

Metabolomics

Der Duft der Frauen

Eva kann sich verschiedener Methoden bedienen, um jenen Zeitpunkt innerhalb ihres Menstruationszyklus zu bestimmen, der sich als günstig erweist, schwanger zu werden. Auch die Bestimmung flüchtiger Biomarker ist in mehrerlei Hinsicht zielführend: Eine Analyse biogener VOCs gibt Aufschluss über die Fruchtbarkeit.

Von Guido Deußing

Wenn es um die Partnerwahl geht, folgt Homo sapiens weniger dem, was er sieht, als vielmehr dem, was seine Nase registriert. Des Menschen Riechorgan ist vielseitig begabt; es nimmt sowohl offenkundig Olfaktorisches wahr, als auch Pheromone, die das Gegenüber quasi geruchsfrei emittiert und Organismen auf eine für sie unbewusste Weise kommunizieren lässt. Die dem Frauenkörper entströmenden flüchtigen organischen Verbindungen (VOCs), die in der Lage sind, des Mannes Begierde zu triggern, entstammen dem Metabolismus weiblicher Sexualhormone; deren wichtigste Vertreter sind die Östrogene und Progesteron. Diese Hormone steuern den weiblichen Menstruationszyklus und beeinflussen die Fruchtbarkeit der Frau. Es lässt sich damit, quasi evolutionsbiologisch erklären, warum Frauen während ihrer fruchtbaren Tage von der männlichen Nase als besonders anziehend wahrgenommen werden. Inzwischen hat man auch erkannt, warum manche Frau respektive ihr individueller Körpergeruch bei Männern besser ankommt als der Geruch einer anderen Frau: Auf den Mann besonders anziehend wirken Damen mit hohem Östrogenspiegel und niedrigen Progesteronwerten [1].

Weibliche Fruchtbarkeit im Blick

Ein Hormonspiegel mit viel Östrogen und wenig Progesteron zeugt also von Fruchtbarkeit. Diese bleibt indes nicht ein Leben lang auf einem konstant hohen Level, sondern nimmt mit dem Alter ab. Biologisch lässt sich das so erklären, dass das Verhältnis der Sexualhormone sich zuungunsten der Östrogene verschiebt. Diese Tatsache kontrastiert mit dem Wunsch nicht weniger Frauen, den Zeitpunkt einer Schwangerschaft frei zu wählen und die Mutterschaft den Lebensbedingungen individuell anzupassen. Das funktioniert, solange Mutter Natur mitspielt. Bei mancher Frau aber ist der Weg in die Schwangerschaft steinig und schwierig: Für geschätzt 1,6 Millionen Frauen in den USA im Alter bis 44 Jahre erweise sich der Versuch, auf natürliche Weise schwanger zu werden, als bleibende Herausforderung, meint Stephanie Marie Ong von der Arizona State University, USA [2].

Obgleich sich der US-amerikanische Markt für Fruchtbarkeitsdiagnostik mit 3,5 Milliarden US-Dollar beziffern lasse, gelinge es laut Ong nicht, verlässliche Aussagen über die Wahrscheinlichkeit zu machen, ob eine Frau

1. grundsätzlich und 2. mit zunehmendem Lebensalter schwanger werden könne. Zwar gelinge es, die Zeit des Eisprungs (Ovulation) auf unterschiedliche Weise recht genau zu ermitteln (und damit auch den optimalen Zeitpunkt für den Zeugungsakt), zum Beispiel vermittels Basaltemperaturmessung, Kalendermethode sowie spezieller Ultraschall- oder endokrinologischer Untersuchungen. Allen gebräuchlichen klinischen und daheim durchzuführenden Methoden gemein sei jedoch, schreibt Ong, dass sie eben nur einen einzigen Zeitpunkt bewerteten. Ihnen fehle das Vermögen, „Veränderungen im hormonellen Stoffwechsel über die Zeit hinweg zu quantifizieren“, was es erleichtern würde, generelle Aussagen über die Fruchtbarkeit zu treffen. Noch gibt es viele offene Fragen hinsichtlich der Ovulation und der physiologischen Gegebenheiten sowie über zeitlich limitierende Faktoren. Die richtigen Antworten darauf zu finden, könnte helfen, einen wichtigen Beitrag zu leisten, die Reproduktionsfitness der Frau zu erhöhen, ist Ong überzeugt.

Analytisches Set-up für Metabolismus-Studie gesucht

Um zu verstehen, was für die Entwicklung eines Lösungsansatzes erforderlich ist, braucht es Methoden, mit denen sich Reproduktionshormone in Echtzeit über die Dauer der reproduktiven Jahre einer Frau bestimmen lassen, schreibt Ong in ihrer Masterarbeit [2]. Dies könne zum Beispiel gelingen, indem man die dem hormonellen Stoffwechsel entstammenden Metaboliten analysiert. Die Beurteilung der Gesamtheit aller Metaboliten in biologischen Proben (Metabolomics) habe sich bereits in anderen Fällen zur Diagnose hormonell bedingter Erkrankungen als sinnvoll und nützlich herausgestellt.

Eine Metabolismus-Studie verlangt den Einsatz eines Analyseverfahrens, das es ermöglicht, die statistisch relevante große Zahl biologischer Proben, in denen sich die potenziell flüchtigen Metaboliten befinden, auf effiziente und zeitlich akzeptable Weise zu vermessen [3]. Als geeignet erweisen sich Urin, Speichel und Blut. Ong wählte als Probenbasis Harn, der sich auf einfachste Weise, ohne den Probengeber über Gebühr zu belasten, in hinreichend großer Menge gewinnen lässt. Extrahiert wurde mittels automatisierter Festphasenmikroextraktion (SPME), für die Analyse kam ein GCxGC-TOF-MS-System zum Einsatz. Zur Entwicklung einer ersten Datenbasis sammelte Ong über 28 Tage täglich Urinproben von zehn Frauen im Alter von 18 bis 28 Jahren unterschiedlicher Herkunft; keine

Darstellung eines GC/MS-Systems mit GERSTEL-Multi-PurposeSampler (MPS robotic), vergleichbar jenem, das Stephanie Marie Ong von der Arizona State University in den USA für ihre Metabolismus-Studie zur Bestimmung von Biomarkern der weiblichen Fruchtbarkeit verwendet hat.



Foto: istock/Siphotography

Nicht wenige Frauen wollen sich nicht dem Ticken der biologischen Uhr unterwerfen, sondern ihren Kinderwunsch nach individuellen Gesichtspunkten erfüllen, und zwar dann, wenn der aus ihrer Sicht richtige Zeitpunkt gekommen ist. Mutter Natur hat jedoch den zeitlichen Rahmen, in dem eine Schwangerschaft möglich ist, limitiert.

der Probandinnen nahm die Pille oder andere Medikamente, die das Hormongleichgewicht hätten stören und die Analysenergebnisse verfälschen können.

Ziel sei es gewesen, die flüchtigen Metaboliten, die mit den Sexualhormonen korrelieren, im Verlauf eines ganzen Menstruationszyklus zu monitoren. Vor der Probenentnahme (Mittelstrahlurin), die unter maximal sterilen Bedingungen erfolgte, durften die Frauen zwei Stunden lang keine Nahrung zu sich nehmen. Die Proben wurden innerhalb von vier Stunden nach der Probenentnahme aliquotiert und bei -80 °C gelagert. Um Kontaminationen zu vermeiden, die das Ergebnis der Messung hätten beeinträchtigen oder verfälschen können, verwendete Ong für die Analyse VOC-freie mit PTFE/Silikon-Kappen verschlossene 10-mL-Vials, die zuvor getrennt zwölf Stunden bei 100 °C gelagert wurden, um den VOC-Hintergrund zu reduzieren. Etwa eine Stunde vor der Analyse wurden sie auf Raumtemperatur gebracht und mit einem Milliliter der kurz zuvor gemixten Probe beschickt. Die Vials wurden verschlossen und auf dem gekühlten Probenteller des verwendeten Analysenroboters (GERSTEL-MultiPurposeSampler, MPS) bei 4 °C bis zur Analyse aufbewahrt. Bei 60 °C wurden die Urinproben dann fünf Minuten lang mit 250 U/min geschüttelt und inkubiert. Die Extraktion der flüchtigen Metabo-



Foto: GERSTEL / W. Scholl



istock / RossHelen

Rotes Fleisch fördert des Mannes Libido

Rotes Fleisch belebt das Liebesleben des Mannes und beeinflusst sein Paarungsverhalten. Das haben Studien mit 1.600 Männern in Australien, den USA und Großbritannien ergeben. Demnach entscheide sich der Mann bei der Menüauswahl eher für ein Fleischgericht, wenn neben dem Wunsch, Status und Reichtum auszustrahlen, auch die Motivation vorhanden sei, einen Paarungspartner zu finden. Die durchführenden Forscherinnen Eugene Y. Chan und Natalina Zlatevska erklären ihre Beobachtung so: „Die Verbindung zwischen Fleisch und Status beruht auf evolutionären Ursachen des Konsums. Höhlenbewohner verzehrten Fleisch, um stark, gesund und kraftvoll genug zu sein, die unwirtliche Umgebung zu überstehen. Königshaus und Adel konsumierten auch deshalb Fleisch, weil es Reichtum zur Schau stellte.“ Völlig gegensätzlich zum Verhalten des Mannes zeige sich jenes der Frau: Bei dem Versuch, Männer für sich zu interessieren, setze das weibliche Geschlecht auf Ausstrahlung und eine vegetarische Ernährungsweise. GD

Referenz

Eugene Y. Chan und Natalina Zlatevska, Is meat sexy? Meat preference as a function of the sexual motivation system, Food Quality and Preference 74 (2019) 78-87, <http://bit.ly/2RnzfVx>

liten aus dem Dampfraum über der Probe erfolgte mittels SPME unter Verwendung einer mit 30/50 µm DVB/CAR/PDMS beschichteten Faser. Vor jeder Probenextraktion wurde die Faser zehn Minuten lang bei 270 °C ausgeheizt. Extrahiert wurde bei 60 °C für die Dauer von 60 Minuten, wobei die Probe gleichzeitig mit 250 U/min geschüttelt wurde. Anschließend wurde die Faser für fünf Minuten bei 250 °C im GC-Injektor positioniert und es wurden die Analyten auf die GC-Säule überführt. Sämtliche Schritte von der Probenvorbereitung bis zur Probenaufgabe wurden vom MPS automatisiert ausgeführt.

Ong führte die Trennung der Analyten unter Einsatz eines zweidimensionalen Säulensatzes (GCxGC; Restek) aus (Säule 1: Rxi-624Sil MS [60 m x 250 µm x 1,4 µm], Säule 2: Stabilwax [1 m x 250 µm x 0,5 µm]). Die Säulen wurden unabhängig voneinander aufgeheizt. Das Temperaturprogramm von Säule 1 gestaltete sich wie folgt: 50 °C (2 min) – 5 °C/min – 225 °C (2 min) – 30 °C/min – 230 °C (30 min). Die zweite Säule wurde mit einer Verschiebung von 5 °C relativ zum Primärofen aufgeheizt. Die Detektion erfolgte mit einem Time-of-Flight-Massenspektrometer (TOF-MS/MS). Ein Quad-Jet-Modulator wurde mit 2-s-Modulationsperioden (0,5 s heiße und 0,5 s kalte

Pulse) verwendet, und zwar mit einem Versatz von +15 °C relativ zum Sekundärofen. Als Trägergas wurde Helium mit einem Fluss von 2 mL/min eingesetzt. Die Massenspektren wurden erfasst bei 100 Hz über einen Bereich von m/z = 35 bis 550. Die Datenerfassung erfolgte mit der ChromaTOF-Software (Leco).

Gute Resultate und eine Basis für weitere Forschung

Die oben beschriebenen Methodenparameter insbesondere hinsichtlich des eingesetzten Probenvolumens und der Extraktionsdauer hat Ong nach eigenen Angaben vor Beginn der eigentlichen Messung optimiert. Die Methode wurde von ihr täglich kalibriert. Insgesamt identifizierte Ong im Urin der Probandinnen 935 unterschiedliche Analyten. Darunter waren zehn Verbindungen, die sich im Urin aller Probandinnen befunden haben und die sich nach entsprechender statistischer Auswertung als Schlüsselanalyten für den weiblichen Menstruationszyklus bezeichnen lassen. Namentlich handelt es sich unter anderem um O-Cymen, 4,7-Dimethylbenzofuran, 3-Octen-2-on, Butylcyclobutan, 2,2-Dimethylbutanal sowie 2-Hexylfuran u. a., die insbesondere in der fruchtbaren Zeit einen deutlich Anstieg zeigten und damit potenziell als Biomarker für die Fruchtbarkeit der Frau herangezogen werden könnten beziehungsweise die eine statistische Signifikanz zeigten in Korrelation zu hormonellen Veränderungen, schreibt Ong. Künftig sollen die zehn Schlüsselverbindungen bei der Untersuchung unabhängiger Datensätze validiert und auf ihre Robustheit untersucht werden.

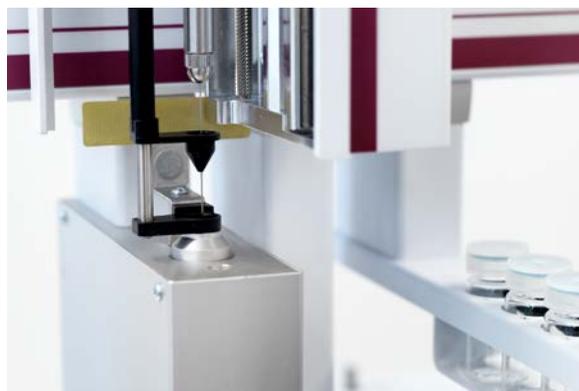


Foto: GERSTEL / Wolfram Schroll

Die Extraktion der flüchtigen Metaboliten aus dem Headspace erfolgte mittels SPME unter Verwendung einer DVB/CAR/PDMS-beschichteten Faser.

Referenzen

- [1] Janek S. Lobmaier, Urs Fischbacher, Urs Wirthmüller, Daria Knoch: The scent of attractiveness: levels of reproductive hormones explain individual differences in women's body odour. Proceedings of the Royal Society B, 12. September 2018, doi:10.1098/rspb.2018.1520, <http://bit.ly/2XosFEE>
- [2] Stephanie Marie Ong, Comprehensive Analysis of Volatile Biomarkers for Female Fertility, Arizona State University, May 2018, <http://bit.ly/2KRYCFY>
- [3] Guido Deußing, Automatisierte Massenanalyse – Epidemiologische Probensätze auf dem Prüfstand, GERSTEL Aktuell 53 (2018) 9-11, <http://bit.ly/2WOpif7>