

Wissenschaftliches Programm und Abstracts

Donnerstag, 9. November 2006

*Ort: Charité, Hörsaal Innere Medizin, CCM
Sauerbruchweg 2*

19.00 Uhr Salzverbrauch und Bluthochdruck – Kleine Änderungen in der Zusammensetzung und Menge der Mineralsalze unserer täglichen Nahrung bewirken einen enormen Rückgang der Herz-Kreislaufkrankungen in Finnland

Heikki Karppanen, M.D., Ph.D.

Professor of Pharmacology, Institute of Biomedicine, Medical Faculty,
University of Helsinki
hkarppan@mappi.helsinki.fi

**Öffentlicher Vortrag in Deutsch,
Gemeinsam veranstaltet von EnForCé & GMS**

Today Finland is often called “NOKIA mobile phone country” or due to the PISA results “the leading school education country in the world”. Still in 1960s-1970s Finland and North Karelia, in particular, was called “The land of beautiful widows”. In the early 1970s it was realised that mortality from cardiovascular diseases was very high in Finland in general and in the province of North Karelia, in particular. Men, in particular, were prone to die at a young age from heart attack or stroke. Data illustrate the dramatic decrease in the age-standardized Coronary Heart Disease (CHD) mortality rate in Finland, both among men and among women.

Summary:

“Never change a winning game !”

Reduced (saturated) fat, low cholesterol foods with

- 1) decreased salt (sodium) and
- 2) increased potassium, calcium and magnesium levels

The use of these factors should be intensified.

The newest evidence indicates that sodium reduction is extremely important even for the prevention and control of obesity and diabetes.

Reference: Karppanen H & Mervaala E. Sodium intake and hypertension. Prog Cardiovasc Dis. 2006 Sep-Oct;49(2):59-75.

Freitag, 10. November 2006

Ort: Kaiserin Friedrich Stiftung, Robert-Koch-Platz 7

Analytik von Mineralstoffen, Spurenelementen und Proteinen

8.30 Uhr V2 Moderne Selenanalytik

Bernhard Michalke und Peter Grill

GSF Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit, Institut für Ökologische Chemie, Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg
bernhard.michalke@gsf.de

Selen ist ein essentielles Spurenelement. Es spielt eine wichtige Rolle in der Prävention bzw. beim besseren Verlauf von Koronarerkrankungen. Es wird auch in Zusammenhang mit oxidativem Zellschutz und vermindertem Auftreten bestimmter Krebserkrankungen gebracht. Andererseits wurde beobachtet, dass bei anderen Krankheiten, so zum Beispiel bei Cystischer Fibrose die Patienten deutlich geringere Serum-Selen-Spiegel zeigten.

Vor diesem Hintergrund wird Selenanalytik und Selen Speziesanalytik zunehmend wichtiger. Dabei steigen sowohl die Anforderungen an Probendurchsatz (Analysengeschwindigkeit), verbesserte Nachweisgrenzen und gesicherte Identifikation der einzelnen Selenverbindungen. Gleichzeitig darf natürlich die analytische Qualitätssicherung nicht vernachlässigt werden.

Je nach Fragestellung dienen als Proben entweder Körperflüssigkeiten, seltener Gewebeproben, wenn ein möglichst aktueller Selenstatus ermittelt werden soll, oder, - wenn es um geeignete Supplementierung geht – Selenpräparate mit unterschiedlicher Spezieszusammensetzung und Konzentration.

In der routinemäßigen Gesamt-Selenbestimmung findet die Graphitrohr Atomabsorptionsspektrometrie (GF-AAS) nach wie vor ihren sicheren Platz, obwohl sowohl der Probendurchsatz (bis zu max. 20 Messungen/h, = ca. 3 Proben/h jeweils mit Doppelbestimmung und Standardaddition) als auch die Nachweisgrenzen von ca. 1 µg/L in der Messlösung (ca. 5 - 10 µg/L im Serum, 50 µg/kg nach Aufschluss) deutlich Grenzen setzen für die zunehmend „speziellen“ Anforderungen. Der große Vorteil der GF-AAS liegt eindeutig im geringen Probenvolumen – wichtig wenn nur sehr wenig Probe zur Verfügung steht, etwa bei Mäuseserum oder Säuglingsserum – und in den vergleichsweise geringen Anschaffungs- und Betriebskosten.

Wenn die Probenmenge keine Rolle spielt, sind ICP-Atomemissionsspektrometrie (ICP-AES) oder ICP-Massenspektrometrie (ICP-MS) moderne Analysemethoden für Selen. Beide sind allerdings mit spezifischen Problemen behaftet, die erst umgangen oder beseitigt werden müssen. Für Selen ist die Anregungsenergie im induktiv gekoppeltem Argonplasma (ICP) nicht optimal, so dass mit ICP-AES zunächst nur vergleichsweise schlechte Nachweisgrenzen erreicht werden (ca. 10 µg/L in der Messlösung). Moderne Systeme kombinieren das Messverfahren mit einem automatischen on-line Hydrid Generator. Hierbei wird im FIAS Modus NaBH₄ (ca. 1 %) und ca. 10 % HCL gleichzeitig zur Probe gemischt. Es bildet sich gasförmiges Se-Hydrid, welches nach Abscheidung der Flüssigkeit ohne Zerstäuber quantitativ ins Argonplasma eingeleitet wird. Dadurch können jetzt Nachweisgrenzen um 0.1 µg/L erreicht werden. Die Stabilität des Systems und die Linearität der Detektion sind ausgesprochen gut. Im Routineeinsatz konnte sich HG-ICP-AES sehr gut bewähren, nicht zuletzt wegen des hohen Probendurchsatzes von ca. 20 - 25 Proben/h.

Die ICP-MS verspricht für viele Elemente die besten Nachweisgrenzen. Leider trifft dies bei den Geräten älterer Generation ohne Hochauflösung oder Kollisionszellen/dynamische Reaktionszellen – Technologie wegen der Interferenzen auf den Se Isotopen nicht zu. Das

Hauptisotop ^{80}Se mit einer relativen Häufigkeit von 49,7 % wird vollständig vom $[\text{Ar-Ar}]^+$ Cluster gestört, welcher bei den hohen Temperaturen im Argonplasma entsteht. Aber auch die anderen Se Isotope (76, 77, 82) können in Realproben nicht störungsfrei gemessen werden, so dass immer mit Fehlbestimmungen zu rechnen ist. Beispiele für Interferenzen bei den einzelnen Isotopen sind: ^{77}Se : $^{40}\text{Ar}^{37}\text{K}$, $^{40}\text{Ar}^{37}\text{Cl}$; ^{78}Se : $^{62}\text{Ni}^{16}\text{O}$, $^{40}\text{Ar}^{38}\text{Ar}$, ^{80}Se : $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ar}$, $^{40}\text{Ar}^{40}\text{Ca}$, ^{82}Se : $^{66}\text{Zn}^{16}\text{O}$. Diese Interferenzen können mit Sektorfeld Geräten im hochauflösenden Modus vom eigentlichen Se Signal abgetrennt werden. Eine fehlerfreie Messung ist dann in der Regel in wässrigen Lösungen oder Aufschlusslösungen möglich. Allerdings verschlechtert die hohe Auflösung die Nachweisstärke. Außerdem können nur die Nebenisotope, in der Regel ^{77}Se , ^{78}Se , und ^{82}Se mit den (geringen) relativen Häufigkeiten 7,6 %, 23,6% und 9,2 % zur Messung herangezogen werden, da die Störung durch den $[\text{Ar-Ar}]^+$ Cluster auf dem Hauptisotop nicht beseitigt wird. Bedingt durch die an sich hervorragende Nachweisstärke der Sektorfeld-ICP-Massenspektrometer werden diese Beeinträchtigungen in der Nachweisempfindlichkeit wieder aufgefangen, so dass schließlich doch Nachweisgrenzen von ca. 0.2 $\mu\text{g/L}$ in der Messlösung (10 $\mu\text{g/L}$ im Serum oder 10 $\mu\text{g/kg}$ in Festproben, jeweils nach Aufschluss) möglich sind.

Eine andere Möglichkeit die Interferenzen auf den Selenisotopen zu beseitigen bieten übliche Quadrupol –ICP-MS Geräte, die zusätzlich mit einer Kollisionszelle (collision cell: CC) bzw. dynamischen Reaktionszelle (dynamic reaction cell: DRC) zwischen ICP und MS ausgestattet sind. Hier wird He_2 (bei CC) bzw. Methan (bei DRC) mit niedrigen Flussraten in die Zelle eingebracht, wodurch der $[\text{Ar-Ar}]^+$ Cluster nach Kollision zerbricht. Die geladenen Bruchstücke werden am Weiterflug ins Massenspektrometer durch ein geeignetes elektrisches Feld gehindert, während die ^{80}Se Isotope noch ins MS gelangen und störungsfrei gemessen werden können. Nachweisgrenzen von 0.003 $\mu\text{g/L}$ in der Messlösung, bzw. 0.15 $\mu\text{g/Kg}$ in der Aufschlusslösung sind routinemäßig möglich. Serum wird üblicherweise 1: 200 in 0.5 % TMAH verdünnt um im Kalibrierbereich (0-2000 ng/L) messen zu können.

Eine wesentliche Herausforderung in neuerer Zeit sind nun Selenpeziesbestimmungen. Hierzu müssen die einzelnen Selenverbindungen erst von einander getrennt werden, etwa mittels HPLC oder Kapillarelektrophorese (CE), und dann mittels ICP-MS detektiert werden. Besondere Schwierigkeiten können bei der Trennung der Spezies auftreten, oft bedingt durch die Beladung der Trennmatrices mit einem großen Überschuss der Probenmatrix. Auch die Kopplung beider Systeme (HPLC oder CE mit ICP-MS) kann besonderen Aufwand und Schwierigkeiten verursachen. Hierbei müssen die jeweils optimalen Flussraten der HPLC und der Probenzufuhr am ICP-MS abgestimmt werden. Bei CE trifft dies in noch größerem Umfang zu. Hinzu kommt hier, dass zusätzlich der elektrische Stromkreis der CE geschlossen gehalten werden muss, obwohl am Ausgang der Kapillare die Zerstäubung der Probe erfolgt. Typische Applikationen sind die Aufklärung von Se-Verbindungen in Nahrungsergänzungstoffen oder Se-Speziation in Körperflüssigkeiten, etwa Serum (bei Cystischer Fibrose Erkrankten) oder in Muttermilch.

So wie in den letzten Jahren eine große Anzahl von Selenoproteinen gefunden wurde, zeigte sich parallel zu dieser Entwicklung, dass in vielen Se-Präparaten aus Selenhefen eine Vielzahl an Se-Metaboliten zu finden sind. Meist stehen dafür keine Standardverbindungen zur Verfügung, so dass eine Identifizierung über mehrdimensionale Verfahren gepaart mit „Standard matching“ nicht möglich oder nicht angeraten ist (Identifikationsunsicherheit). Daher spielt in diesem Feld eine weitere massenspektrometrisch basierende Methode, nämlich die Elektrospray-Ionisations-MS (ESI-MS) eine wachsende Rolle. Hierbei werden die gesamten Seleno-Moleküle (meist Peptide, Aminosäuren) ionisiert und detektiert. Mittels Fragmentierung und Tandem-MS kann dann häufig die Struktur dieser Selenverbindungen aufgeklärt werden. Zusammen mit molekular-biologischen Verfahren werden so metabolische bzw. katabolische Pfade von Selenverbindungen aufgeklärt.

- 8.55 Uhr** **V3 Selenoproteinnachweis und Selenstatus**
Lutz Schomburg, Berlin
- 9.20 Uhr** **V4 Ergebnisse zur Jodbestimmung in flüssigen und festen**
Nahrungsmitteln sowie im Urin mittels ICP-MS
Gerhard Jahreis, Jena
- 9.45 – 10.45 Uhr** **Posterdiskussion I & Kaffeepause**

Mineralstoffe und Spurenelemente – Grundlagenforschung

- 10.45 Uhr** **V5 Kupferhomöostase und M. Alzheimer**
Gerd Multhaup, Berlin
- 11.10 Uhr** **V6 Molekulare Grundlagen Kupfer-assoziiertes Erkrankungen**
Hartmut H Schmidt, Münster
- 11.35 Uhr** **V7 Pathogenese des Molybdän-Cofactor-Mangels – Development of**
a gene-directed orphan drug
Jochen Reiss, Göttingen
- 12.00 – 13.30 Uhr** **Mittagspause und Poster**

Überschuss und Toxizität

- 13.30 Uhr** **V8 Positive und negative gesundheitliche Auswirkungen von**
Eisenfortifikation und –supplementierung in Entwicklungsländern
Klaus Schümann, München

K. Schümann, B. Szegner, T. Ertle*

Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Technische Universität München, Am Forum 5,
D-85350 Freising, E-Mail: KSchuemann@schuemann-muc.de

*Abteilung Tierische Lebensmittel, Tierernährung und Ernährungsphysiologie, Universität
für Bodenkultur, Wien

Eisenmangel ist der am weitesten verbreitete Mikronährstoffmangel weltweit und für etwa die Hälfte der Anämien in der 3. Welt verantwortlich. Besonders gefährdet sind Frauen im gebärfähigen Alter und 6-24 Monate alte Kinder, besonders in tropischen Entwicklungsländern. Ursächlich ist dort die schlechte Bioverfügbarkeit von Eisen aus Reis, Mais, Cerealien und Hülsenfrüchten, die einen hohen Phytat- und Polyphenolanteil aufweisen, sowie der Mangel an Fleisch und Ascorbat-haltigen Früchten. Hinzu kommen Blutverluste durch Hakenwurminfektionen und Hämolyse durch Malaria. Eisenmangel führt zu einem Teufelskreis von reduzierter physischer Leistungsfähigkeit und verlangsamter geistiger Entwicklung im Kleinkindalter, die dann das Einkommen sofort oder in der Zukunft herabsetzen, sodaß eine hochwertige Ernährung mit ausreichender Verfügbarkeit von Mikronährstoffen unbezahlbar bleibt. Hinzu kommen die volkswirtschaftlichen Kosten einer

erhöhten perinatalen Mortalität von Mutter und Kind, die weltweit jährlich etwa 800.000 Leben fordern. Ein Dollar, der für Eisenfortifikation oder -supplementierung ausgegeben wird, soll der Volkswirtschaft Verluste von ~84 \$ ersparen und erscheint somit hoch sinnvoll.

Die WHO empfiehlt während der zweiten Schwangerschaftshälfte die Gabe von 100 mg Fe/d oral und für 6-24 Monate alte Kinder die Gabe von 12.5 mg Fe/d, wenn die Prävalenz von Anämien > 40 % liegt. Leider waren Eisensupplementierungsprogramme in der Vergangenheit nicht sehr erfolgreich, was z.B. im Falle Indiens auf mangelhafte Organisation und Überwachung zurückgeht, ggf. auch auf mangelnde Aufklärung und Compliance der Bevölkerung und darauf, dass etwa die Hälfte der Anämien keine Eisenmangelanämien sind.

Ein weiteres Problem ist, dass die Gabe von Eisen gemäß diesen Empfehlungen nicht ohne Gefahren ist. Gesteigerte Häufigkeit von Diarrhö bei Kindern ist epidemiologisch belegt. Hinzu kommt der oxidative Stress im Magen-Darmbereich, der die gastrointestinalen Nebenwirkungen bei oralen Gaben über 60 mg Fe mit erklärt und den Verdacht der Risikosteigerung für Kolonkrebs geweckt hat. Auch gibt es Hinweise auf oxidativen und entzündlichen Stress, intrazellulär und in den Gefäßen. Neu seit Januar 2006 sind die Ergebnisse der WHO-Mega-Studie in Pemba, die an der ostafrikanischen Küste den Einfluss prophylaktischer Gaben von Eisen und Folsäure auf die Häufigkeit von Krankenhausaufenthalten und Mortalität in Malariagebieten untersuchte. Die Häufigkeit von schweren Krankheitsverläufen und Todesfällen bei Malaria war nach Eisengabe signifikant erhöht, allerdings nur bei Kindern mit adäquatem Eisenstatus. Bei Kindern mit Eisenmangel waren die schweren Verläufe und Todesfälle bei eisensupplementierten Kindern mit Malaria seltener. Diese Beobachtung an etwa 30.000 Kindern löste eine heftige Diskussion um den Sinn flächendeckender Eisensupplementierungsprogramme in Malariagebieten aus, die sich mit den Eisenmangelgebieten weit überlappen. Wünschenswert wäre eine gezielte Eisengabe an nachweislich eisenarme Kinder. Nach zuverlässigen, im Feld praktikablen, bezahlbaren und kulturell akzeptablen Methoden zur Bestimmung und Überwachung des Eisenstatus von vielen Millionen Kindern im Rahmen von Public-Health-Interventionen wird derzeit dringend gesucht, um das Dilemma von Schäden durch Eisenmangel und Eisengabe zu lösen.

13.55 Uhr **V9 Wirkmechanismen von Arsenverbindungen bei der Krebsentstehung,
Andrea Hartwig, Berlin**

14.20 Uhr **V10 Mineralstoffe in Nahrungsergänzungsmitteln – eine Risikobewertung
Anke Weissenborn, Berlin**

14.45 – 15.15 Uhr **Kaffeepause und Poster**

Selen in Gesundheit und Krankheit

15.15 Uhr **V11 Selen und Erkrankungen des GI-Trakts
Regina Brigelius-Flohé, Potsdam**

15.40 Uhr **V12 Selen und Autoimmunerkrankungen
Georg Brabant, Manchester**

- 16.05 Uhr** **V13 Selen und Schilddrüse**
Cornelia Schmutzler, Berlin
- 16.30 Uhr** **V14 Selen und kardiovaskuläres System**
Renate Schnabel, Mainz
- 17.00 Uhr** **GMS Mitgliederversammlung**
- 19.30 Uhr** **Posterdiskussion & Posterparty**

Samstag, 11. November 2006

Ort: Kaiserin Friedrich Stiftung, Robert-Koch-Platz 7

cont.: Selen in Gesundheit und Krankheit

- 8.30 Uhr** **V15 Selen und Herz**
Markus Conrad, München
- 8.55 Uhr** **V16 Selen und Entwicklung**
Markus Brielmeier, München
- 9.20 Uhr** **V17 Selen und gastrointestinale Tumoren**
Lutz Schomburg, Berlin
- 9.45 Uhr** **V18 Selen und ZNS**
Ulrich Schweizer, Berlin
- 10.10. – 11.00 Uhr** **Posterdiskussion II und Kaffeepause**
- 11.00 Uhr** **Verleihung des Heinz Zumkley Preises 2006 der GMS**

Klinische Relevanz von Spurenelementen und Mineralstoffen: Ergebnisse epidemiologischer und klinischer Studien

- 11.20 Uhr** **V19 Iodanalytik im Serum und in Körperflüssigkeiten**
Johann Rendl, Karlsruhe
- 11.45 Uhr** **V20 Selenium-Iodine-Iron-Interactions**
Michael Zimmermann, Zürich
- 12.10 Uhr** **V21 Study of Health in Pomerania: Eisenstatus und Schilddrüse**
Henry Völzke, Greifswald
- 12.40 Uhr** **V22 Papillon-Studie und Iodstatus in Deutschland**
Christoph Reiners, Würzburg
- 13.40 Uhr** **V23 Selen und Sepsis**
Roland Gärtner, München

Poster

P1 Determination of haem-bound ⁵⁹Fe-activity in ⁵⁹Fe-distribution studies in mice **B. Szegner, T. Ettle*, K. Schümann**

Wissenschaftszentrum Weihenstephan, Technische Universität München, Am Forum 5,
D-85350 Freising; E-Mail: KSchuemann@schuemann-muc.de

*Abteilung Tierische Lebensmittel, Tierernährung und Ernährungsphysiologie, Universität
für Bodenkultur, Wien

Aim of the study: ⁵⁹Fe-distribution as mediated by proteins engaged in iron homeostasis is likely to be altered by genetic manipulation of the engaged proteins. To assess the effect of such manipulations on body ⁵⁹Fe-distribution over time, it is pivotal to account for haem-bound ⁵⁹Fe-activity in the residual tissue blood content. For this purpose the present study tested three different methods to assess or reduce the residual blood volume in organs and tissues of mice.

1) Use of ⁵⁹Fe-labelled erythrocytes: We assessed the residual blood volume in each organ and tissue by determination of the activity in ⁵⁹Fe-labelled erythrocytes 15 minutes after injection and related the activity in each organ to that in the blood of each animal. Total blood volume in the animals was assessed in the same experiments by determining the dilution of the injected ⁵⁹Fe-labelled erythrocytes. It amounted to 4.4 % of body weight. Both results agree plausibly with corresponding literature data for rats. Blood losses up to 25 % of the whole blood volume didn't show much influence on residual blood content of organs.

2) Reduction of residual blood in organs by whole body perfusion with saline: We tested to what extent the blood content in mice could be washed out by whole body perfusion with phosphate buffered saline via the left cardiac ventricle. An average of 92 % of whole blood volume containing ⁵⁹Fe-labelled erythrocytes could be mobilised from the whole animal. Blood retention differed markedly between organs, being high in spleen and fur due to tissue morphology. In lungs and heart residual blood remained high as an artefact of the perfusion technique via the left ventricle.

3) Separation of haem- and nonhaem-iron between a hydrophilic and lipophilic phase: Separation of ⁵⁹Fe-labelled haem- or nonhaem-iron between a lipophilic phase (cyclohexanone) and a hydrophilic phase (9 M orthophosphoric acid) permits individual assessment of the residual blood content in each organ of each animal. This method is unsuitable for the determination of residual blood in testes, though. Moreover, comparably large quantities of tissue homogenates and sufficient ⁵⁹Fe are needed to make enough ⁵⁹Fe-activity available for gamma-detection, particularly in preparations from organs that accumulate little iron. The spill-over of ionic ⁵⁹Fe into the lipophilic phase amounted to 5 %. That of haem-bound ⁵⁹Fe into the hydrophilic phase was 4 - 6% when the tissue was processed for separation within 24 h after killing the animal. After longer intervals, the spill-over of ⁵⁹Fe-label from haem-iron into the hydrophilic phase increased over time and reached 36 % after 28 days which seems to be due to haem degradation.

Conclusion: Correction of total ⁵⁹Fe-content in mouse tissues for residual tissue blood content as determined by injection of ⁵⁹Fe-labelled erythrocytes seems a feasible approach to estimate the endogenous ⁵⁹Fe-content in all tissues. Whole body perfusion is useful to reduce the residual blood volume in the liver and many other organs, but not so in spleen, fur, lungs or heart. Separation of ⁵⁹Fe-labelled haem- and nonhaem-iron provides an individual assessment of endogenous ⁵⁹Fe tissue content for each organ from each animal. However, this technique is highly labour-intensive, not applicable for testes, and requires fresh tissue homogenates. Reliable methods to conserve ⁵⁹Fe-binding to haem over longer periods need to be developed.

P2 Iodine and Iodolactones Inhibit Growth Of Breast Cancer Cells.

R. Gärtner, P. Rank, T. Ergelen.

Medizinische Klinik Innenstadt der Universität München

roland.gaertner@med.uni-muenchen.de

Background: The prevalence of breast cancer is about 5-fold lower in areas with high iodine intake compared to moderate or low iodine intake. It has been shown in vitro, that iodide and more effective iodine inhibit growth of breast cancer cells. Also in animal studies, induction of chemically induced breast cancer could be prevented by high dose iodine feeding. Not only the lactating mammary cells express NIS (sodium-iodine-symporter) and lactoperoxidase, but also around one third of breast cancer cells.

Aim: As we previously could demonstrate that the inhibitory effect of iodine on thyroid cell growth is mediated by iodolactones, especially 6-iodo-5-hydroxy-eicosatrienoic acid (δ -iodolactone), we now compared the effect of iodide, iodine and δ -iodolactone on growth inhibition and apoptosis in human breast cancer cells (MCF 7).

Methods: δ -Iodolactone was synthesized as described from arachidonic acid with lactoperoxidase and H_2O_2 under nitrogen atmosphere and purified by silica gel chromatography as described. MCF 7 cells were cultured in RPMI containing 10% (v/v) FCS until they were confluent. Then around 2000 cells were distributed in 12-well plates and grown for 48 h in RPMI containing 5% FCS. Thereafter different concentrations of iodide, iodine (Lugol) or δ -iodolactone were added for 24 h. Growth rate was estimated by cell counting in a Coulter Counter adapted for epithelial cells. Apoptosis was determined by a mitochondrial potential assay (DePsipher) and the number of apoptotic cells counted by two independent, experienced technicians.

Results: Iodide in concentrations of 0, 1, 10 and 100 μ M dose-dependently inhibited MCF 7 cell growth from 100% to 94%, 84% and 68% respectively. In contrast, iodine in the same concentration inhibited growth from 100% to 67%, 54% and 51%. In contrast, already 2 μ M of δ -iodolactone decreased growth rate from 100% to 72% and 5 μ M to 70%. The inhibition of growth was due to apoptosis, and not necrosis, as the amount of apoptotic cells corresponded with the growth inhibition.

Conclusion: The effect of iodine as well as δ -iodolactone on growth inhibition is comparable to that on thyroid cells. δ -iodolactone is about 50-fold more effective compared to iodide and as effective as iodine in inducing growth inhibition by induction of apoptosis in MCF 7 cells. We suppose, that iodide and more effective iodine generate iodolactones within the cell membrane and these iodolactones induce apoptosis. The results support the hypothesis, that iodine might prevent and even inhibit breast cancer cell proliferation.

P3 Genotoxic effects after copper overload

¹T. Schwerdtle, ¹I. Hamann, ¹G. Jahnke, ¹C. Richter, ²G.L.Dianov, ¹A.Hartwig

¹ TU Berlin, Institut für Lebensmitteltechnologie und Lebensmittelchemie, 13355 Berlin

² Radiation and Genome Stability Unit, MRC, Harwell, Oxfordshire OX11 0RD, U.K.

Andrea.Hartwig@tu-berlin.de

Copper is an essential trace element involved, among other functions, in enzymatic antioxidative defence systems. Therefore copper deficiency can result in multiple pathologies, which can in part be linked to alterations in the antioxidant defence system and ultimately can lead to excessive oxidative stress. However, similar to copper deficiency, copper overload may also show adverse effects as copper toxicity can result in oxidative stress and subsequent tissue damage. Free copper ions or low molecular copper complexes catalyse Fenton-type reactions, generate reactive oxygen species and induce protein and nucleic acid oxidation. In addition, its ability to bind to proteins and nucleic acids enables copper to specifically promote oxidative modification reactions. Living cells ensure essential copper functions and prevent copper toxicity by a tight control of the free copper level by highly efficient metal chelating proteins. However when the concentration of free copper increases, either by environmental or pathological causes, cell damage may occur. To gain insight into the discrepancy between the protective properties of copper on the one hand and its toxicity on the other hand, we examined the genotoxic effects of CuSO₄ in cultured human cells. The data presented in this study demonstrate that in cultured HeLa S3 cells copper induces a significant amount of oxidative DNA damage only at high cytotoxic concentrations, but interferes at lower non-cytotoxic concentrations with the repair of oxidative DNA damage induced by visible light. As a first mechanistic hint, inhibition of H₂O₂-induced poly(ADP-ribose)ylation was identified in cultured cells. Poly(ADP-ribose)ylation is one of the first nuclear events following DNA strand break induction, where ADP-ribose residues from NAD⁺ are covalently attached to proteins, and is mediated by members of the so-called “Poly(ADP-ribose) polymerase (PARP)-family”. PARP-1, the founding member of this family is believed to mediate the main part of poly(ADP-ribose)ylation and although its role is not fully understood up to now, there is strong evidence that PARP-1 contributes to the repair of oxidative DNA damage. Further experiments demonstrated a strong inhibition of the activity of isolated PARP-1 by copper, indicating that the observed decrease in cellular poly(ADP-ribose)ylation might be due to changes in the activity of PARP-1. Bioavailability studies of copper showed a dose dependent uptake in cells and pointed out the relevance of the applied concentrations. Taken together, the results indicate that copper, under conditions of either disturbed homeostasis or overload due to high exposure, exerts defined genotoxic effects. Hence with respect to dietary copper intake or supplementation a balance needs to be maintained to prevent overload on the one hand and to ensure sufficient uptake for essential copper functions on the other hand.

P4 Einfluss von Aminoglykosiden auf die Selenoprotein Biosynthese

B. Heynisch, K. Renko, B. Hollenbach, P. Hofmann, U. Schweizer, J. Köhrle und L. Schomburg

Institut für Experimentelle Endokrinologie, Charité Campus Mitte, 10117 Berlin.

lutz.schomburg@charite.de

Einführung: Die Biosynthese von Selenoproteinen ist in mehreren molekularen Aspekten einzigartig. Zur Insertion der 21ten proteinogenen Aminosäure Selenocystein (Sec) bedarf es eines komplexen Zusammenspiels spezialisierter cis- und trans-agierender Faktoren. Das Transkript eines Selenoproteins enthält das Opal-Stop Codon UGA, welches in Kombination mit einer Selenocystein-Insertions Sequenz im 3'-nichtkodierenden Bereich der mRNA als Sec-Codon interpretiert werden kann. Hierzu sind noch Sec-spezifische Translationsfaktoren nötig. Dieser cotranslationale Einbau von Sec kann durch die Interaktion der eukaryontischen Ribosomen mit Antibiotika aus der Aminoglykosid-Familie gestört werden. Dieser Einfluss wurde von amerikanischen Wissenschaftlern exemplarisch für den negativen Effekt von Geneticin (G418) auf die Synthese der Sec-enthaltenden Glutathionperoxidase 1 gezeigt.

Studienziel: Wir wollten nun eruieren, inwieweit G418 auch die Expression anderer Selenoenzyme beeinflusst und inwiefern dieser Effekt spezifisch für G418 ist.

Methoden: Humane Hepatokarzinomzellen (HepG2) wurden antibiotikafrei kultiviert und zu einem gegebenen Zeitpunkt mit unterschiedlichen Dosierungen der folgenden Aminoglykoside inkubiert: Amikacin, Geneticin (G418), Hygromycin, Streptomycin, Neomycin, Paromomycin oder Tobramycin. Nach definierten Inkubationszeiten wurden die Enzymaktivitäten der Glutathion Peroxidasen (GPx) und der Iodothyronin-5'-Deiodasen (DIO) aus den Zellhomogenaten vermessen. Zusätzlich wurde die Konzentration des ins Medium sezernierten Selenoprotein P bestimmt.

Ergebnisse: G418 erwies sich als das potenteste Aminoglykosid unter den getesteten Antibiotika bei der Störung des Sec-Einbaus in Selenoproteine. Die Effekte waren zeit- und dosisabhängig und variierten mit dem Selengehalt des Mediums. Je höher das Selenangebot während der Kultivierungsphase war, desto geringer war der Einfluss der Aminoglykoside. Neben den erwarteten Effekten auf die Expression der GPx1 konnte auch ein starker Einfluss auf die Selenoprotein P Biosynthese und Freisetzung beobachtet werden. Die Inkubation mit 100 µg/ml G418 ohne Selenitzusatz und die Inkubation in Gegenwart von 100 nM Natriumselenit bewirkten eine ca. 10-fach erhöhte Selenoprotein P Konzentration im Medium nach 48 h. Die simultane Applikation von 100 µg/ml G418 und 100 nM Natriumselenit steigerten die Produktion nochmals um den Faktor 2-3.

Fazit: Aminoglykoside stören sowohl die Expression von Selenoprotein P als auch die Biosynthese von Isoenzymen der GPx- und Dio-Familien. Da in Gegenwart von Aminoglykosiden der Einbau alternativer Aminosäuren katalysiert wird, entstehen selenfreie Proteine, die bekanntermaßen enzymatisch nicht oder nur sehr vermindert aktiv sind. Die Tatsache, dass sich G418 als maximal störend erwies, rechtfertigt auch im Hinblick auf den Selenmetabolismus die Verbannung aus der klinischen Praxis. Wir vermuten, dass die gestörte Selenoprotein-Biosynthese unter G418-Therapie zu den beschriebenen Nebenwirkungen (Oto- und Nephrotoxizität) in der Klinik beigetragen hatte.

Gefördert durch die DFG (Scho 849/1-1) und die Deutsche Krebshilfe (10-1792 SchoI).

P5 Distinct roles for neuronal selenoproteins in cerebellar development

Ulrich Schweizer^{1,2}, **Eva Wirth**^{1,2}, **Suman Bharathi**^{1,2}, **Marcus Conrad**³, **Markus Brielmeier**³, **Lino Tessarollo**⁴, **Dolph Hatfield**⁵, **Josef Köhrle**²

1 Neurobiology of Selenium, Neuroscience Research Center, Charité – Universitätsmedizin Berlin

2 Institute for Experimental Endocrinology, Charité – Universitätsmedizin Berlin

3 GSF Forschungszentrum München/ Neuherberg

4 Neurodevelopment Section, Mouse Cancer Genetics Program, NCI Frederick, MD, USA

5 Molecular Biology of Selenium, Basic Research Laboratory, NCI, NIH, Bethesda, MD, USA

Ulrich.Schweizer@charite.de

Selenoproteins, i.e. proteins containing the rare amino acid selenocysteine, are among the key enzymes of cellular redox defense and regulation. Targeted ablation of *Trsp*, the gene encoding tRNA(Sec), leads to early embryonic lethality confirming the essentiality of selenoproteins for mammalian development. We abrogated selenoprotein biosynthesis in neurons by cell type-specific Cre mediated recombination of *Trsp*. Resulting knockout mice develop a devastating neurological phenotype in the second week of life with marked cerebellar hypoplasia. Analysis of postnatal cerebellar development revealed patterned Purkinje cell (PC) loss. A marked reduction of the external germinal layer suggests defective precursor cell proliferation compatible with cerebellar hypoplasia. More specifically, GABAergic interneurons (presumptive basket cells and stellate cells) are almost completely lost in neuron-specific *Trsp* knockout mice. The phenotypes of these mice were compared with different mouse strains deficient in individual selenoproteins, e.g. selenoprotein P and thioredoxin reductases. On the basis of these studies, conclusions can be drawn on the functions of individual selenoproteins within the brain. However, the specific mechanisms how these selenoproteins control neuronal development and survival require further study.

P6 Hepatic deiodinase activity is dispensable for the maintenance of normal circulating thyroid hormone levels, but not for thyroid hormone-dependent gene expression

Florian Streckfuß^{1,2}, Inka Hamann², Lutz Schomburg², Marten Michaelis², Remy Sapin³, Marc O. Klein⁴, Josef Köhrle², and Ulrich Schweizer^{1,2}

1 Neurobiology of Selenium, Neuroscience Research Center, Charité – Universitätsmedizin Berlin

2 Institute for Experimental Endocrinology, Charité – Universitätsmedizin Berlin

3 Institut de Physique Biologique, Unité d'Analyses Endocriniennes, Hopital Civil, Strasbourg Cedex, France

4 Departments of Endocrinology, Centre Hospitalier et Universitaire de Nancy, France
Ulrich.Schweizer@charite.de

Thyroid hormone (TH) homeostasis depends both on hormone production by the thyroid gland and on peripheral activation and inactivation of TH by the selenoenzymes of the deiodinase family (Dio). We wanted to determine the contribution of hepatic Dio to circulating TH levels. Therefore, we made use of mice in which liver-specific inactivation of tRNA^{Sec} abrogates selenoenzyme expression including hepatic Dio1. Serum levels of TSH, total T4, and total T3 were not different from controls. In order to assess whether lack of hepatic *Dio1* is compensated for by increased expression in other tissues, we measured Dio1 and Dio2 activities in kidney, skeletal muscle, heart, brown adipose tissue, and brain. Again, we found no indication of a compensatory up-regulation elsewhere. Finally, we tested whether TH-sensitive genes in the liver responded to lack of hepatic Dio1 expression. Thus we assessed expression of *Spot14*, alpha-glyceraldehyde-dehydrogenase (*αGPD*), and malic enzyme (*ME*) as known targets of T3 action. Both *Spot14* and *αGPD* mRNA were reduced in Dio-deficient liver to about 60% of controls suggesting a contribution of hepatic Dio1 to local T3 production. Together, our results indicate that hepatic Dio1 activity is not absolutely required to sustain the euthyroid state in an otherwise unchallenged organism. However local metabolism of TH in liver is important for normal expression of hepatic genes but it is not indispensable for regular development, growth or general health.

P7 Geschlechtsspezifische Regulation der Expression des Selenoenzyms Deiodase 1

C. Riese, M. Michaelis, F. Götz, J. Köhrle, U. Schweizer und L. Schomburg

Institut für Experimentelle Endokrinologie, Charité Campus Mitte, 10117 Berlin.

lutz.schomburg@charite.de

Einführung: Die biologische Aktivierung und der Abbau der körpereigenen Schilddrüsenhormone Thyroxin (T4) und Triiodthyronin (T3) werden durch 3 Enzyme aus der Familie der Selenoproteine katalysiert. Diese 3 Deiodasen unterscheiden sich in der Gewebeverteilung, ihren katalytischen Eigenschaften und der Regulation ihrer Expression. Die Inzidenz und der Krankheitsverlauf vieler Krankheiten der Schilddrüsenhormonachse (Krebs, Entzündung, Autoimmunerkrankung) zeigen geschlechtsspezifische Charakteristika, die Daten zu den Aktivitäten und Transkriptspiegeln der 5'-Deiodase Typ 1 (DIO1) in männlichen und weiblichen Geweben sind aber inkonsistent.

Studienziel: Unsere bisherigen Arbeiten mit transgenen Mausmodellen hatten die Bedeutung des Selenstatus für die Expression von Selenoproteinen herausgestellt. Nun wollten wir erarbeiten, inwieweit die Expression der enzymatisch aktiven Selenoproteine in der Maus vom Selenstatus und Geschlecht abhängen.

Methoden: Männliche und weibliche C57BL/6 Mäuse wurden mit Standardfutter (incl. 0.24 ppm Selen) und mit Selen-reduziertem Futter (0.07 ppm Selen) bis zum Alter von 5 Wochen herangezogen. Zusätzlich wurden männliche (M) und weibliche (W) Mäuse gonadektomiert bzw. scheinoperiert bzw. mit Estradiol (200 ng/Tag) resubstituiert. Serum, RNA und Proteine wurden isoliert, mRNA-Konzentrationen und Enzymaktivitäten wurden analysiert.

Ergebnisse: Die Serumselenpiegel zwischen den normalen und gonadektomierten Mäusen unterschieden sich nicht. Unter der Selenmangeldiät zeigten beide Geschlechter gleichermaßen reduzierte Serumselenwerte (von 351 ± 25 bzw. 331 ± 30 $\mu\text{g/L}$ auf $47,3 \pm 8,5$ bzw. $39,5 \pm 4,2$ in W bzw. M). Die Aktivität der plasmatischen Glutathionperoxidase (GPx3) zeigte unter beiden Se-Status einen Geschlechtsdimorphismus (ca. 15% höhere GPx3-Aktivität in W versus M). Überraschend waren die starken Unterschiede in den mRNA-Konzentrationen und Enzymspiegel der hepatischen und renalen DIO1. Während in der Leber 1,42-fach höhere mRNA-Mengen in den Weibchen vorlagen, exprimierten diese aber nur 36% der DIO1 Aktivität. In der Niere betrug der Unterschied auf mRNA-Ebene 1,53-fach und auf Enzymebene 1,84-fach (hier aber jeweils $W > M$). Interessanterweise verstärkte sich dieser Geschlechtsunterschied unter Se-armer Ernährung auf mRNA-Ebene in beiden Geweben (Leber: 1,8-fach, Niere: 4,6-fach, jeweils $W > M$), während sich die enzymatischen Aktivitäten der DIO1 in der Leber angleichen und in der Niere deutlich ausweiteten (auf >4 -fachen Unterschied, $W > M$).

Fazit: Es gibt deutliche gewebespezifische Unterschiede in der Expression von Selenoenzymen zwischen den Geschlechtern. Dieser Dimorphismus ist für die DIO1 in Leber und Niere besonders ausgeprägt. Der Selenstatus verändert die mRNA- und Enzymspiegel stark aber nicht linear, d.h., eine direkte Extrapolation von veränderten mRNA-Konzentrationen auf resultierende Enzymmengen ist nicht möglich. Wir folgern aus diesen Daten, dass posttranskriptionale Regulationsmechanismen die Translationseffizienz der DIO1 mRNA abhängig vom Selenstatus und Geschlecht gewebespezifisch kontrollieren.

Gefördert durch die DFG (Scho 849/1-1).

P8 Selenium is involved in the regulation of the insulin antagonistic PTP1B

A.S. Mueller and J. Pallauf

Institute of Animal Nutrition and Nutrition Physiology, Heinrich-Buff-Ring 26 – 32,
D-35392 Giessen

Andreas.S.Mueller@agr.uni-giessen.de

In recent years many studies have focussed on protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) acting as a negative regulator of insulin signalling dephosphorylating the β -subunit of the insulin receptor (1). Due to a worldwide increase in obesity and type II diabetes, research into molecular targets such as PTP1B linked to these diseases is of growing importance. High supranutritional selenate (Se⁺⁶) inhibits PTPs and acts as an antidiabetic agent (2) whereas in a recent study with transgenic mice the overexpression of GPx1 effected development of obesity and insulin resistance in these animals. A decreased phosphorylation of the β -subunit of the insulin receptor could be related to overexpression of the best characterized H₂O₂-detoxifying enzyme (3). Apart from the regulation of PTP1B activity by exogenously applied agents it could be demonstrated that H₂O₂ stops PTP1B activity by forming a sulfenic acid derivative which can further react to a glutathionylated form of the active site cysteine-215. The activity could be recovered by the thiol reducing agent DTT (4). To examine the role of Se in the regulation of PTP1B activity we employed a nutrition physiological model. A total number of 49 healthy weaned albino rats was divided into 7 groups of 7 animals each. One group was fed a Se deficient diet for 8 weeks. The diets of the other 6 groups contained Se as selenite and selenate to obtain dietary concentrations of 0.2, 1.0 and 2.0 mg Se/kg diet. After 8 weeks rats from all Se-supplemented groups featured a significantly higher body weight (25 – 60 g) compared to the Se-deficient group. Expression and activity of GPx1 in the liver of Se-deficient animals were reduced to 1/10-and 1/100 of Se-supplemented groups. When measured under non-reducing conditions Se-deficient rats had a significantly lower liver PTP activity as compared to their Se-supplemented companions (c.f. Table). By the addition of 2.5 mM DTT to the reaction buffer PTP activity in Se-deficient animals however could be recovered to almost the level in the Se-supplemented groups. Using an “Anti-Glutathionylation-Antibody” we could show by Western Blotting that the difference in PTP1B activity results from an increased glutathionylation of PTP1B in Se-deficient rats.

Table: PTP activity in the liver of rats after 8 weeks of Se-deficiency compared to their Se-supplemented companions

Group Parameter	0 Se	0.2 mg Se/kg as selenite	0.2 mg Se/kg as selenate	1.0 mg Se/kg as selenite	1.0 mg Se/kg as selenate	2.0 mg Se/kg as selenite	2.0 mg Se/kg as selenate
PTP activity native (U/mg prot.)	0.59±0.13 (a)	0.88±0.16 (b)	1.22±0.18 (c)	1.15±0.09 (c)	1.41±0.18 (c)	1.66±0.14 (d)	2.18±0.29 (e)
PTP activity 2.5 mM DTT (U/mg prot.)	1.78±0.08 (a)	2.23±0.21 (bc)	2.21±0.35 (ac)	2.17±0.16 (bc)	2.10±0.26 (ac)	2.34±0.10 (bc)	2.45±0.24 (bc)

With regard to an even negative role of Se in insulin resistance our trial provides insight into cellular mechanisms which could be behind these observations. Lower dietary Se concentrations and the resulting lower H₂O₂ concentrations lead to an increased inactivation of PTP1B by glutathionylation whereas optimized activities of GPx1 by dietary selenium remove H₂O₂ and disable PTP1B inhibition. Our data therefore depict the cellular mechanisms by which supranutritive selenium supply can eventually influence insulin resistance and obesity even negatively and show the necessity for further investigations into the differentiated role of antioxidants in metabolic processes.

1. J Biol Chem (1996) **271**: 19810 – 19812
2. J Nutr Biochem (2006) **17**: 548 – 560
3. Proc Natl Acad Sci (2004) **101**: 8852 – 8857
4. Nature (2003) **423**:773-777

P9 Altered Selenoprotein Expression Profiles During Acute Phase Response In Mice

K. Renko, P.J. Hofmann, B. Hollenbach, U. Schweizer, J. Köhrle and L. Schomburg

Institut für Experimentelle Endokrinologie, Charité Universitätsmedizin Berlin, CCM,
Charitéplatz 1,

D-10117 Berlin, Germany

Email: kostja.renko@charite.de

Inflammatory conditions lead to reduced plasma selenium (Se) concentrations in patients. In order to elucidate molecular mechanisms, we studied selenoprotein expression during the acute phase response in mice. Upon lipopolysaccharide(LPS)-treatment, serum Se levels declined in a time- and dose-dependent manner as observed before in rat [1]. Selenoprotein P mRNA levels remained constant in kidney, but decreased in liver and the intestinal tract. Concomitantly, gastrointestinal glutathione peroxidase (GPx2) mRNA and protein increased as observed before in intestinal tumors. Decreased Se uptake might result from the reduced selenoprotein P expression and further aggravate Se deficiency in a self-exacerbating process. We observed a reduced mRNA expression of certain components involved in selenoprotein synthesis by microarray- and realtime-PCR analysis in the liver. In contrast, we measured elevated levels of selenoprotein S protein which is involved in defence against ER stress. We conclude that the pattern of newly synthesized selenoproteins is profoundly altered during the acute phase response in mice which results in reduced hepatic selenoprotein P expression and thereby leads to declining serum Se levels.

Literatur: [1] Maehira et al; Clin Chim Acta (2002) Feb;316(1-2):137-46

Funded by the DFG (Scho 849/1-1) and Deutsche Krebshilfe (10-1792 SchoI)

P10 Effect Of Different Selenium Compounds On The Induction And Repair Of DNA Damage In Human Cells

C. Hall, A. Hartwig, Berlin/D

Technical University Berlin, Institute of Food Technology and Food Chemistry,
Gustav-Meyer-Allee 25, 13355 Berlin
caroline.hall@tu-berlin.de

Due to antioxidative properties of selenium containing enzymes, such as glutathione peroxidases, selenium is supposed to have anticarcinogenic effects although results from epidemiological studies are inconsistent. Nevertheless, also genotoxic effects were observed in cultured cells as well as in animal experiments, which may be due to prooxidative reactions like thiol oxidation and thus protein inactivations. Using subcellular test systems, it was shown previously that reducible selenium compounds are able to inhibit the zinc finger DNA repair protein formamidopyrimidine-DNA glycosylase (Fpg) and to mediate zinc release from the zinc finger motif of the XPA repair protein. No such effect was observed when fully reduced selenium compounds were applied, indicating the involvement of redox reactions. Within the present study, the genotoxic potential of selenium compounds with varying oxidation states was investigated in cells, by using sodium selenite as reducible selenium compound and selenomethionine as fully reduced selenium compound. The induction of DNA damage was investigated using the alkaline unwinding assay by measuring DNA strand breaks as well as the induction of Fpg-sensitive DNA modifications. Furthermore, the effect of both compounds on the benzo[α]pyrene-7,8-diol-9,10-epoxide (BPDE) -induced DNA adduct formation and removal was investigated via the HPLC/fluorescence assay in A549 human cancer cells to elucidate the potential effects on DNA repair. Our results show that reducible sodium selenite is far more cytotoxic as compared to fully reduced selenomethionine. Furthermore, sodium selenite causes a concentration-dependent induction of Fpg-sensitive sites, whereas no effects were observed in the case of selenomethionine up to millimolar concentrations. No induction of DNA strand breaks was detected with either compound. Both selenium compounds led an increase of BPDE-induced DNA adduct formation and of remaining adducts after 8 hours repair, however the effect was more pronounced with sodium selenite. In the case of sodium selenite this effect could be observed at micromolar concentrations and was predominantly due to an elevated level of BPDE-DNA adduct formation. Altogether, our results suggest that selenium compounds possess a genotoxic potential, with the effect being dependent on the compound.

P11 Reducible selenium compounds affect the stability, the phosphorylation pattern and the conformation of p53

V. Klaus, H. Blessing, A. Hartwig

Technical University of Berlin, Institute of Food Technology and Food Chemistry
Gustav-Meyer-Allee 25, 13355 Berlin, Germany
viola.klaus@tu-berlin.de

The trace element selenium has been proposed to be cancer preventive. Besides antioxidative properties the interaction with the zinc homeostasis via oxidative zinc release from metallothionein is one proposed mechanism. This raises the question whether an unspecific release from other zinc-binding proteins would also occur. Previous studies in isolated systems showed that reducible selenium compounds released zinc from the XPAzf peptide and diminished the enzyme activity of the zinc finger protein Fpg. Within the present study the impact on the tumor suppressor protein p53 was investigated. The release of its zinc ion coordinated in its DNA-binding domain causes a conformational change into the unfolded so called “mutant”, inactive conformation. The reducible selenium compounds sodium selenite and phenylselenic acid as well as the non-reducible selenomethionine were used to elucidate the impact in A549 lung carcinoma cells. In Western Blot analyses the amount of total p53 and phosphorylated p53 (serines 15, 20, 37, 46, 392) were analysed. While selenomethionine had no effect on total p53 and its phosphorylation pattern the reducible selenium compounds induced an increased amount of p53. In case of sodium selenite the increase of total p53 occurred with the beginning of the cytotoxic concentration range and was accompanied with the stabilizing phosphorylation at the N-terminus (serines 15, 20, 37). Phosphorylated serine 392 which enhances the tetramerization was also detected while serine 46 connected to the induction of apoptosis was not. In comparison the increasing amount of total p53 after incubation with phenylselenic acid was shown even at non-cytotoxic concentrations associated with a different phosphorylation pattern. The formation of the unfolded conformation were analysed by immunoprecipitation using conformation-specific antibodies. After incubation of the whole cell extract with sodium selenite a concentration-dependent increase of the unfolded conformation starting at 1 μ M was detected. Similarly phenylselenic acid favoured the formation of the “mutant” conformation while selenomethionine did not. Taken together, in contrast to non-reducible selenomethionine the reducible selenium compounds affect the stability, the state of phosphorylation and the conformation of p53, depending on the compound. Thus oxidative reactions like an oxidative zinc release in case of the formation of the unfolded conformation could be possible. Since p53 has important functions as a tumor suppressor protein and sodium selenite is frequently added in dietary supplements, the use should be considered with caution.

P12 Verstärkter Darmkrebs bei Mäusen mit reduzierter Selenoprotein P Expression
M. Michaelis, U. Schweizer, W. Weichert, C. Denkert, R. Brigelius-Flohé, J. Köhrle und L. Schomburg

Institut für Experimentelle Endokrinologie, Charité Campus Mitte, 10117 Berlin.
lutz.schomburg@charite.de

Einführung: Viele prospektive und epidemiologische Studien deuten auf ein chemopräventives Potential von Selen zur Vermeidung von Darm-, Prostata- und Lungenkrebs hin. Besonders Studienteilnehmer mit initial geringem Selenstatus profitierten in den publizierten Supplementationsstudien am Deutlichsten. Die Serumseleknkonzentration wird von dem Transportprotein Selenoprotein P (SePP) bestimmt, da es ca. 50% des Serumselens darstellt. Tumorgewebe aus Darm oder Prostata zeigen reduzierte SePP-Expression in Proben aus Mensch und Versuchstier.

Studienziel: Wir wollten in dieser Studie klären, ob eine verminderte Expression von SePP die Tumorigenese kausal beeinflusst oder eher als sekundäres Folgephänomen des Tumorgeschehens eingeordnet werden kann.

Methoden: Kontrolltiere und SePP-defiziente C57BL/6 Mäuse wurden mit Darmtumörprädisponierten APCmin-Mäusen verkreuzt. APCmin-Mäuse tragen eine verkürzte Form des Tumorsuppressorgens APC und entwickeln nach 120 Tagen ca. 50-150 gastrointestinale Adenome. Nach diesem Zeitraum wurden die Därme präpariert und die Tumore nach Anzahl, Größe, Lage und Differenzierungsgrad bewertet.

Ergebnisse: Homozygote SePP-KO/APCmin Mäuse starben frühzeitig und zeigten bereits nach 60 Tagen eine stark erhöhte Adenombildung im Dünndarm. Heterozygote SePP±/APCmin Mäuse wiesen im Vergleich zu Kontroll-APCmin Mäusen eine deutlich erhöhte Anzahl intestinaler Adenome auf. Interessanterweise war das Tumorspektrum zudem zu größeren und stärker entarteten Adenomen verschoben.

Fazit: Das Ausmaß der Expression von SePP beeinflusst die Krebsentwicklung im APCmin Mausmodell. Eine initial verminderte Expression von SePP bedingt mehr, größere und stärker de-differenzierte intestinale Tumore. Da die SePP-Konzentration im Organismus durch das Selenangebot der Nahrung positiv beeinflusst wird, unterstreichen unsere Ergebnisse die Bedeutung eines guten Selenstatus für die Vermeidung eines erhöhten Darmkrebsrisikos.

Gefördert durch die DFG (Scho 849/1-1), die Deutsche Krebshilfe (10-1792 Schol) und EnForCé.

P13 Nahrungspräferenzen für Zink beim Ferkel

T. Ettle¹, M. K. Wiltafsky², F. X. Roth²

¹Universität für Bodenkultur, DLWT, Gregor Mendel Straße 33, A-1180 Wien

²Technische Universität München-Weihenstephan, Hochfeldweg 6, D-85350 Freising
thomas.ettle@boku.ac.at

Vorliegende Untersuchung sollte klären, ob Ferkel in einem Wahlversuch zwischen Rationen mit unterschiedlichem Zn-Gehalt differenzieren können, und ob die Tiere ein Zn-Defizit durch eine Präferenz für ein Zn-supplementiertes Futter vermeiden können. Dazu wurden 48 Ferkel (männliche Kastraten : weibliche Tiere, 1:1) mit einer mittleren Lebendmasse von $7,9 \pm 1,1$ kg gleichmäßig auf 6 Versuchsgruppen (3 Referenzgruppen: R1, R2, R3; 3 Wahlgruppen: W1, W2, W3) aufgeteilt. Den Tieren der Referenzgruppen wurde ausschließlich Futter mit 26 (R1), 42 (R2) oder 57 (R3) ppm Zn angeboten. Die Tiere der W1 wurden für 3 Wochen ausschließlich mit der Zn-defizitären Ration (26 ppm Zn) gefüttert, wobei ihnen das Futter in zwei identischen Trögen angeboten wurde, um Hinweise auf eine mögliche Trogpräferenz zu erhalten; in den zwei restlichen Versuchswochen wurde den Tieren der W1 simultan das Futter mit 26 bzw. 57 ppm Zn zur Wahl angeboten. Den Tieren der W2 wurden über den gesamten 5-wöchigen Versuchszeitraum die Rationen mit 26 bzw. 42 ppm Zn simultan zur Wahl angeboten, den Tieren der W3 die Rationen mit 26 bzw. 57 ppm Zn.

Die Tiere der W1 zeigten im Mittel der ersten 3 Versuchswochen keine Trogpräferenz (% der Gesamtfutteraufnahme Trog 1: 53 %; Trog 2: 47 %). Im Mittel der 4. und 5. Versuchswoche nahmen die Tiere in der W1 67 % der Gesamtfutteraufnahme über die Diät mit 57 ppm Zn auf, wobei diese Präferenz für die Zn-reichere Diät nicht abzusichern ist. In der W2 betrug die Präferenz für die Zn-reichere Diät (42 ppm Zn) im Mittel der ersten drei Versuchswochen lediglich 56 % (n.s.). In den Versuchswochen 4 und 5 zeigte sich in der W2 jedoch eine deutliche ($p < 0,05$) Präferenz von 77 % für die Zn-reichere Diät. In der W3 betrug die Präferenz für die Zn-reichere Diät (57 ppm Zn) 55 % für die Versuchswochen 1-3 sowie 61 % für die Versuchswochen 4 und 5 (beide n.s.). Aus den Daten der Zuwachsleistung sowie der Plasma-Zn-Konzentration und der Aktivität der alkalischen Phosphatase lässt sich schließen, dass der Zn-Status in der W3 nach 3 Versuchswochen gegenüber der R1 verbessert war, jedoch nicht ganz das Niveau der R3 erreichte. In der W2 deutet sich gemessen an den genannten Parametern nach drei Versuchswochen jedoch ein im Vergleich zur W3 zumindest nominal verschlechterter Zn-Status an. Da die Tiere in der W2 in den Versuchswochen 4 und 5 im Gegensatz zu den Tieren der W3 eine deutliche Präferenz für die Zn-reichere Diät zeigten, lässt sich folgern, dass Ferkel ein bestimmtes Zn-Defizit erreichen müssen, um eine deutliche Präferenz für Zn zu entwickeln. Andererseits lag der Zn-Status der Tiere der W1 nach 3 Versuchswochen ausschließlicher Zn-Defizit-Fütterung auf dem Niveau der R1 und damit tendenziell bzw. signifikant niedriger, als in der W2 bzw. W3. Als Folge entwickelte sich eine Zn-Präferenz, die zwar nominal höher lag als in der W3, die jedoch im Gegensatz zur W2 nicht statistisch abzusichern war. Offensichtlich war der verbleibende Versuchszeitraum von 2 Wochen für die Tiere der W1 zu kurz, um eine deutliche Präferenz für die Zn-reichere Diät zu zeigen. Insgesamt zeigen die vorliegenden Ergebnisse, dass Ferkel zwischen Diäten mit variierendem Zn-Gehalt differenzieren können und einem Zn-Defizit in einer Wahlsituation durch eine Präferenz für Zn-supplementierte Rationen begegnen. Allerdings scheint das Vermögen, über eine geeignete Futterwahl eine Zn-Mangelsituation zu vermeiden, durch verschiedene Faktoren beeinträchtigt zu sein.

P15 Mengen- und Spurenelemente sowie Fettstatus des Käses in Bezug auf die Milch (Kuh oder Ziege) und die Käseart

F. Schöne, L. Dornaus, , M. Leiterer, A. Greiling, G. Jahreis*

Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft, Ricarda-Huch-Weg 20, 07743 Jena

*Friedrich-Schiller-Universität, Institut für Ernährungswissenschaften, Dornburger Straße 24, 07743 Jena

In der Ernährungsberatung wird Käse manchmal als „konzentrierte Milch“ charakterisiert und danach würden im Käse Milchnährstoffe angereichert vorliegen. Dreiundzwanzig Rohmilchproben und 21 Kesselmilchproben, filtriert und pasteurisiert, mit den entsprechenden Käseproben (9 Schnittkäse, 6 Camemberts, davon 3 Ziege, und 6 Frischkäse, davon 3 Ziege) wurden auf Trockenmasse, Fett, Protein, Ca, K, Mg, Zn, Mn, Se, und I analysiert. Verglichen mit der Milch waren im Camembert Fett, Protein, Ca, Zn, Se, Mn erhöht, während im Frischkäse Fett, Protein und Se konzentriert waren, jedoch nicht K, Ca, Mg and Zn. Es kam zu hohen Jodverlusten in der Käsebereitung. Als Schlussfolgerung sollte in der Werbung besonders für den Labkäse der Konzentrationsanstieg des Ca und bestimmter Spurenelemente herausgestellt werden. Dem Jodverlust ist zu begegnen. Weitere Innovationen betreffen bestimmte in der Ernährung erwünschte Fettsäuren wie die Ölsäure, die konjugierten Linolsäuren (CLA) und besonders für die Ziegenmilch(produkte) die kurz- und mittelkettigen Fettsäuren.

Macro and micro elements and the fat status of cheese in regard to the milk species (cow, goat) and the kind of cheese

In nutrition advise cheese is sometimes characterized as „concentrated milk“ and according to this the milk nutrients should be concentrated. Twenty-three samples of raw bulk milk and 21 samples of milk for cheese making, cleaned and pasteurized, and the corresponding 9 semi-hard cheeses, 6 camemberts (3 of them from goat milk) and 6 fresh cheeses (3 of them also from goat milk) were investigated in regard to dry matter, fat, protein and Ca, K, Mg, Zn, Mn, Se, and I. In comparison with the milk in the camembert increased the concentration of fat, protein, Ca, Zn, Se, Mn, whereas in the fresh cheese fat, protein and Se were concentrated but not the K, Ca, Mg and Zn. In general, there was a high loss of I in cheese-making processes. As conclusion, in the cheese a concentration increase of Ca and several trace elements particularly in rennet cheeses should be more pronounced in the advertisement. The I loss has to be counteracted. Further innovations concern concentration of several fatty acids desired in the nutrition, i.e. oleic acid or conjugated linoleic acids (CLA) and especially for goat milk products the short- and middle-chain fatty acids.

P16 Unterversorgung mit Magnesium - gesundheitsökonomische Konsequenzen Dierck-H. Liebscher, Berlin, und Dierck-E. Liebscher, Potsdam