

Von humanen und nicht-humanen Proben

Unterschiede in Probenvorbereitung und Planung für eine zuverlässige Analytik



Physiologische Proben aus humanen und nicht-humanen Quellen

Die Analyse humaner Proben im Rahmen klinischer Studien ist allgemein gut etabliert und wird weltweit, je nach Analyt, mit hochentwickelten und spezialisierten Messverfahren durchgeführt. Humanproben bieten eine standardisierte Basis für die Entwicklung und Validierung analytischer Methoden, da umfangreiche Daten und Referenzwerte zur Verfügung stehen.

Unterschiede zwischen humanen und nichthumanen Proben

Physiologische Proben aus nichthumanen Quellen sind nicht identisch mit ihren humanen Pendanten. Geringe, aber signifikante Unterschiede, wie Viskosität und Temperaturabhängigkeit, sind in der Literatur beschrieben [1]. Diese Differenzen können, je nach eingesetztem Messverfahren, bereits zu Veränderungen der Wiederfindungsraten, Abweichungen von Messergebnissen oder Inkompatibilitäten mit den Messverfahren führen. Besonders kritisch ist dies bei Verfahren, die hohe Sensitivität und Reproduzierbarkeit erfordern.

Die Schritte der Probenvorbereitung sollten deshalb mit einer exakt gleichen Probenmatrix wie die später zu analysierenden Proben etabliert und überprüft werden. Abweichungen in der Matrixzusammensetzung, wie unterschiedliche Protein-, Lipid- oder Wassergehalte, können erheblichen Einfluss auf die Analytik haben. Neben physikalischen Eigenschaften spielen auch chemische Faktoren eine wichtige Rolle, da diese die Stabilität und Reaktivität der Zielanalyte beeinflussen können.

Evolutionäre Unterschiede zwischen Spezies

Weiterhin sind physiologische Eigenheiten der verschiedenen Spezies evolutionsbedingt oft stark ausgeprägt. Ein bekanntes Beispiel sind die Ubichinone, welche in Lebewesen als Elektronen- und Protonenüberträger in der Atmungskette fungieren. In diesem Fall unterscheiden sich beispielsweise in Nagetieren und anderen Säugetieren die hauptsächlich aktiven Moleküle in der Länge der Isoprenseitenkette der Verbindungen (Ubichinone UQ-9 und UQ-10) [2]. Diese Unterschiede haben direkte Konsequenzen für die Interpretation biochemischer Analysen und erfordern eine spezifische Anpassung der Methoden an die untersuchte Spezies.

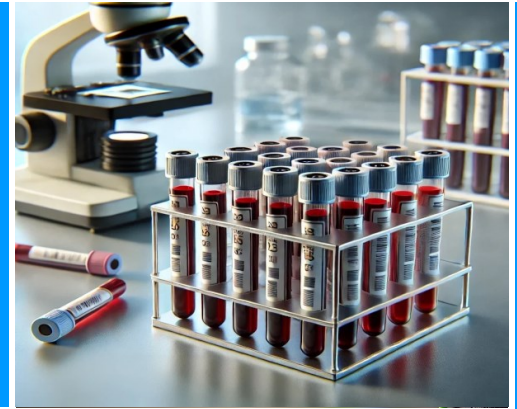
Darüber hinaus können Unterschiede in Stoffwechselwegen, Enzymaktivitäten und Zellzusammensetzungen dazu führen, dass Analyseergebnisse nicht ohne Weiteres auf den Menschen übertragen werden können. Daher ist eine genaue Kenntnis der Zielmatrix und der spezifischen physiologischen Parameter essenziell.

Anforderungen an die Methodik

Um den genannten Herausforderungen gerecht zu werden, müssen Verfahren zur Bestimmung von Analyten in physiologischen Proben jeweils mit einer möglichst identischen Leermatrix oder notfalls einem geeigneten Surrogat etabliert, validiert und kalibriert werden. Im Falle von Analysen mittels LC-MS/MS ist dies besonders wichtig, da diese Technik trotz des Einsatzes von stabilen Isotopensubstituten als internem Standard anfällig für Matrixeffekte ist. Matrixeffekte können zu Signalunterdrückungen oder -verstärkungen führen und dadurch die Quantifizierung verfälschen. Daher sollten Probenaufbereitung und -analyse so gestaltet sein, dass sie diese Effekte minimieren.

Von humanen und nicht-humanen Proben

Unterschiede in Probenvorbereitung und Planung für eine zuverlässige Analytik



Herausforderungen durch limitiertes Probenmaterial

Auch limitiertes Probenmaterial stellt eine Herausforderung dar. Die Gesamtblutvolumina von Maus (<2 ml), Ratte (<20 ml) und Mensch (~6000 ml) unterscheiden sich erheblich [3]. Diese Unterschiede haben nicht nur Auswirkungen auf die verfügbaren Analysemenngen, sondern erfordern auch spezifische Anpassungen der Studiendesigns. Beispielsweise kann die Analyse von Blutplasmaaufnahme-kinetiken in kleinen Tieren nur dann realisiert werden, wenn die Probenvorbereitung miniaturisiert wird. Gelingt keine Miniaturisierung der Probenvorbereitung, so steigt der Bedarf an Versuchstieren, was sowohl ethische als auch logistische Herausforderungen mit sich bringt. Moderne Entwicklungen in der Mikrofluidik und die Verwendung hochempfindlicher Analysensysteme bieten hier jedoch vielversprechende Ansätze, um mit minimalen Probenvolumina aussagekräftige Ergebnisse zu erzielen.

Empfehlungen für die Analytik nichthumaner Proben

- **Etablierung und Validierung:** Analyseverfahren sollten unter Berücksichtigung der spezifischen Eigenschaften der Zielmatrix entwickelt und validiert werden.
- **Matrixeffekte:** Eine umfassende Untersuchung und Minimierung von Matrixeffekten ist unverzichtbar, insbesondere bei LC-MS/MS-basierten Verfahren.
- **Miniaturisierung:** Entwicklung von Methoden, die mit minimalem Probenvolumen arbeiten, um den Bedarf an Versuchstieren zu reduzieren und die Effizienz der Studien zu erhöhen.
- **Spezies-spezifische Anpassung:** Berücksichtigung

der biochemischen und physiologischen Unterschiede zwischen Spezies, um korrekte und reproduzierbare Ergebnisse zu gewährleisten.

Fazit

Die Analyse physiologischer Proben aus nichthumanen Quellen erfordert eine genaue Kenntnis der spezifischen Eigenschaften der Probenmatrix sowie eine Anpassung der analytischen Verfahren. Durch sorgfältige Planung, Validierung und den Einsatz moderner Technologien können die genannten Herausforderungen gemeistert werden. Dies ermöglicht eine verlässliche und reproduzierbare Analytik, die auch unter schwierigen Bedingungen aussagekräftige Ergebnisse liefert.

Literaturverzeichnis

- [1] Windberger et al: Haemorheological values in nine mammalian species. *Exp Physiol* 88.3 (2003).
- [2] Mikael Turunen, Jerker Olsson and Gustav Dallner: Metabolism and function of coenzyme Q. *BBA - Biomembranes Volume* 1660 (2004).
- [3] Animal Research Advisory Committee (ARAC) Guidelines: Guidelines for Survival Blood Collection in Mice and Rats, <https://oacu.oir.nih.gov/animal-research-advisory-committee-arac-guidelines>, 12/14/2022.

Haben Sie weitere Fragen oder Interesse an einer Zusammenarbeit? Gerne beraten wir Sie zu Ihrer individuellen Anfrage und finden die optimale Lösung für Ihre Bedürfnisse.

Kontakt

Dr. Roland Wacker – Leitung Analytik
Tel.: +49 (0) 711 310 571 46
Email: r.wacker@biotesys.de