

## **Forschung - BMFB-Projekt**

### **Identifizierung und Prävalidierung von hepatozellulären Biomarkern zur Erfassung und Prädiktion toxischer und kanzerogener Wirkungen von chemischen Stoffen**

A. Oberemm, H.-B. Richter-Reichhelm, U. Gundert-Remy, G. Scholz, H.-J. Ahr, M. Kröger, P.-J. Kramer, P. Bannasch, A. Kopp-Schneider, E. Krause

Fortschritte in der Molekularbiologie und die Notwendigkeit, schnell und effektiv Daten zu toxischen Eigenschaften von Chemikalien zu bekommen, haben zur Entwicklung einer neuen Generation alternativer Testmethoden geführt. Es besteht die Hoffnung, dass durch einen Einsatz von komplexen molekularbiologischen Assays, welche Änderungen, z. B. im Metabolismus von Zellen und Geweben, differenziert anzeigen können, auch toxische Eigenschaften von Chemikalien schnell erkannt und charakterisiert werden können. Dies könnte von erheblichem Nutzen sein, um erste Daten zu bisher unzureichend charakterisierten Altstoffen zu erhalten, könnte aber auch im Hinblick auf eine weitere Einsparung von Tierversuchen einen erheblichen Fortschritt darstellen. So lassen sich z. B. Ergebnisse aus Tierstudien bei Vorliegen mechanistischer Daten besser auswerten, so dass ggf. auf nachgeschaltete Tierstudien verzichtet werden kann.

Die sogenannte ‚Molekulare Toxikologie‘ basiert im wesentlichen auf der Erfassung von Unterschieden der transkriptionalen und translationalen Genexpression (*Toxiko-Genomics* und *-Proteomics*). Schwerpunkte bei der Anwendung sind zur Zeit die Auffindung von Biomarkern zur Früherkennung von Krankheiten (z. B. Krebs-Tumormarker; Diabetes) bzw. die Wirkstofftestung in der Arzneimittelentwicklung.

Um einen Einsatz in der Toxikologie vorzubereiten, muss noch viel Forschungsarbeit betrieben werden. So ist hinsichtlich einer Verwendung bei der Chemikalienbewertung nachzuweisen, dass die Exposition von Testorganismen mit Chemikalien zu wirkungsspezifischen, klassifizierbaren Expressionsmustern führt, welches die Voraussetzung für eine Bewertung und Einstufung darstellt.

Wegen der großen und zukunftssträchtigen Bedeutung der sogenannten ‚Omics‘-Methoden wurde mit anderen Forschungseinrichtungen aus dem akademischen und industriellen Bereich ein Verbundvorhaben etabliert. Durch Verwendung eines etablierten Tiermodells der chemischen Karzinogenese soll vergleichend überprüft werden, ob Methoden der molekularen Toxikologie zur Früherkennung kanzerogener Eigenschaften von Stoffen eingesetzt werden können.

Hauptziele des Verbundvorhabens sind deshalb:

- die vergleichende Bewertung von Genexpressionstools (post-transkriptionale Expressionsanalyse/ ‚Transcriptomics‘ und post-translationale Expressionsanalyse, ‚Proteomics‘) im Hinblick auf ihre Eignung als Kurzzeit- Karzinogenitätstests
- die Identifizierung und Prävalidierung von stadienspezifischen Biomarkern

## **Übersicht über das Arbeitsprogramm**

1. Erstellung von Standardprotokollen für die Durchführung und Auswertung von Transkriptions- und Proteomanalysen (Affymetrix-Microarray, 2-Dimensionale Gelelektrophorese/ 2-DE, SELDI-Proteinchip-Array) an Rattenleberextrakten
2. Massenspektrometrisch/bioinformatische Spotidentifizierung aus 2-DE Gelen (Mapping und Erfassung von Markerproteinen)
3. Erarbeitung von bio-statistisch/-informatischen Standards
4. Durchführung einer Tierstudie mit N-Nitrosomorpholin
5. Vergleichende Analyse der Gen- und Proteinexpression im Verlauf der Tierstudie und Korrelation mit morphologisch/ histologischen Endpunkten

In einem Folgeprojekt soll durch einen Einsatz weiterer Modellsubstanzen die Robustheit der gefundenen Marker überprüft werden.

Nach erfolgreichem Abschluss dieser beiden Phasen sollte damit begonnen werden, Expressionsanalysen an Zellkultursystemen durchzuführen, um die Anzahl an Tierstudien möglicherweise weiter reduzieren zu können.