

Ionenbeweglichkeitsspektrometrie

Entwicklungen für Atemluftdiagnostik und personalisierte Medizin



► PD Dr. Jörg Ingo Baumbach,
Leibniz-Institut für Analytische Wissenschaften –
ISAS – e.V.

Ionenbeweglichkeitsspektrometer (IMS) sind vielen Flugreisenden schon einmal begegnet, meist ohne dass der Betroffene es weiß. Sie werden zur Detektion von Spuren von Sprengstoffen oder Drogen eingesetzt. Es sind weltweit mehr als 80.000 solcher Geräte im Einsatz. Die Laufzeit der aus den Analyten gebildeten Ionen wird bei Umgebungsdruck und häufig auch –temperatur bestimmt – siehe Abbildung 1.

Im Gegensatz zu einem Massenspektrometer, wo die Drift im elektrischen Feld im Vakuum erfolgt und somit möglichst keinerlei Stöße der Ionen mit neutralen Molekülen auftreten, kommt es im IMS laufend zu Stößen der Ionen mit neutralen Gasmolekülen. Auf diese Weise kommt es zu einer laufenden Energieaufnahme im elektrischen Feld und nahezu sofortiger Abgabe an die umgebenden Gasmoleküle, sodass sich sehr schnell eine konstante Driftgeschwindigkeit einstellt. Die Nachweisgrenzen von IMS liegen häufig deutlich unter der von massenspektrometrischen Systemen, wo dann eine Voranreicherung erfolgen muss, wie sie z. B. bei der Identifizierung und Quantifizierung der flüchtigen Metabolite in der Ausatemluft mittels GC/MS erforderlich ist. Analog zu GC/MS wird im Gegensatz zu Lösungen am Flughafen meist eine gas-chromatographische Vortrennung eingesetzt, bei IMS häufig mittels sogenannter Multi-Kapillar-Säulen (MCC). Hierbei verlaufen rund 1.000 Kapillaren parallel und es wird eine ausreichende Trennleistung erreicht. Zusätzlich zur Driftzeit im IMS steht dann die Retentionszeit durch die gas-chromatographische Trennsäule als Parameter zur Verfügung. Es ergeben sich charakteristische,

Die Anwendung von analytischen Methoden dringt immer mehr von den Material- in die Lebenswissenschaften vor. Ökonomische Gesichtspunkte (Schlagwort „Zellfabrik“) und inhaltliche Aspekte („analytische Wissenschaften“) bringen dies zum Ausdruck. Die Ausdehnung des spektrometrischen und spektroskopischen Untersuchungsgegenstandes von toter Materie auf belebte Materie heißt aber auch sich von eher statischen auf dynamische Prozesse zu konzentrieren. Der Systemcharakter wird häufig hervorgehoben. Dies schließt traditionell die Methodenentwicklung, die Untersuchung der physikalisch/chemischen Grundlagen und die Beschreibung biologischer/biotechnologischer/medizinischer Prozesse und daraus folgender potentieller, beispielsweise medizinischer Eingriffe und die Bewertung und Steuerung von deren Folgen ein. An Hand der Ausatemluftdiagnostik sollen neue Entwicklungen mit Blick auf personalisierte Medizin vorgestellt werden.



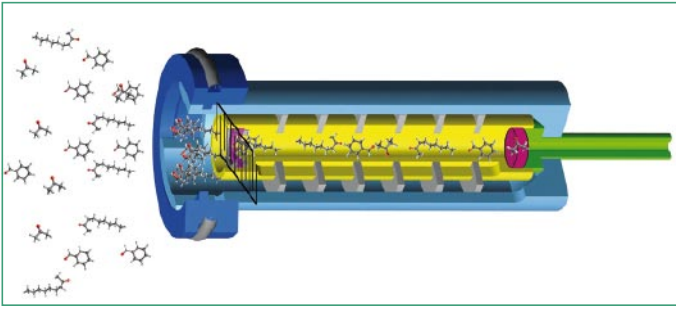


Abb. 1: Arbeitsprinzip eines Ionenbeweglichkeitsspektrometers

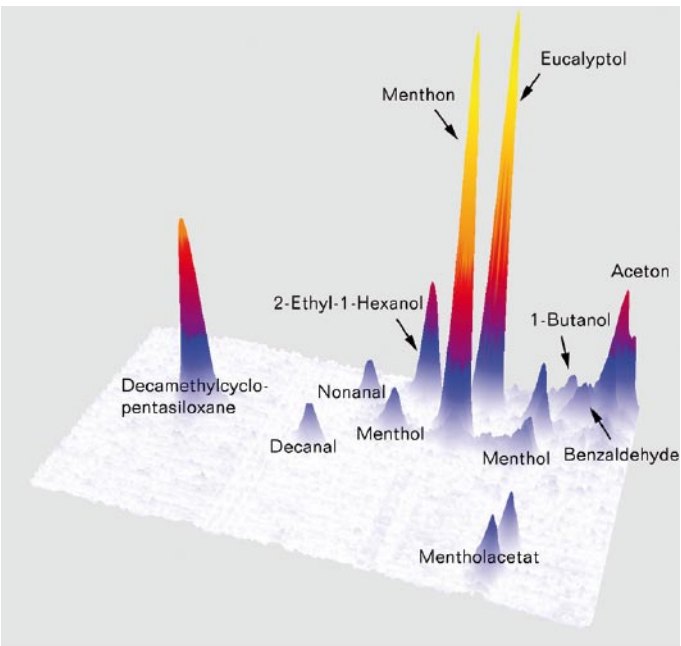


Abb. 2: Ausschnitt aus einem IMS-Chromatogramm menschlicher Ausatemluft

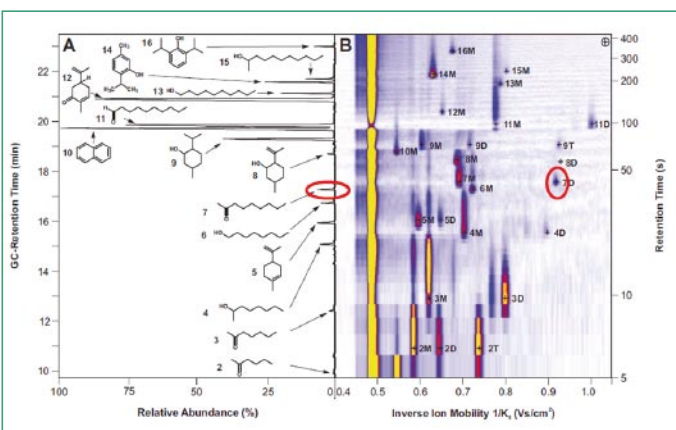


Abb. 3: Zuordnung zwischen GC/MS- und MCC/IMS-Signalen

dreidimensionale sog. IMS-Chromatogramme, wie in Abbildung 2 an Hand eines Ausschnittes der Atemluft gezeigt.

Zusätzlich haben die Multi-Kapillar-Säulen den Vorteil, dass die Feuchte in der Ausatemluft die

Ergebnisse nicht beeinflusst, da durch die Feuchte die für die Ionisierung notwendigen Reaktionsionen bereitgestellt werden (diese sind in Abbildung 3 im rechten Teil als nahezu durchgehendes Signal bei ca. 0,5 Einheiten zu sehen). Ein

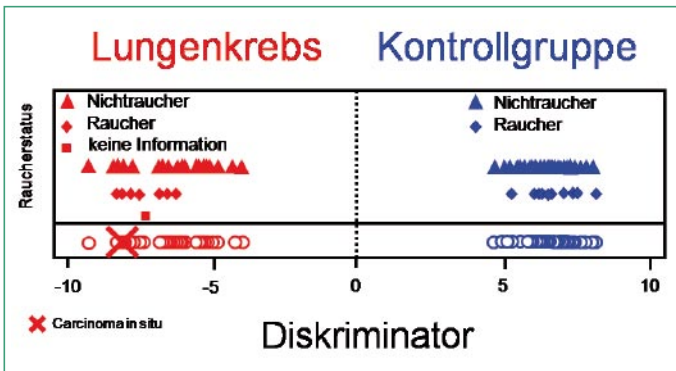


Abb. 4: Unterscheidung zwischen Lungenkrebs und Kontrollgruppe – unabhängig vom Raucherstatus

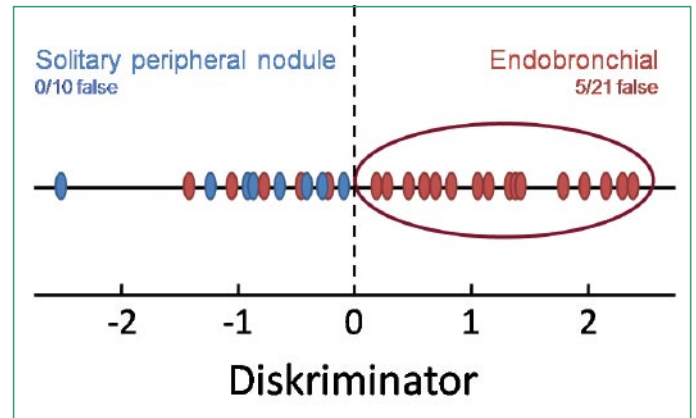


Abb. 5: Rückschlüsse auf den Tumortyp

einzelnes Spektrum dauert weniger als 50 ms, ein IMS-Chromatogramm bei Umgebungstemperatur rund 10 Minuten. Kürzliche Untersuchungen haben gezeigt, dass ein direkter Vergleich zwischen den Ergebnissen aus GC/MS- und denen aus MCC/IMS-Untersuchungen gelingt. So ist in Abbildung 3 beispielhaft dargestellt, dass mittels GC/MS quasi eine Zuordnung der Signale im MCC/IMS gelingt. Gelegentliche Ausnahmen bestätigen die Regel. Außerdem wird der Zeitunterschied durch die Skalen deutlich: Minuten bei GC/MS und Sekunden bei MCC/IMS.

Auf dieser Basis sind zuerst in der Lungenklinik in Hemer und der Universitätsklinik in Göttingen und in letzter Zeit in einer Reihe weiterer Kliniken in NRW und der Charité in Berlin Untersuchungen der

menschlichen Ausatemluft durchgeführt worden. Zunächst wurde an der Lungenklinik in Hemer versucht, Patienten mit Lungenkrebs in verschiedenen Stadien und Gesunde an Hand der Signale flüchtiger Stoffwechselprodukte in der Ausatemluft zu unterscheiden. Hierbei kam es darauf an, nicht Raucher von Nichtrauchern zu unterscheiden, sondern Metabolite und hierauf aufbauend solche Diskriminatoren zu finden, die eine Unterscheidung unabhängig vom Raucherstatus ermöglichen. Das Ergebnis ist in Abbildung 4 zu sehen. Dort spielt der Raucherstatus für die Unterscheidung keine Rolle.

Inzwischen sind im Rahmen weiterführender Untersuchungen Modelle entwickelt worden, so dass auch auf den Tumortyp ge-

schlossen werden kann. Hierfür wurden in der Lungenklinik Hemer aus 600 häufig auftretenden Metaboliten in der Ausatemluft rund 100 ausgesucht, die routinemäßig überwacht werden. Wenn auch noch keine 100%-ige Unterscheidung möglich ist, so kann jedoch je nach Fragestellung schon eine sehr hohe Sensivität und Spezifität erreicht werden. Falls der jeweilige individuelle Diskriminator in der rechten Seite in Abbildung 5 zu finden ist, so handelt es sich um einen endobronchialen Tumor mit 100% Wahrscheinlichkeit. So kann aus den individuellen Signalen der flüchtigen Metabolite in der Ausatemluft direkte Rückschlüsse gezogen werden. Diese Ergebnisse erster klinischer Studien müssen

nun an größeren Patientengruppen verifiziert werden.

In der Lungenklinik in Hemer und in der Universitätsklinik in Göttingen wurde versucht, die bakterielle Besiedlung der Lunge mit unerwünschten Bakterien bzw. Pilzen an Hand der Detektion charakteristischer Stoffwechselprodukte in der Ausatemluft zu charakterisieren. Zunächst wurden im Labor die IMS-Chromatogramme der häufigsten in der Lunge vorkommenden Bakterien und eines Pilzes ermittelt. Nach den so ermittelten Grundmustern wurde dann bei Patienten in den Kliniken gesucht. Es konnte gezeigt werden, dass bestimmte Stoffwechselprodukte Hinweise auf Bakterien in der Lunge darstellen. Experimentell wurde

		Peaknummer																																			
Bakterium/ Peak		0	1	2	5	6	7	8	9	13	14	16	19	20	23	24	25	26	28	29	30	33	34	35	36												
Bakterium / Pilz	A	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	3	0	1	0	0	0	0	0	0	1	2	2	1	2												
	B	2	1	1	0	1	0	0	0	0	0	3	0	1	3	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0												
	C	1	0	2	0	3	0	1	1	0	1	2	3	2	0	0	0	0	3	0	0	3	3	1	0												
	D	2	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0												
	E	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0												
	F	2	0	3	0	1	0	0	0	2	1	3	0	2	3	2	2	2	0	1	0	1	2	0	0												
	G	2	1	1	0	1	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0												
	H	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0												
	I	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0												
	J	2	1	1	0	0	0	0	0	0	1	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0												
	K	2	2	1	3	2	2	3	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0												

Abb. 6: Muster von zur Vereinfachung mit A bis K bezeichneten Bakterien und mit 0–36 bezeichneten Peaks in IMS-Chromatogrammen in der menschlichen Ausatemluft

darauf geachtet und mittels Fluss- oder CO₂-Sensoren überprüft, dass nur aus der Lunge und nicht aus dem Mund-, Rachen – oder Nasenhöhlenbereich stammende Luft untersucht wird.

In Abbildung 6 sind solche Muster gezeigt. Hier wurden zur Vereinfachung die Bakterien und ein Pilz mit A bis K und die untersuchten Peaks in den IMS-Chromatogrammen mit 0–36 bezeichnet.

Man erkennt, dass die Bakterien A, C und K beispielsweise an Hand eines einzelnen Peaks (A: 30 oder 36 – C: 9 oder 28 – K: 3) charakterisiert werden können. Die Bakterien H und I hingegen ließen sich nicht unterscheiden.

Hiermit ergeben sich zukünftig Möglichkeiten innerhalb vergleichsweise kurzer Zeit direkt zu ermitteln, ob bakterielle Besiedlungen in der Lunge vorkommen und eine Antibiotikagabe rechtfertigen.

Eine Herausforderung besteht darin, das für eine bestimmte Fragestellung relevante Metabolitspektrum zu definieren und die entsprechenden Analyte zu identifizieren und zu quantifizieren. Hierbei sind in der Ausatemluft im Sinne von Metabolomics stets Einflüsse der Ernährung, von

Genussmitteln und Medikamenten zu berücksichtigen. Auf diese Weise gelangt man zu einer personalisierten Metabolitkarte, die die Diagnose unterstützen und die Therapie begleiten kann. Dies ist nicht auf Lungenkrebs oder Lungenerkrankungen beschränkt. Gegenwärtig laufen an der Charité beispielsweise Untersuchungen zur Charakterisierung von Nierenerkrankungen, an der Universitätsklinik in Düsseldorf zu Hals-Kopf-Karzinomen (u. a. Speiseröhrenkrebs). Neu hinzu gekommen sind Fragestellungen wie Asbestose und Silikose, aber auch Mundgeruch (Halitose) wird mittels MCC/IMS untersucht.

Die spezifischen Vorteile der MCC/IMS für die Patienten liegen darin, dass das Verfahren nichtinvasiv angewendet wird und auch bei körperlich gestressten Patienten oder solchen mit geschwächten Immunsystemen ohne zusätzliche Belastung angewendet werden kann. Ein gezielter und personenbezogener Medikamenteneinsatz auf der Basis von Ausatemluftuntersuchungen scheint realisierbar, auch wenn die Technologie bis zum routinemäßigen Einsatz beispielsweise beim Hausarzt noch in weiteren klinischen Studien getestet werden muss.

Die Grundlagen hierfür sind im Rahmen des durch das BMBF mit rund 1 Mio. € geförderten Projektes metabolit geschaffen worden. Auf der Basis der am ISAS entwickelten MCC/IMS sind erste kommerzielle Geräte seit kurzem verfügbar.

► KONTAKT

PD Dr. Jörg Ingo Baumbach

Leibniz-Institut für Analytische Wissenschaften – ISAS – e.V.

Dortmund

Baumbach@isas.de

B&S Analytik

Dortmund

Baumbach@bs-analytik.de