsumierte Medikamente oder Drogen wie Nikotin bis hin zu Auswirkungen des sozioökonomischen Status und der kulturellen Gewohnheiten beeinflussen metabolische Prozesse. Darüber hinaus wird das Metabolom auch durch die bakterielle Besiedelung des Dickdarms beeinflusst, da die von Bakterien gebildete Metabolite im Darm resorbiert werden und dann im Blut oder im Urin nachweisbar werden.

#### METABOLOMANALYSEN BEIM MENSCHEN UND DAS PROBLEM DER PROBEN

Jedes Organ, jede Zelle und jede Körperflüssigkeit hat ihr eigenes, für sie typisches und zeitlich variables Muster an Metaboliten. Gewebeprobe sind vom Menschen nur schwer zu erhalten. Deshalb werden meist Körperflüssigkeiten wie Blutplasma, Urin, Speichel, Tränenflüssigkeit oder Faeceswasser analysiert, die sich leichter in ausreichender Menge und zu wählbaren Zeitpunkten gewinnen lassen. Das Blutplasma als verbindendes Kompartiment des Körpers weist einen besonders hohen Gehalt an unterschiedlichsten Metaboliten auf, deren Profil sich zudem sehr rasch ändert. Dabei sind meist die endogenen

Effekte aus körpereigener Biosynthese und metabolischem Umsatz größer als die exogenen Effekte durch Stoffe aus der aufgenommenen Nahrung, die meist nur für wenige Stunden im Plasma dominieren. Urin ist ebenfalls reich an Metaboliten. Darunter befinden sich neben körpereigenen Stoffwechselprodukten und aus dem Stoffwechsel der Darmflora hervorgegangenen Metaboliten auch die nicht verwertbaren exogenen Stoffe aus der Nahrung. Das Profil der endogenen Metabolite im Urin bleibt meist relativ stabil und fungiert wie ein „metabolischer Fingerabdruck“ eines Individuums.

#### ERSTELLUNG VON METABOLITPROFILIEN

Die Erfassung und Analyse möglichst vieler Metabolite in einer Probe stellt qualitativ wie quantitativ eine besondere methodische Herausforderung dar und verlangt modernste analytische und spektroskopische Techniken (Gibney et al., 2008). Das Metabolom ist ein sehr heterogenes Gemisch von organischen Säuren, Kohlenhydraten und Lipiden sowie deren Konjugaten. Man vermutet etwa 104 endogen gebildete Stoffe und 106 bis 107 exogene Metabolite aus der aufgenommenen Nahrung. Metabolit-Profilierungen erfolgen entweder gezielt (targeted) für chemisch und strukturell bekannte Stoffe oder ungezielt (non-targeted), d.h. holistisch, und beinhalten damit auch eine Vielzahl unbekannter Metabolite. Ungezielte Analysen verwenden meist die Kernresonanzspektroskopie (NMR); sie ist schnell und einfach, aber weniger empfindlich. Zur Erstellung eines gezielten Metabolitprofils wird vorrangig die Massenspektrometrie (MS) gekoppelt an eine Flüssigkeitschromatographie als LC-MS oder an eine Gaschromatographie als GC-MS eingesetzt. Noch leistungsfähiger – jedoch auch teurer – ist die FT-ICR-MS (Fourier-transform ion-cyclotron resonance-MS). In allen Fällen erhält man als Ergebnis probentypische Spektren (Abb. 1). Die Peaks repräsentieren darin einzelne Stoffe, ihre Amplitude entspricht der Menge, ihre Position der chemischen Struktur. Zur Auswertung sind spezielle Computerprogramme, vergleichende Rückgriffe auf Datenbanken und multivariate statistische Verfahren notwendig. Häufig wird die „principal component analysis“ (PCA) angewendet, die das multidimensionale Datenset der Metabolitprofile auf solche Bestandteile beschränkt, die für die wichtigsten Unterschiede der Zustände verantwortlich sind. Auf diese Weise lassen sich Spektren von Stoffwechselzuständen in unterschiedlichen Situationen gut vergleichen, allerdings zunächst meist ohne

Kenntnis der gegebenen chemischen Natur der Stoffe oder der physiologischen Zusammenhänge in ihren Änderungen. Holistische metabolomische „Signaturen“ eignen sich vor allem zur Darstellung von prinzipiellen phänotypischen Unterschieden wie zwischen Frauen und Männern, jungen und alten Menschen, schlanken und fettleibigen Probanden oder zwischen Gesunden und Kranken wie z.B. Diabetikern. In gezielt angelegten Metabolom-Studien hingegen kann man nach Identifizierung typischer unterschiedlicher Metabolite und nach deren Zuordnung zu bekannten Stoffwechselwegen eher auf die zugrundeliegenden Veränderungen in physiologischen bzw. biochemischen Prozessen schließen.

#### DAS METABOLOM DES FASTENS

Für eine aussagekräftige Untersuchung muss nicht nur die geeignete Probe gewählt, sondern auch die Probenentnahme zu einem bestimmten Zeitpunkt standardisiert werden. Urin und vor allem Blutplasma stellen „Durchgangskompartimente“ mit einem raschen Wechsel ihrer Zusammensetzung dar. Nach einer Mahlzeit finden sich darin Tausende von Metaboliten, die nach Verdauung, Resorption und Leberpassage gebildet und in die systemische Zirkulation des Körpers entlassen wurden. Sie mischen sich mit Stoffen, die umgekehrt von den Organen abgegeben werden, sowie mit Produkten aus dem Stoffwechsel der Darmbakterien. Der Einfluss einer Nahrungsaufnahme zeigt sich postprandial im Metabolom bereits nach 15 Minuten und ist meist nach 6 bis 8 Stunden wieder eliminiert. Wenn nicht spezifische Nahrungseinflüsse unmittelbar verfolgt werden sollen, sind daher aufgrund der Komplexität des postprandialen Zustandes nahezu alle Metabolom-Analysen an Probanden und Patienten im Fastenzustand (meist über Nacht) durchgeführt worden. Metabolomstudien zum Fasten beim Menschen bestätigten zunächst etabliertes Wissen über die physiologischen Abläufe, die bei Nahrungskarenz zur Energieversorgung und zu Veränderungen im Blutspiegel von Metaboliten beitragen. Sie erbrachten aber auch eine Reihe neuer Metabolit-Marker, die einen längeren Fastenzustand metabolisch abbilden (Rubio-Aliaga et al., 2010). Betrachtet man den Ablauf einer nächtlichen Hungerphase, so wächst nach Verbrauch des Glykogens in der Leber zunächst der Bedarf an Substraten für die Glukoneogenese, um Glukose-bedürftige Zellen zu versorgen. Gleichzeitig steigt die Lipolyse, wie sich am Gehalt an freien Fettsäuren als Substrate für den Energiestoffwechsel von Muskel- und Leberzellen zeigt. Die  $\beta$ -Oxidation der Fettsäuren zeigt sich dann in einem zeit-



abhängigen Anstieg an kurz- und mittelkettigen Acylcarnitinen im Metabolom des Blutplasmas. Glycerol aus dem Fettgewebe sowie glucogene Aminosäuren aus dem Abbau von Proteinen liefern Vorstufen für die Produktion von Glukose durch die Leber. Als Maß für diesen Abbau bzw. die verminderte Proteinsyntheserate beim Fasten kann der Gehalt an verzweigtkettigen Aminosäuren (BCAA, branched chain amino acids) dienen (Abb. 2A). Im weiteren Verlauf der Hungerphase verstärken sich all diese Effekte und der Überfluss an Acetyl-CoA in der

Leber bewirkt schließlich eine verstärkte Produktion der Ketonkörper, vor allem von Acetoacetat und  $\beta$ -Hydroxybutyrat, die dann im Metabolom von Blutplasma und Urin zu finden sind. Aceton, das leicht flüchtige Dekarboxylierungsprodukt von Acetoacetat, lässt sich nun auch in der ausgeatmeten Luft nachweisen. Das Hormonprofil der nächtlichen Hungerphase wird von einem niedrigen Insulinspiegel, aber hohen Gehalten an Glucagon und Catecholaminen bestimmt, die die Stoffwechselwege und die Metabolitflüsse dirigieren (Abb. 2A). Schon am frü-

hen Morgen, aber vor allem nach einer ersten Nahrungsaufnahme, ändern sich diese Verhältnisse dramatisch, da mit dem Frühstück meist auch der Insulinspiegel deutlich ansteigt. Bemerkenswerterweise lassen sich im Blutplasma von adipösen und insulinresistenten Patienten sowie Diabetikern viele dieser charakteristischen Fastenmarker mit erhöhter Konzentration nachweisen, so dass die verminderte Wirksamkeit des Insulins offenbar die Signatur eines fortgeschrittenen Fastenzustands bedingt (siehe unten).

**DAS POSTPRANDIALE METABOLOM**

Schon allein die orale Aufnahme von Glukose wie in einem Glukosetoleranztest bewirkt dramatische Änderungen im Metabolitprofil des Blutplasmas (Skurk et al., 2010). Die Spiegel an Glukose und Insulin steigen wie erwartet rasch an. Überraschend ist dagegen der Befund, dass im Metabolom ein entsprechend rascher Anstieg an Gallensäuren um bis das 10-Fache erfolgt, dessen Ursprung unter diesen Bedingungen noch nicht geklärt ist. Daneben sinkt im Plasma der Gehalt an vielen Aminosäuren recht stark, hauptsächlich der von verzweigtkettigen und aromatischen Aminosäuren sowie Ornithin und Citrullin, vermutlich aufgrund einer erhöhten insulinabhängigen Aufnahme in Insulin-sensitive Zellen, vor allem aber wohl der Muskulatur. Die Konzentration von  $\beta$ -Hydroxybutyrat und anderen Ketosäuren nimmt dagegen ab, ihre Konzentrationen im Metabolom stellen somit ein gutes Maß für den antikatabolen Zustand unter der Wirkung von Insulin dar. Solche insulin-abhängigen Veränderungen finden sich aber nicht nur nach Glukose-Aufnahme, sondern nach allen Mahlzeiten, wobei es zu einer Überlagerung von Metabolitprofilen kommt, die dann neben den endogenen Metaboliten auch noch viele andere von der Nahrung abhängige Metaboliten aufweisen. Das bei Nahrungsaufnahme ausgeschüttete Insulin bewirkt in Muskulatur, Fettgewebe und Leber eine Umkehrung aller Hunger-induzierten Effekte, also eine verstärkte Glukose-Oxidation, sowie erhöhte Glykogen- und Proteinsyntheseraten (Abb. 2B). Aus dem Metabolom von Menschen, die an Typ 2-Diabetes (NIDDM, non-insulin-dependent Diabetes mellitus) bzw. am metabolischen Syndrom erkrankt sind, zeigt sich aber, dass in Geweben wie Muskel und Leber das Hormongleichgewicht gestört ist. Trotz der im Nüchternzustand erhöhten Insulin- und Blutglukose-Werte zeigt sich im Metabolom eine geringer ausgeprägte anabole Antwort, die wohl der Insulinresistenz der Gewebe geschuldet ist. Die Insulinresistenz ist im Symptomenkreis des metabolischen Syndroms und als Vorstufe des

NIDDM ein frühes Zeichen gestörter Stoffwechsel- und Metabolitflüsse. Als klassische Biomarker, die sich mit Insulinresistenz assoziieren lassen, finden sich im Metabolom von Blutplasma und Urin daher meist erhöhte Spiegel an freien Fettsäuren, sowie von Ketonkörpern wie das  $\beta$ -Hydroxy- und 2-Hydroxybutyrat sowie anderer Ketosäuren, z.B. aus dem Abbau der verzweigtkettigen Aminosäuren (Zhao et al., 2010). Hier gleicht das Stoffwechselprofil des Patienten dann eher dem des Stoffwechsel-Gesunden im fortgeschrittenen Hungerzustand. Ob sich die entsprechend veränderten Metabolitprofile auch zur besseren Früherkennung von Erkrankungen eignen, ist aktuell Gegenstand intensiver Forschung.

**METABOLOMISCHE SIGNATUREN DER NAHRUNG**

Zunehmend werden auch Metabolomstudien durchgeführt, die die Effekte von bestimmten Nahrungsmitteln auf das Metabolom von Plasma und Urin untersuchen. So sind u.a. die Einflüsse von Zwiebeln, grünem Tee, Kakao oder ausgewählten Supplementen (Nutraceuticals) auf Metabolitspektren im Blut oder Urin des Menschen betrachtet worden (Wittwer et al., 2011). Während sich die Inhaltsstoffe von tierischen Lebensmitteln nicht nennenswert von denen in Blut oder Geweben des Menschen unterscheiden, weisen pflanzliche Lebensmittel noch eine Vielzahl von sekundären Pflanzenstoffen auf, die meist phenolische Strukturen darstellen, die im menschlichen Stoffwechsel nicht abgebaut werden können. Unbenommen einer möglichen gesundheitsfördernden Wirkung werden sie vom Körper als Fremdstoffe (Xenobiotika) wahrgenommen und den entgiftenden Stoffwechselwegen des sog. Phase I und II Stoffwechsel zugeführt. Darin werden sie komplexen chemischen Modifikationen unterzogen, um dann über die Gallenflüssigkeit in den Darm zur Ausscheidung oder in das Blut zur Elimination über die Niere abgegeben zu werden. Auch wenn nur in Ansätzen bekannt, kann eine Reihe sekundärer Pflanzeninhaltsstoffe wohl nur nach Metabolisierung durch die Darmflora im Fremdstoffmetabolismus der Leber weiter modifiziert werden. Ein Beispiel dafür ist das Daidzein aus Sojabohnen, welches von Bakterien zuerst zu Enterolacton umgesetzt und erst in dieser Form in den Körper aufgenommen wird. Dies geschieht aber nicht bei jedem Menschen, sondern in Abhängigkeit von seiner spezifisch ausgeprägten Darmflora. Anhand des Nachweises von Enterolacton im Blut lassen sich nach Soja-Zufuhr Menschen leicht in „Responder“ und „Non-Responder“ einteilen, was entsprechend auf eine unterschiedliche Besie-

delung des Dickdarms hinweist (Watanabe et al., 1998). Dieses Beispiel belegt jedoch, dass die Interpretation menschlicher Metabolitprofile schwierig sein kann.

**ZUKÜNFTIGER EINSATZ VON METABOLOMANALYSEN**

Da sich im Blut und Urin viele typische Stoffe aus der aufgenommenen Nahrung wiederfinden, erhofft man sich in der Ernährungsforschung auch über Metabolitprofile einen neuen und methodisch verlässlicheren Weg zu finden, um Art und Menge eines verzehrten Lebensmittels besser bestimmen zu können. Bisher dienen dazu vor allem Fragebögen zum Lebensmittelverzehr (food frequency questionnaire). Als Beispiel für diesen neuen Ansatz der „Food-Metabolomics“ dienen Studien, in denen man das Erscheinen eines nur in Zitrusfrüchten vorkommenden Metaboliten (Prolin-Betain) im Blut und Urin nur bei jenen Probanden zeigen konnte, die auch Zitrusfrüchte bzw. deren Saft verzehrt hatten (Heinzmann et al., 2011). Natürlich ist der Gehalt dieser Substanz in Zitrusfrüchten sehr variabel und lässt daher zunächst noch keine quantitativen Rückschlüsse auf die tatsächlich konsumierten Mengen zu. Auf dem Weg zur personalisierten Ernährung (siehe Teil 1) könnten Metabolomanalysen eine wichtige Informationsquelle für den jeweilig aktuellen Stoffwechselzustand und seine Veränderungen sein. Metabolite repräsentieren vielfach Endpunkte von Stoffwechselwegen und spiegeln die dahinter stehenden Regulationsprozesse wider. Insofern geben sie Auskunft über das tatsächliche biochemische Geschehen und liefern das jeweilige veränderliche phänotypische Erscheinungsbild eines gegebenen Genotyps. Bisher lassen sich in Metabolitprofilen, die in Kohortenstudien erhoben werden, zwar durchaus bestimmte genetische Varianten in einzelnen Genen mit Veränderungen von Metabolitspiegeln im Blut korrelieren; welchen diagnostischen Wert sie aber letztlich besitzen, muss noch geprüft werden.

Hannelore Daniel, Ulla Klein  
Lehrstuhl für Ernährungsphysiologie,  
Technische Universität München,  
Gregor-Mendel-Str. 2,  
D-85350 Freising-Weihenstephan;  
Tel. +49-8161-713400; nutrition@tum.de

**REFERENZEN**

Gibney M J, Walsh M and Brennan L (2008) 3. Metabolomics and the Personalized Metabolic Signature. In „Personalized Nutrition. Principles and Applications.“ (Kok F, Bouwman L and Desiere F, eds.) CRC Press, Boca Raton, London New York, p. 23-32.  
Heinzmann S S, Brown I J, Chan Q, Bictash M,

Dumas M E et al. (2010). Metabolic profiling strategy for discovery of nutritional biomarkers: proline betaine as a marker of citrus consumption. Am J Clin Nutr, 92, 436-43.

Rubio-Aliaga I, De Roos B., Duthie S., Crosley L, Mayer L et al. (2010) Metabolomics of prolonged fasting in humans reveals new catabolic markers. Metabolomics, DOI: 10.1007/s11306-010-0255-2, 1-13.  
Skurk T, Rubio-Aliaga I, Stamford A, Hauner H, Daniel H (2010). New metabolic interdependencies revealed by plasma metabolite profiling after two dietary challenges. Metabolomics, DOI: 10.1007/s11306-010-0255-2, 1-12.

Watanabe S, Yamaguchi M, Sobue T, Takahashie T, Miura T et al. (1998) Pharmacokinetics of soybean isoflavones in plasma, urine and feces of men after ingestion of 60 g baked soybean powder (kinako). J Nutr 128, 1710-5.

Wittwer J, Rubio-Aliaga I, Hoeft B, Bendik I, Weber P and Daniel H (2011). Nutrigenomics in human intervention studies: Current status, lessons learned and future perspectives. Mol Nutr Food Res. 55: 341-358.  
Zhao X, Fritsche J, Wang J, Chen J, Rittig K, et al. (2010) Metabonomic fingerprints of fasting plasma and spot urine reveal human pre-diabetic metabolic traits. Metabolomics 6: 362-374.

**ZUSAMMENFASSUNG**

Metabolomics steht begrifflich für die umfassende Erfassung und Quantifizierung der kleinen Moleküle in biologischen Systemen. Diese Metabolitprofilierung kann hunderte bis tausende von Einzelkomponenten umfassen und basiert auf anspruchsvollen analytischen Techniken der Kernspinresonanzspektroskopie oder Massenspektroskopie. Anwendungen am Menschen sind meist beschränkt auf die Analyse von Blut, Urin und anderen Körperflüssigkeiten. In diesen Proben lassen sich neben den endogenen Metaboliten aus dem körpereigenen Stoffwechsel auch bakterielle Metabolite aus dem Umsatz von Nahrungsinhaltsstoffen durch die Darmflora des Menschen nachweisen. Insbesondere pflanzliche Sekundärmetaboliten liefern darüber hinaus eine Vielzahl von Abkömmlingen, die aus dem Fremdstoffstoffwechsel in Darm und Leber herrühren und die der Ausscheidung zugeführt werden sollen, da der Mensch diese pflanzlichen Verbindungen meist nicht verwerten kann. Metabolomanalysen sind als neues Feld experimenteller biomedizinischer und ernährungswissenschaftlicher Forschung noch nicht geeignet, als valide diagnostische Werkzeuge zu dienen. Inwieweit sie für die Vorhersage von Stoffwechselerkrankungen oder auch für die diätetische Führung von Probanden/Patienten nützlich sind, wird die Zukunft zeigen müssen.

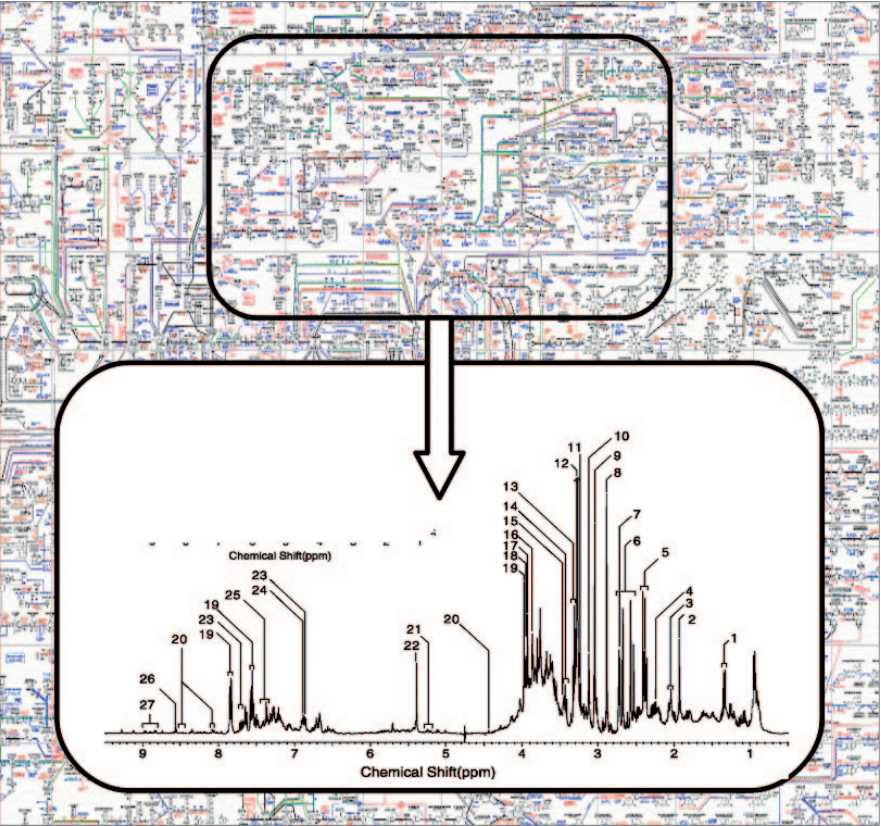


Abbildung 1: Metabolom: Beispiel eines Metabolitenprofils im NMR-Spektrum

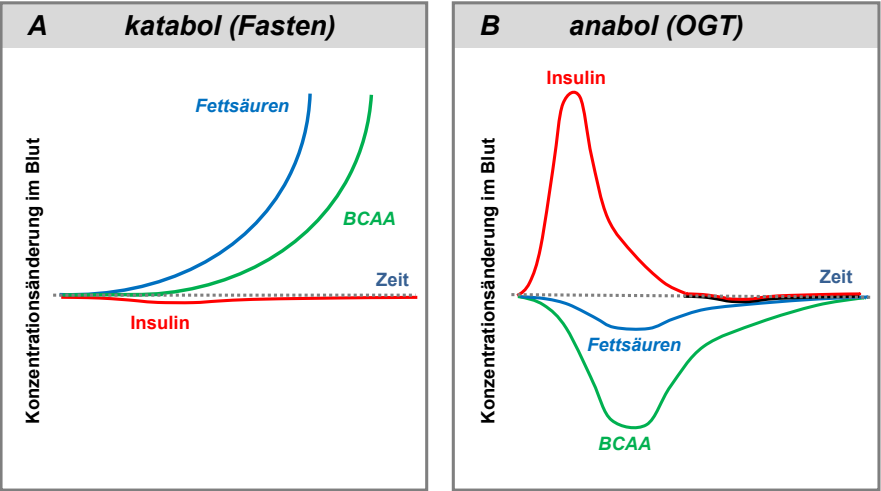


Abbildung 2: Verlauf charakteristischer Metabolite während des katabolen und anabolen Stoffwechselzustands, verzweigtkettige Aminosäuren = BCAA „branched chain amino acids“