

HOVEDBUDSKAP

MR-metabolomikk er analyse av små metabolitter som detekteres med MR-spektroskopi i humant vev eller i biologiske væsker som blod og urin. Disse kan fungere som viktige kliniske biomarkører eller gi en forbedret biologisk forståelse for flere sykdommer. Metodikken er utviklet både for vevsprøver og for biologiske væsker og flere potensielle biomarkører er detektert innen prostatakreft, brystkreft, preeklampsi og hjerte og kar-sykdommer.

SAMMENDRAG

Bakgrunn: Metabolomikk er blant de raskest voksende «-omikk»-teknologiene, og er den mest representative for fenotypen til en organisme på et spesifikt tidspunkt. Små metabolitter som detekteres med MR-spektroskopi i humant vev eller i biologiske væsker som blod og urin, kan fungere som viktige kliniske biomarkører eller gi oss en særegen biologisk forståelse for flere sykdommer. I denne oversiktsartikkelen fokuserer vi på MR-metabolomikk i prostata- og brystkreft, og i andre klinisk utfordrende sykdommer som preeklampsi og hjerte- og karsykdom.

Materiale og metode: Artikkelen er basert på en gjennomgang av tilgjengelig litteratur innenfor MR-metabolomikk og på forfatterens erfaring i bruk av metoden i basal og klinisk forskning på prostatakreft og brystkreft, og svangerskapsrelaterte tilstander som preeklampsi.

Resultat: MR-metabolomikk har påvist flere diagnostiske markører i vev, blod og urin for de sykdommene som artikkelen tar opp. Kolinholdige metabolitter er potensielle diagnostiske kreftmarkører, og metabolittene glysin og laktat er vist å være viktige markører for overlevelse i brystkreftvev. De prostataspesifikke vevsmarkørene citrat og polyamin kan skille aggressiv fra indolent prostatakreft, og de kan observeres direkte i pasienten ved MR-metabolomikk *in vivo*. I preeklampsiske blodprøver observeres det en lipidfordeling innenfor lipoproteinpartiklene tilsvarende det man kan se hos pasienter med hjerte og kar-sykdom.

Konklusjon: MR-metabolomikk har vist seg lovende for å oppdage nye biomarkører både i vev og biologiske væsker, men også for å oppnå biologisk forståelse for de sykdommer som det er fokusert på i denne artikkelen. Den framtidige rollen til MR-metabolomikk i klinikken vil være avhengig av storskala valideringsstudier og standardisering av protokoller for prøveopparbeidelse, analyse og kvantifisering.

Nøkkelord: MR-metabolomikk, biomarkører, biologiske væsker, vev, MR-spektroskopi

■ Bioingeniøren er godkjent som vitenskapelig tidsskrift. Denne artikkelen er fagfellevurdert og godkjent etter Bioingeniørens retningslinjer.

MR-metabolomikk i jakten på biomarkører

Av TONJE H. HAUKAAS

(Bioingeniør, PhD)

AILIN F. HANSEN

(Bioingeniør, PhD student)

MARIE AUSTDAL (PhD)

TONE F. BATHEN (Professor)

MAY-BRITT TESSEM

(Forsker/Førsteamanuensis, PhD)

Institutt for sirkulasjon og bildediagnostikk, Norges teknisk naturvitenskapelige universitet (NTNU)

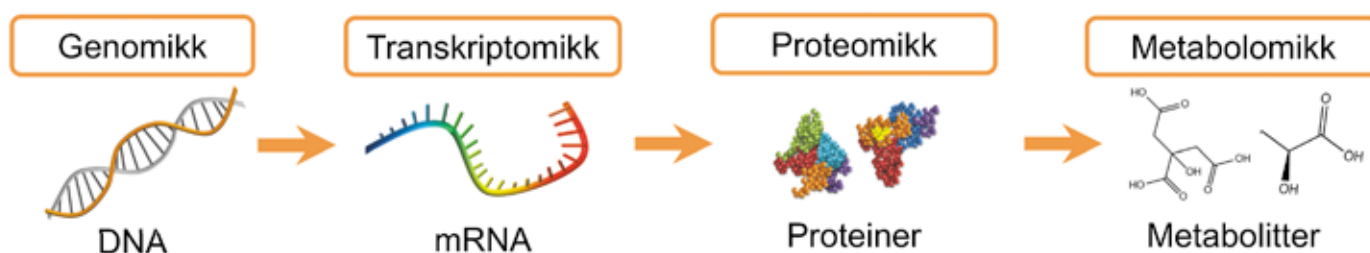
Bakgrunn

«-Omikk»-teknologi (-omics på engelsk) som genomikk, transkriptomikk, proteomikk og metabolomikk representerer analyser som kan produsere store mengder biologiske data som kan predikere eller forklare sykdom (figur 1). Metabolomikk er den nyeste, og fortsatt minst etablerte av disse -omikk teknologiene, som har hatt stor forskningsmessig interesse de siste årene. Metabolomikk defineres som studiet av små molekyler som kalles metabolitter og deres respons til patologisk stimuli eller genmodifisering (1). Selv små forandringer i gener eller proteinaktivitet, kan gi store endringer i metabolittkonsentrasjoner inne i vev eller biologiske væsker. I tillegg kan metabolittene i seg selv også ha regulatoriske effekter på gener eller proteiner, noe som gjør at metabolomikk kan gi mye informasjon om hvilke biologiske prosesser som er aktive til enhver tid. Metabolomikk er en teknikk som brukes innen mange fagfelt også utenfor medisin. Flere studier viser

at integrasjon av flere -omikk-nivåer (systembiologisk perspektiv) er nødvendig for et mer helhetlig bilde av de biologiske mekanismene.

I de senere år har økt forskningsaktivitet innenfor metabolomikk avslørt en klar verdi for deteksjon av nye biomarkører for komplekse sykdommer som bl.a. kreft, men også andre sykdommer som svangerskapsforgiftning (preeklampsi) og hjerte- og kar-sykdom. Metabolomikk-analyser av humant vev eller biologiske væsker som serum, plasma og urin kan gi en mer omfattende forståelse av biologi og sykdomsprogresjon enn ved analyse av en enkelt metabolitt eller et isolert metabolsk spor (2). Med økt vekt på den kliniske verdien av tidlig diagnostikk og behandling, særlig innenfor kreft, er vi avhengige av nye og robuste biomarkører som kan gi forbedret diagnose, utrede nye behandlingsmål og gi en mer presis prognose hos den enkelte pasient.

For forskere som bruker metabolomikk i sine studier, brukes hovedsakelig to typer teknologi; massespektrometri (MS) eller magnetisk resonans (MR). Selv om det i denne artikkelen fokuseres på bruk av MR for deteksjon av metabolitter, er det fordeler og ulemper både med MR- og MS-metabolomikk. Mens MS-metoder vil kunne detektere langt flere metabolitter, krever disse metodene at prøvene ekstraheres før analyse. Ved bruk av MR-spektroskopi, detekteres derimot kun få metabolitter på grunn av lavere sensitivitet, men samtidig kreves det minimalt med



FIGUR 1: Omikk-kaskaden viser flyten av biologisk informasjon fra DNA til metabolitter.

prøvepreparering. Dette gjør metoden svært reproducerbar og lett å kombinere med andre metoder (for eksempel genekspressjon eller histologi).

Ex vivo MR-spektroskopi utføres i dag som oftest på høyoppløselige magneter med feltstyrke typisk mellom 11,7-18,8 Tesla (500-800Mhz) til sammenligning med 1,5-3 Tesla feltstyrke på kliniske magneter brukt på pasienter ved en vanlig MR-bildeundersøkelse. Spektroskopi kan også gjøres direkte *in vivo* på pasienten samtidig med bildeundersøkelser, men pga. lavere feltstyrke og andre tekniske utfordringer er oppløsningen og signal-støy-forholdet lavere slik at færre metabolitter observeres. Foreløpig er det kun *in vivo* spektroskopi av hjernen som benyttes klinisk i Norge (kreft, nevrologiske og psykiatriske sykdommer) (3).

For analyser *ex vivo*, har automatisering av prøvepreparering og analyse muliggjort en storskala screening av biologiske væsker. Vevsprøver krever fortsatt manuell preparering og analyse, men også her er automatisert prøvemating utviklet til de høyoppløselige MR-instrumentene.

Prinsippet for deteksjon av metabolittene er å plassere prøven i et magnetfelt og utsette den for radiobølger som er spesifikke for den kjernen man ser etter, slik som ^1H . Kjernene vil absorbere energien og eksiteres. Når radiobølgene slås av, relakserer kjernene tilbake og sender ut et signal. Signalet fra hver av kjernene har en unik frekvens som er avhengig av dens kjemiske omgivelser i metabo-

littene. Signalet registres av instrumentet og vil resultere i et MR-spekter. Siden metabolittene har en bestemt kjemisk struktur med unik plassering av ^1H kjerner, vil hver metabolitt få et unikt MR-fingeravtrykk og kan dermed identifiseres i MR-spekteret.

MR-metabolomikk har et stort potensial for klinisk bruk da metoden krever minimal prøvepreparering både på vev og biologiske væsker, og gir kvantitativ høykapasitetsanalyse. I dag brukes MR-metabolomikk hovedsakelig som et verktøy for deteksjon av nye biomarkører, og også for å gi en mer omfattende forståelse av sykdomsbilde og sykdomsutvikling. Denne artikkelen gir en innføring i MR-metabolomikk som analyse og eksempler på bruk av metoden i forbindelse med prostatakreft, brystkreft, hjerte-karsykdom og preeklampsi.

Materiale og metode

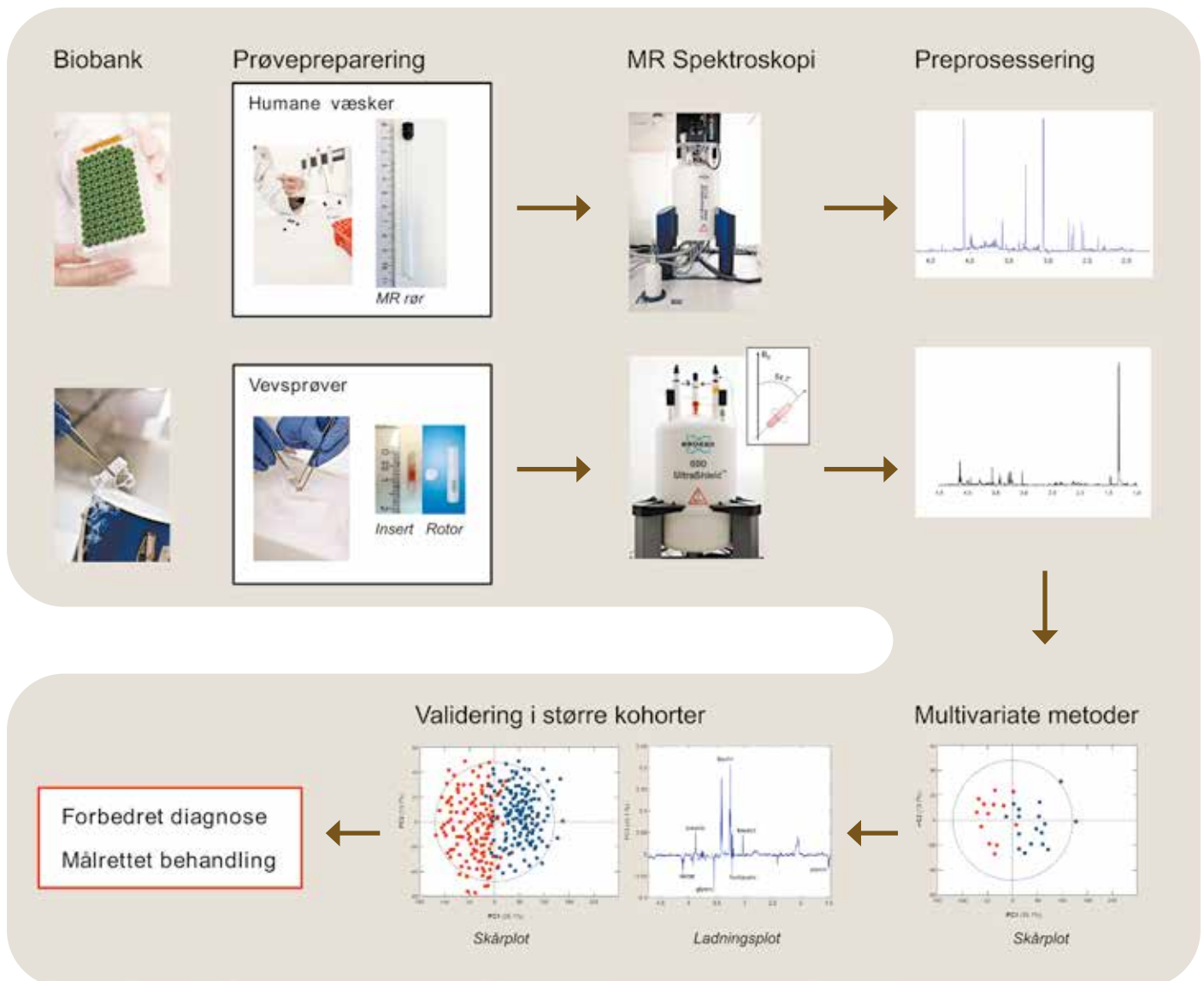
Artikkelen er basert på forfatternes egne erfaringer og langvarig arbeid innen basal og klinisk forskning med MR-metabolomikk på humant vev og biologiske kroppsvæsker. Artikkelen omfatter derfor utvalgte artikler på metodikk og sykdomsgrupper basert på forfatterens innsikt og overblikk over emnet. MR-spektroskopi kan detektere signal fra flere ulike MR-sensitive kjerner som ^1H , ^{13}C , ^{31}P og ^{19}F , men fordi ^1H forekommer i høyest kvantitet i kroppen, gir best signal og utgjør hovedtyngden i litteraturen, fokuserer denne artikkelen på ^1H -studier.

Høyoppløselig MR-spektroskopi på humane væsker

MR-spektroskopi er en ikke-destruktiv måte å måle metabolitter som er løselige i kroppsvæsker som serum og urin, men også i ekstrakter av for eksempel celler, vev eller fæces. Prøven blandes med en buffer som inneholder referankestoffet Trimethylsilylpropionat (TSP) og tungtvann (D_2O), samt stoff som hemmer bakterievekst, og som bidrar til å normalisere pH-nivået i prøven. Væsken pipetteres over i MR-rør i holdere som betjenes av en prøvebytter (figur 2, neste side). Med strømlinjet prøvepreparering og automatisk prøvebytte kan i underkant av 100 urinprøver eller 50 serumprøver analyseres i løpet av et døgn. Vanligvis kan omtrent 60 metabolitter identifiseres og kvantifiseres i urin, og 30-40 metabolitter i serum, i løpet av en fem minutters MR-analyse (figur 3, side 26). Opptil 200 metabolitter kan detekteres i humane væsker, men kompleksitet og overlapp i spekteret gjør sikker identifikasjon og kvantifisering utfordrende.

Høyoppløselig MR-spektroskopi på vevsprøver

Bruk av konvensjonelle MR-metoder som benyttes i væsker, ville for vevsprøver gi spektrale bestående av brede og overlappende signaler. MR-spektroskopi av vevsprøver benytter derfor en spesiell teknikk utviklet for analyse av faste og halvfast materialer. Ved å spinne vevsprøven med høy hastighet (5000 Hz) rundt en akse på $54,7^\circ$ (den «magiske» vinkelen) rela- ➤



FIGUR 2: MR-metabolomikk i biologiske væsker og vev, kan gjennom MR-spektroskopi gi biomarkører som kan føre til forbedret diagnose og målrettet behandling.

Foto: Geir Mogen, NTNU

tert til magnetfeltet, kanselleres effektene som fører til de brede toppene, og man oppnår spekter med høy oppløsning og smale topper (figur 3). Metoden omtales som høyoppløselig magisk vinkelspinning-MR, også kjent som high resolution magic angle spinning (HR-MAS) (4).

Vevsbiten for HR-MAS analyse bør, umiddelbart etter prøven er tatt, fryses ned i flytende nitrogen for å sikre unødvendig degradering av vevet (5). Vevet

oppbevares deretter i flytende nitrogen eller ved -80 °C frem til MR-analysen. Prøveprepareringen er enkel og rask å gjennomføre og tar bare noen få minutter. Prosedyren omfatter skjæring av frosset vev slik at prøven passer inn i spesialtilpassede prøverør (inserts) (figur 2). Vevsbiten med vekt ca. 10-15 mg regnes som optimalt for analysen, men analyse av prøver ned til 1-3 mg er også mulig. Prøven tilsettes en kjent mengde format løst

i tungtvann (3 µl). I vevsprøver har TSP vist seg å binde seg til proteiner og membrankomponenter og brukes derfor ikke i samme grad som ved analyse av humane væsker. Format tilsettes blant annet for innstilling (shimming) av MR-instrumentet og kan også benyttes som intern standard til kvantifisering av metabolittene. Prøverøret plasseres deretter i en zirkonium-rotor som overføres til magneten (figur 2) (6). Under hele prøvepreparere-

ringen holdes vevet frossent for å minimalisere degradering av prøven, etter som tine-/fryseprosesser kan medføre endring av metabolittkonsentrasjonene (5). Prøven plasseres i MR-instrumentet som på forhånd er kalibrert og sjekket for temperaturriktighet (1-5 °C) og hvorvidt den magiske vinkelen er korrekt innstilt. Antall prøver som kan analyseres i løpet av et døgn avhenger av type eksperiment. For eksempel inneholder ofte brystvev naturlig mye lipider, og i analyse av dette vevet bør derfor lipidene undertrykkes for at man skal kunne se mest mulig av andre metabolitter.

Ettersom HR-MAS er en ikke-destruktiv teknikk, vil vevsbiten være intakt etter analyse og kan benyttes i påfølgende analyser, for eksempel genanalyser, histologiske og immunhistologiske undersøkelser (7). I tillegg til å kunne kvalitetssikre hvilke typer celler som befinner seg i prøven, kan dette gi mulighet for å kombinere informasjon fra både gen- og metabolittnivå. Dette gir en unik innsikt i sykdomsmekanismer ved for eksempel kreft (8). Alternativet til HR-MAS er å gjøre en ekstraksjon av vevet og analysere dette ved hjelp av konvensjonelle væskebaserte MR-metoder. Ekstraksjonsprosessen har imidlertid en rekke ulemper, blant annet at kan det være usikkert om metabolittene i vevet blir ekstrahert i lik grad og kjemikalier som benyttes kan i tillegg medføre degradering eller endring av de opprinnelige metabolittene (9).

Kvantifisering av metabolitter

Posisjonen til de ulike toppene i MR-spekteret (kjemisk skift, oppgis i part per million; ppm) forteller hvilken metabolitt signalet kommer fra. I tillegg er signalintensiteten fra en metabolitt proporsjonal med konsentrasjonen. Ved hjelp av signalet fra en referanse med kjent konsentrasjon, kan dermed metabolitter i prøven kvantifiseres ved å bruke arealet under kurven (integralet). Ved overlappende signal fra flere metabolitter benyttes mer kompliserte kurvetilpassingsmetoder som enten manuelle (f.eks. PeakFit®) eller semi-automatiske (f.eks. LCModel

(10)) algoritmer. Manuell kurvetilpassing er svært tidkrevende og egner seg i utgangspunktet best for datasett med få prøver. Automatisk kurvetilpassing krever en kvalitetssikret og god modell i forkant av kvantifiseringen, men har vist seg å fungere for vevsstudier på prostatakreft (8, 11).

Analyse av MR-spekter med multivariate metoder

MR-spektrene består av flere tusen variabler, noe som ofte overgår antall prøver. Samtidig vil signalet fra en metabolitt være representert av flere variabler som dermed korrelerer med hverandre. Dette gjør at det kreves spesialiserte multivariate metoder for å tolke dataene, redusere antall variable og samtidig finne de viktige underliggende metabolske forskjeller mellom prøvene. Eksempler på slike metoder er prinsippal komponentanalyse (PCA) og partiell minste kvadraters metode (partial-least square, PLS) (12). Ved hjelp av lineære kombinasjoner av de originale variablene vil disse reduseres til langt færre ikke-korrelerte latente variabler. De nye latente variablene vil gi et nytt koordinatsystem (skårplot) (figur 2) hvor hver av de nye variablene har tilhørende ladningsprofiler. Disse ladningsprofilene forteller hvor viktig hver av de originale variablene var for å definere retningen på de latente variablene. Ved å kombinere informasjonen som finnes i skår- og ladningsplot kan man finne underliggende sammenhenger mellom prøver og variabler.

Prostatakreft

Prostatakreft er den hyppigste kreftformen hos menn, og i 2014 ble 4898 menn diagnostisert i Norge (13). Prostatakreft er i mange tilfeller en tilstand som ikke alltid behøver behandling, men det er svært viktig å påvise de aggressive tilfellene som sprer seg raskt og kan medføre tidlig død. Ved utredning må pasienten gjennomgå en klinisk undersøkelse og måling av prostataspesifikt antigen (PSA) i blod. Ved forhøyet PSA vil pasienten henvises til bildediagnostikk med MR av pros-

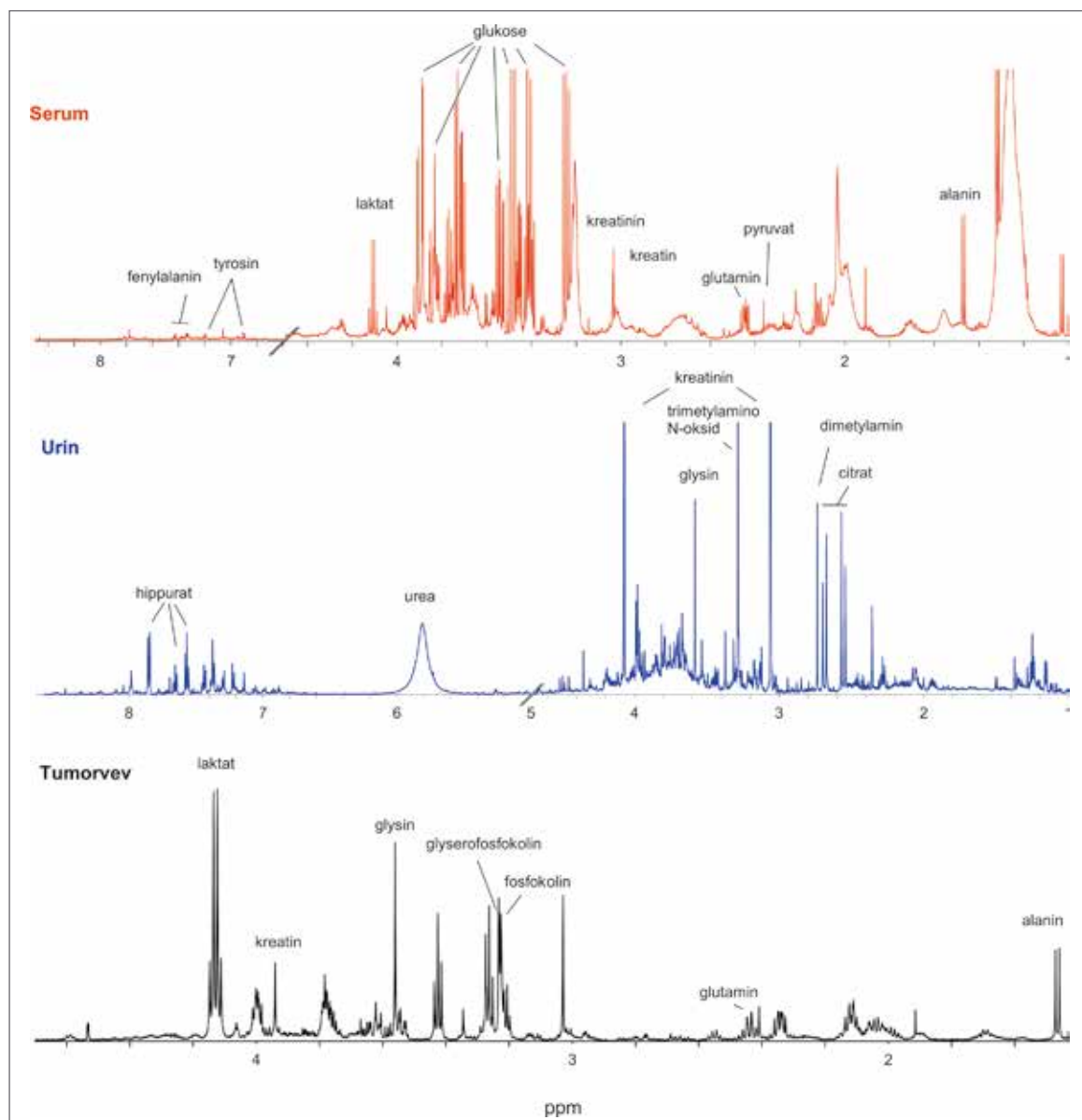
tata og ultralydveiledet vevsprøvetaking (med påfølgende histologi for Gleason vurdering). Dagens metoder er ikke tilstrekkelige for å skille aggressiv fra ikke-aggressiv kreft på et tidlig stadium i sykdomsutviklingen.

Prostatakreft fører til nedgang i metabolittene citrat og spermin (et polyamin), og økning av kolinholdige metabolitter. Citrat og spermin er antatt å kunne skille aggressiv og mindre aggressiv prostatakreft, mens høyere konsentrasjoner av glyserofosfololin finnes i høygradig kreft (Gleason score $\geq 4+3$) sammenliknet med lavgradig kreft (Gleason Score $\leq 3+4$) (11). Citrat er et mellomprodukt i sitronsyresyklus og prostata inneholder normalt en av de høyeste konsentrasjonene av citrat i kroppen. Spermin påvirker apoptose, proliferasjon, differensiering, DNA-struktur, genuttrykk og signalisering i cellen (14). Kolinmetabolitter er viktige i celleproliferasjon, blant annet som byggesteiner for membraner i cellene (11). Metabolittene kan måles ved analyse av vevsbiten (*ex vivo* HR-MAS) og resultatene er i stor grad overførbare til målinger i kliniske MR-skannere (*in vivo*). Analyse av serum/plasma viser endringer i fettsyremetabolismen (acylcarnitiner), kolin (glycerofosfolipider) og aminosyremetabolisme (arginin) (15), mens studier av prostatasekret også har vist citrat og spermin, samt myo-inositol som potensielle markører for prostatakreft (16).

Brystkreft

Blant kvinner er brystkreft den hyppigste formen for kreft og i 2014 ble det diagnostisert 3324 nye tilfeller i Norge (13). Økt screening og dermed tidlig oppdagelse har resultert i en fem års relativ overlevelse på omtrent 90 %, men heterogenitet gir stor variasjon i den enkelte pasients prognose og respons på behandling. Bedre forståelse av årsakene til denne variasjonen kan bidra til å identifisere nye behandlingsmål og finne markører som kan forutsi prognose eller behandlingsrespons. I Norge anbefales trippel diagnostikk for å avgjøre hvilken type behandling som skal gis til den enkelte pasient. Denne ►

FIGUR 3: Sammenligning av MR-spekter fra tre typer biologiske prøver tatt fra brystkreftpasienter; serum, urin og tumorvev. I serum- og urinprøver detekteres flere metabolitter enn i tumorvev, men ved hjelp av HR-MAS gir også vevsprøver høyoppløselige spekter hvor metabolittene har smale topper.



utredningen består av klinisk undersøkelse, bildediagnostikk og biopsi/cytologi av tumoren. Ut fra funn her bestemmes tumorens histologiske grad, størrelse, invasjon og lymfeknutestatus (17). Ved påvisning av en invasiv tumor bestemmes også hormonreseptorstatur for østrogen (ER), progesteron (PgR), reseptor for epidermal vekstfaktor (HER2) og tumorcelleproliferasjon (Ki67). Studier har vist at den metabolske profilen i brystkreftvev, korrelerer med flere av de diagnos-

tiske funnene, inkludert grad, spredning til lymfeknuter og hormonreseptorstatus (18), samt behandlingsrespons og overlevelse (19).

Slik det er observert i prostatakreftvev, sees ofte en økning i nivået av kolinholdige metabolitter i tumorer sammenlignet med nærliggende vev uten kreftceller. Ved å se nærmere på nivået av metabolittene kolin, fosfokolin og glyserofosfokolin, er det også funnet forskjeller blant undergrupper av brystkreftpasienter. Hos

pasienter med ER-negative tumorer, som er assosiert med dårligere prognose enn ER-positive tumorer, er nivået av glycin, glyserofosfokolin og kolin observert til å være høyere (20). Andre viktige metabolske endringer som er funnet i brystkreftvev er økt nivå av laktat og glysin hos pasienter med kortere overlevelse. Nyere funn basert på HR-MAS har dessuten avslørt tre naturlige metabolske undergrupper av brystkreft (21). Hvorvidt disse undergruppene er assosiert med ulik prognose

gjenstår å etterprøve, men det er grunn til å tro at metabolomikk kan bidra til stratifisering av pasienter for mer målrettet behandling.

Hjerte- og karsykdom

Hjerte- og karsykdom er den vanligste dødsårsaken i Norge og på verdensbasis (22). Mer enn 13 000 nordmenn dør av hjerte- og karrelatert sykdom hvert år, i tillegg til at mange opplever redusert livskvalitet. Årsakene er knyttet til både arvelige og miljøbaserte risikofaktorer, for eksempel høyt blodtrykk, røyking, diabetes og høyt kolesterolnivå. Disse faktorene brukes utstrakt i planlegging av forebyggende behandling, men det er likevel behov for nye metoder som kan gi enda bedre kartlegging av risiko og sykdomsutvikling.

MR-analyse av serum gir detaljerte kvantitative data på en rekke aminosyrer, fettsyrer og andre små metabolitter i tillegg til informasjon om subfraksjoner av lipoprotein. Metabolomikk-analyser i forbindelse med hjerte- og karsykdom benyttes foreløpig ikke i klinisk praksis, men er et aktivt forskningsfelt (23). Informasjonen om både metabolitter og lipoprotein subfraksjoner finnes i de samme MR-spektrene. Ved å bruke et bestemt type oppsett for MR-analyse kan subfraksjonene av lipoprotein modelleres. Modelleringen kan gjøres ved ulike metoder, men alle baserer seg på det samme prinsippet, nemlig at de brede lipoprotein lipidsignalene avhenger av sammensetning og størrelse på lipoproteinene. Denne informasjonen kan hentes ut ved dekonvolusjon eller andre typer modellering av spektrene (24-26). Den nærmeste kliniske translasjonen av metabolomikk innenfor hjerte- og karsykdom er sannsynligvis knyttet til en omfattende karakterisering av lipoproteiner, både med hensyn på risikoevaluering og respons på behandling (27).

Preeklampsi/ svangerskapstilstander

MR-metabolomikk blir også brukt til å undersøke svangerskapstilstander og relaterte sykdommer, med mål om å forutsi utvikling eller utvikle nye diagno-

semetoder. Metabolittprofilering i friske svangerskap legger grunnlag for videre forskning og kan gi nyttig informasjon om naturlig variasjon i svangerskapet (28-30). Både blodprøver, urinprøver og prøver av fostervann har blitt profilert i friske svangerskap. Det har vært spesielt fokus på svangerskapsforgiftning (preeklampsi) som kan være svært alvorlig både for mor og barn, fordi tilstanden verken kan forutsees eller behandles på en god måte. Den eneste kuren for preeklampsi er å forløse barnet og morkaken, og dette medfølger ofte for tidlig fødsel, lav fødselsvekt og andre assosierte komplikasjoner. Når tilstanden først har oppstått gir det store utslag på den metabolske profilen både i mors blod og urin, og i selve morkaken (31, 32). I urinprøvene ses lavere nivå av glysin, p-cresol sulfat og hippurat som assosieres med henholdsvis økt oksidativt stress, redusert nyrefunksjon og høyt blodtrykk. I serum ses økte mengder lipider og en såkalt «aterogen» lipidprofil med økte nivåer av «very low density lipoprotein» (VLDL) og lavere nivåer av «high density lipoprotein», HDL (31). Dette er et mønster som også ses hos personer med høyere risiko for hjerte- og karsykdommer, og funnene forankrer dermed hypotesen om at de to tilstandene er forbundet.

Når serum- og urinprøver analyseres på et tidlig stadium i svangerskapet, har det vist at kvinner som senere utviklet preeklampsi hadde den samme lipidprofilen tidlig i svangerskapet (33). I tillegg hadde kvinnene allerede på dette tidspunktet lavere utskillelse av hippurat i urinen, samt høyere kreatinin. Denne metabolske profilen kunne brukes til å forutsi preeklampsi hos kvinnene med 50 % sensitivitet og 10 % falsk positivrate, både alene og når enkelte av målingene ble kombinert med kvinnens kroppsmasseindeks og alder. Prediksjonen fungerte bedre enn når ultralydmålinger av blodgjennomstrømningen i morkaken ble brukt i samme modell (33).

Preeklampsi oppstår som følge av morkakens utvikling, men vevet kan ikke analyseres før svangerskapet er avsluttet. MR-metabolomikk gir derfor ikke direkte

informasjon om årsaken til sykdommen, men dens effekt på metabolismen når sykdommen har oppstått. Morkakebiopsier fra kvinner med preeklampsi viser endringer i taurin, glutamin og kolinmetabolismen (32), og spesifikke endringer i metabolismen målt med MR-metabolomikk kan på sikt benyttes til å undersøke til nå ukjente undergrupper av sykdommen. Eksempelvis er det mulig at kvinner med veldig forhøyet risiko for hjerte- og karsykdommer utgjør en egen type preeklampsi (34).

Klinisk relevans/Konklusjon

Det er et stort behov for pålitelige og sensitive biomarkører innenfor alle de belyste sykdomsgruppene i denne artikkelen. MR-metabolomikk er en metode med et stort, og fortsatt uforløst potensial for klinisk bruk. MR-metabolomikk vil kunne bli et viktig verktøy for identifikasjon av sykdomsmekanismer og dermed nye behandlingsmål, forbedret risikovurdering, stratifisering av pasienter til behandling samt overvåkning av behandling.

Forskning har allerede identifisert mange potensielle biomarkører basert på MR-metabolomikk. For å evaluere framtidig nytteverdi og muliggjøre klinisk translasjon er det nødvendig med validering i store pasientkohorter, gjerne basert på multi-senter studier. Selv om teknologien har modnet med intens jobbing de siste årene, er det fortsatt mye arbeid som gjenstår før teknologien er på nivå med for eksempel genekspressionsanalyser. Dette gjelder faktorer slik som standardisering av prøveopparbeidelse, MR-protokoller, kvantifisering og analyse.

Analyser av mindre invasive prøver slik som blod og urin kan være enklere å overføre til klinisk bruk, også fordi automatiseringsteknologi for analyser av væskebaserte prøver er kommet lenger. Det er også spennende muligheter for translasjon fra *ex vivo* MR-metabolomikk av vevsprøver, til *in vivo* pasientundersøkelser med MR-spektroskopi. I kreft vil man kunne observere metabolitter med høyere sensitivitet med nye 7 Tesla MR-skannere sammen-

liknet med skannere i klinisk bruk i dag (1.5 og 3 Tesla). Dette vil samtidig forutsette nye tekniske tilnærmelser som høyhastighets MR-spektroskopi, forbedret sekvensteknologi og prosesseringsverktøy som kan gi radiologene enkel tolkning av metabolomikkdata *in vivo*. ■

Referanser

- Lindon JC, Nicholson JK, Holmes E, Everett JR. Metabonomics: Metabolic processes studied by NMR spectroscopy of biofluids. *Concepts in Magnetic Resonance*. 2000;12(5):289-320.
- Fuss TL, Cheng LL. Evaluation of Cancer Metabolomics Using *ex vivo* High Resolution Magic Angle Spinning (HRMAS) Magnetic Resonance Spectroscopy (MRS). *Metabolites*. 2016;6(1):11.
- Posse S, Otazo R, Dager SR, Alger J. MR spectroscopic imaging: principles and recent advances. *J Magn Reson Imaging*. 2013;37(6):1301-25.
- Beckonert O, Coen M, Keun HC, Wang Y, Ebbels TM, Holmes E, et al. High-resolution magic-angle-spinning NMR spectroscopy for metabolic profiling of intact tissues. *Nat Protoc*. 2010;5(6):1019-32.
- Haukaas TH, Moestue SA, Vettukattil R, Sitter B, Lamichhane S, Segura R, et al. Impact of freezing delay time on tissue samples for metabolomic studies. *Front. Oncol*. 2016;6.
- Giskeødegård G, Cao M, Bathen T. High-Resolution Magic-Angle-Spinning NMR Spectroscopy of Intact Tissue. I: Bjerrum JT, red. *Metabonomics: Methods and Protocols*. New York: Springer; 2015. s. 37-50.
- Bertilsson H, Tessem M-B, Flatberg A, Viset T, Gribbestad I, Angelsen A, et al. Changes in gene transcription underlying the aberrant citrate and choline metabolism in human prostate cancer samples. *Clin Cancer Res*. 2012;18(12):3261-9.
- Hansen AF, Sandsmark E, Rye MB, Wright AJ, Bertilsson H, Richardsen E, et al. Presence of TMPRSS2-ERG is associated with alterations of the metabolic profile in human prostate cancer. *Oncotarget*. 2016; Epub 9.6.2016.
- Lin CY, Wu HF, Tjeerdema RS, Viant MR. Evaluation of metabolite extraction strategies from tissue samples using NMR metabolomics. *Metabolomics*. 2007;3(1):55-67.
- Provencher SW. Estimation of metabolite concentrations from localized *in vivo* proton NMR spectra. *Magn Reson Med*. 1993;30(6):672-9.
- Giskeødegård GF, Bertilsson H, Selnæs KM, Wright AJ, Bathen TF, Viset T, et al. Spermine and citrate as metabolic biomarkers for assessing prostate cancer aggressiveness. *PLoS one*. 2013;8(4):e62375.
- Bylesjö M. Extracting Meaningful Information from Metabonomic Data Using Multivariate Statistics. I: Bjerrum JT, red. *Metabonomics: Methods and Protocols*. New York: Springer; 2015. s.137-46.
- Kreftregisteret. Cancer in Norway 2014 – Cancer incidence, mortality, survival and prevalence in Norway. Oslo: Kreftregisteret; 2015.
- Wallace HM. Polyamines and their role in human disease--an introduction. *Biochem Soc Trans*. 2003;31(2):354-5.
- Giskeødegård GF, Hansen AF, Bertilsson H, Gonzalez SV, Kristiansen KA, Bruheim P, et al. Metabolic markers in blood can separate prostate cancer from benign prostatic hyperplasia. *Br J Cancer*. 2015;113(12):1712-9.
- Serkova NJ, Gamito EJ, Jones RH, O'Donnell C, Brown JL, Green S, et al. The metabolites citrate, myo-inositol, and spermine are potential age-independent markers of prostate cancer in human expressed prostatic secretions. *Prostate*. 2008;68(6):620-8.
- Helsedirektoratet. Nasjonalt handlingsprogram med retningslinjer for diagnostikk, behandling og oppfølging av pasienter med brystkreft: <http://www.helsebiblioteket.no/retningslinjer/brystkreft/> (1.7.2016).
- Bathen T, Jensen L, Sitter B, Fjøsne H, Halgunset J, Axelson D, et al. MR-determined metabolic phenotype of breast cancer in prediction of lymphatic spread, grade, and hormone status. *Breast Cancer Res Treat*. 2007;104(2):181-9.
- Cao M, Sitter B, Bathen T, Bofin A, Lønning P, Lundgren S, et al. Predicting long-term survival and treatment response in breast cancer patients receiving neoadjuvant chemotherapy by MR metabolic profiling. *NMR Biomed*. 2012;25(2):369-78.
- Giskeødegård G, Grinde M, Sitter B, Axelson D, Lundgren S, Fjøsne H, et al. Multivariate modeling and prediction of breast cancer prognostic factors using MR metabolomics. *J Proteome Res*. 2010;9(2):972-9.
- Haukaas TH, Euceda LR, Giskeødegård GF, Lamichhane S, Krohn M, Jernström S, et al. Metabolic clusters of breast cancer in relation to gene- and protein expression subtypes *Cancer & Metabolism*. 2016;4(1):1.
- World Health Organization Media Centre. The Top 10 Causes of Death: <http://www.who.int/media-centre/factsheets/fs310/en/> (1.7.2016).
- Rankin NJ, Preiss D, Welsh P, Burgess KE, Nelson SM, Lawlor DA, et al. The emergence of proton nuclear magnetic resonance metabolomics in the cardiovascular arena as viewed from a clinical perspective. *Atherosclerosis*. 2014;237(1):287-300.
- Otvos JD, Jeyarajah EJ, Bennett DW. Quantification of plasma lipoproteins by proton nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Clin Chem*. 1991;37(3):377-86.
- Hiltunen Y, Ala-Korpela M, Jokisaari J, Eskelinen S, Kiviniitty K, Savolainen M, et al. A lineshape fitting model for ¹H NMR spectra of human blood plasma. *Magn Reson Med*. 1991;21(2):222-32.
- Bruker Biospin GmbH. Study on NMR based Lipoprotein Subclass Analysis: http://www.bruker.com/fileadmin/user_upload/8-PDF-Docs/MagneticResonance/NMR/brochures/lipo-analysis_apps.pdf (1.7.2016).
- Dona AC, Coffey S, Figtree G. Translational and emerging clinical applications of metabolomics in cardiovascular disease diagnosis and treatment. *European journal of preventive cardiology*. 2016; Epub 23.4.2016.
- Pinto J, Barros AS, Domingues MR, Goodfellow BJ, Galhano E, Pita C, et al. Following healthy pregnancy by NMR metabolomics of plasma and correlation to urine. *J Proteome Res*. 2015;14(2):1263-74.
- Sachse D, Sletner L, Morkrid K, Jenum AK, Birke-land KI, Rise F, et al. Metabolic changes in urine during and after pregnancy in a large, multiethnic population-based cohort study of gestational diabetes. *PLoS One*. 2012;7(12):e52399.
- Diaz SO, Barros AS, Goodfellow BJ, Duarte IF, Carreira IM, Galhano E, et al. Following healthy pregnancy by nuclear magnetic resonance (NMR) metabolic profiling of human urine. *J Proteome Res*. 2013;12(2):969-79.
- Austdal M, Skrastad RB, Gundersen AS, Austgulen R, Iversen AC, Bathen TF. Metabolomic biomarkers in serum and urine in women with preeclampsia. *PLoS One*. 2014;9(3):e91923.
- Austdal M, Thomsen LC, Tangeras LH, Skei B, Mathew S, Borge L, et al. Metabolic profiles of placenta in preeclampsia using HR-MAS MRS metabolomics. *Placenta*. 2015;36(12):1455-62.
- Austdal M, Tangeras LH, Skrastad RB, Salvesen K, Austgulen R, Iversen AC, et al. First Trimester Urine and Serum Metabolomics for Prediction of Preeclampsia and Gestational Hypertension: A Prospective Screening Study. *Int J Mol Sci*. 2015;16(9):21520-38.
- Baschat AA. First-trimester screening for preeclampsia: moving from personalized risk prediction to prevention. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2015;45(2):119-29.