

## **Element-Speziesanalytik – ein Weg zum besseren Verständnis der Wirkung von Spurenelementen**

Bernhard Michalke  
GSF Forschungszentrum für Umwelt und Gesundheit  
Ingolstädter Landstr.1, 85764 Neuherberg  
email: bernhard.michalke@gsf.de

### **Einleitung - Spurenelemente und Speziation**

Die herausragende Rolle von Spurenelementen in Biologie und Medizin sind seit langem bekannt. Spurenelemente spielen eine wichtige Rolle in der Funktion des Organismus. Aber auch Elemente, die in niedrigen Konzentrationen aus der Umwelt/Nahrung auf den Körper zukommen und schädliche Wirkung haben, spielen v.a. in der Toxikologie eine Rolle. Die Bedeutung von Spurenelementen und besonders der Kenntnis ihrer Spezies kann kaum überschätzt werden. Einige essentielle Elemente haben Vitamincharakter (Co, Cr, Cu, F, Fe, I, Mn, Mo, Ni, Se, Si and Zn), andere können als *die* wirksamen Verbindungen in Pharmazeutika vorkommen (Al, As, Au, Bi, Cu, Fe, Hg, Li, Pt and Zn).

Spurenelemente wirken aber im Organismus nicht in elementarer Form, sondern als Bestandteile von Verbindungen, häufig von Makromolekülen (Proteine, Enzyme, zum Beispiel als aktive Zentren der Wirkgruppen von Enzymen, Hormone etc.) oder anhand ihrer unterschiedlichen Oxidationsstufen. Die Wirkung der Elemente hängt also entscheidend von der Bindungsform ab. Die „Bindungsformen“ der Elemente heißen Elementspezies. Die Wirkung der Elemente, genauso wie die Beurteilung dieser Wirkung hängt also von den vorliegenden Elementspezies ab. Diese Wirkungen reichen von unterschiedlicher Mobilität und Bioverfügbarkeit über katalytische Effekte bis schließlich zu ggf. Toxizität oder Essentialität. Die Summe der Spezies eines Elements in einem System (Organismus) ergibt somit den Totalgehalt dieses Elements in diesem System. Die analytische Aktivität zur Bestimmung der Elementspezies wird als Speziesanalytik (englisch: speciation) bezeichnet.

## **Expression of selenium-containing proteins in rat kidney**

Antonios Kyriakopoulos, Alexandra, Graebert, Dietrich Behne  
Hahn-Meitner-Institut, Abteilung Spurenelemente (SF6), Glienicker Str. 100  
14109 Berlin, kyriakopoulos@hmi.de

### **Summary**

Investigations have been carried out on rats to obtain information about the expression of selenium-containing proteins in the rat kidney. For the determination of the selenium levels instrumental neutron activation analysis via  $^{75}\text{Se}$  was used. Information about the selenium-containing proteins were obtained by labeling of rats in vivo with  $^{75}\text{Se}$ -selenite, subcellular fractionation of the tissue homogenates, separation of the proteins by SDS-PAGE or two-dimensional electrophoresis and selenium detection by autoradiography. In this way more than 30 selenium-containing proteins could be distinguished in the renal homogenate. Of those more than 12 were present in the cytosol and more than 13 selenium-containing proteins were detected in the renal microsomal fraction. Of those, four labeled bands with molecular masses of 60, 38-40, 23-25 and 16 kDa were found in the endoplasmatic reticulum fraction (ER) which was isolated from the microsomes by differential centrifugation and further purified with detergents. The bands with the masses of 60 and 38-40 kDa were shown to stem from the selenoprotein P and the band in the molecular mass range of 23-25 kDa was identified as the subunit of the plasma GPx. The 16 kDa protein was characterized as a selenocysteine protein with an isoelectric point of 5.4. The finding that selenoproteins are also present in the ER is of great interest with regard to the expression of the selenoproteins.

## Zinkverteilung und Zinkhomöostase in der Zelle

Wolfgang Maret

Center for Biochemical and Biophysical Sciences and Medicine  
Harvard Medical School, Cambridge, MA 02139, USA

### Einleitung

Jules Raulin berichtete schon 1869, dass Zink für das Wachstum des Pilzes *Aspergillus niger* notwendig ist, doch es dauerte fast weitere 100 Jahre bis Zink als essentielles Element für den Menschen erkannt wurde. Zu diesem Zeitpunkt war bereits die *katalytische* Funktion von Zink in etwa einem Dutzend Enzymen nachgewiesen. Die Entwicklung hochempfindlicher Spektrometer zur Metallanalyse und daraus resultierende drastisch erniedrigte Nachweisgrenzen für Zink führte in den folgenden Jahren zur Identifizierung zahlreicher Zinkproteine, sodass wir heute hunderte von Zinkenzymen, verteilt in allen Enzymklassen, kennen. Mit der Entdeckung, dass der Transkriptionsfaktor TFIIIA Zink enthält, begann in den frühen 80er Jahren ein weiterer, richtungsbestimmender Zeitabschnitt. In diesem Protein hat Zink eine *strukturelle* Funktion, bei der es die Faltung von Mikrodomänen, sogenannten "Zinkfingern", beeinflusst. Inzwischen sind viele Klassen von Zinkfingerproteinen bekannt. Eine grobe Abschätzung ergibt über eintausend Zinkfingerproteine im menschlichen Genom. Vom analytischen Standpunkt aus ist es bemerkenswert, dass man heute von zinkhaltigen Proteindomänen spricht, obwohl eine Zinkbindungsstelle meist nur mehr aufgrund von Sequenzmerkmalen von Liganden in der Primärstruktur angenommen wird, als dass Zink selbst direkt nachgewiesen würde. Im Prinzip hat man damit die Nachweisgrenze von einem einzelnen Atom erreicht.

## Neue molekularbiologische Verfahren in der experimentellen Mineralstoff- und Spurenelementforschung

Prof. Dr. Hannelore Daniel  
Molecular Nutrition Group  
Department für Lebensmittel und Ernährung  
Technische Universität München  
Wissenschaftszentrum Weihenstephan

### Zusammenfassung

Die postgenomische Periode biowissenschaftlicher Forschung wird zunächst von Hochdurchsatztechnologien wie DNA-Arrays zur Identifizierung globaler Antworten der Genexpression in einem Zellsystem, Organ oder Organismus bestimmt. Diese Techniken erlauben es schnell, relevante Expressionsänderungen zu identifizieren und individuelle Gene bzw. die davon kodierten Proteine im biologischen Kontext zu untersuchen. Andererseits wird die Ebene der Proteine, als eigentliche Funktionsträger „neu entdeckt“, da das Paradigma „ein Gen gleich ein Protein“ längst keine Gültigkeit mehr besitzt. Als Gesamtheit der in einem biologischen System exprimierten Proteine nutzt die Proteomanalyse eine Kombination von 2-dimensionaler Gelelektrophorese zur hochauflösenden Trennung der Proteine mit nachfolgender massenspektrometrischer Proteinidentifizierung. Dazu werden die Proteine aus dem Gel isoliert, tryptisch verdaut und die erhaltenen Peptidfragmente mittels MALDI-TOF (matrixassisted-laserdesorption-ionisation time of flight mass spectrometry) analysiert. Die Massenspektren werden danach über verschiedene Algorithmen den Gen- bzw. Aminosäuresequenzen in Datenbanken zugeordnet und die Proteine dadurch identifiziert. Auch posttranslationale Modifikationen lassen sich bei der Massenanalyse nachweisen. Die nächste Ebene der bioanalytischen Forschung zum Verständnis von Genom-Umweltinteraktionen ist die Metabolitprofilierung. Hier werden unter Anwendung von klassischen chromatographischen Trenntechniken (LC und GC) in Kopplung mit massenspektrometrischem Nachweis im Hochdurchsatzverfahren globale Änderungen von Metabolitspiegeln in biologischen Systemen analysiert. Die erhaltenen Spektren der Metabolite werden dann bioinformatisch mit den Befunden der Proteom- bzw. Transcriptomanalyse verknüpft und die biologischen Netzwerke herausgearbeitet. Während diese Techniken in der Grundlagenforschung bereits breiteren Einsatz finden, stehen sie für Studien am Menschen bisher nur in begrenztem Umfang zur Verfügung, Hier ist die Gewinnung von Probenmaterial für die Analyse limitierend.

Die Möglichkeiten der genetischen Manipulation von Modellorganismen erlauben es darüber hinaus die Bedeutung individueller Gene bzw. Proteine im Intermediärstoffwechsel eines Organismus zu charakterisieren. Zum Einsatz kommen hierbei zur Zeit vor allem einfache Eukaryoten wie Hefe. Komplexere Organismen für genetische Studien sind *Drosophila melanogaster*. oder Nematoden wie *C. elegans* und als Säugermodell die Maus. Hier können ein- oder mehrfache Gendeletionen ebenso wie die gezielte Überexpression einzelner Gene herbeigeführt werden. Zunehmend finden auch konditionale Gen „knock-outs“ bzw. „knock-ins“ Einsatz, die eine zeitlich determinierte und auf bestimmte Organe, Gewebe beschränkte Alteration der Genfunktionen darstellen. Die Kombination der bioanalytischen Techniken der Transcriptom-, Proteom- und Metabolomforschung mit den tierexperimentellen Ansätzen erlaubt - wie nie zuvor – umfassende Einblicke in die Biologie der Genfunktion eines komplexen Organismus zu erhalten.

## **Marine algae - a natural source of iodine in the feeding of freshwater fish**

S. Schmid<sup>1</sup>, D. Ranz<sup>1</sup>, M.L. He<sup>1</sup>, S. Burkard<sup>1</sup>, M. v. Lukowicz<sup>2</sup>, R. Reiter<sup>2</sup>, R. Arnold<sup>3</sup>, H. Le Deit<sup>4</sup>, M. David<sup>4</sup>, W.A. Rambeck<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Lehrstuhl für Tierernährung, Ludwig-Maximilians-Universität, München

<sup>2</sup> Landesanstalt für Fischerei, Starnberg

<sup>3</sup> Bayer. Landesamt für Gesundheit u. Lebensmittelsicherheit

<sup>4</sup> C.E.V.A., Pleubian

### **Introduction**

Iodine deficiency is still a major problem in certain parts of Europe and can result in various disorders, e.g. goiter, increased infant mortality and mental retardation.

Different strategies have been developed to ensure a better iodine supply for man. The most common is the iodisation of salt, but since the application is voluntary, it has not been effective enough. There still is a deficiency in the iodine intake of man of about 40% (Küpper, 1999).

Another strategy is to supplement animal feed with iodine (inorganic salt) and thus produce food high in iodine (Kaufmann and Rambeck, 1998). He et al (2002) added iodine containing algae to the feed of pigs and thus increased the iodine content in the meat.

Marine fish is a rich source of iodine, however except in coastal areas, sea fish consumption e.g. in Germany is rather low. Freshwater fish, which is consumed to a larger extend, contains only small amounts of iodine.

Various marine algae are a rich source of iodine, e.g. *Laminaria digitata*, which contains around 4 g iodine per kg dry matter.

The purpose of this French-German EU funded project was to supplement the feed of freshwater fish with such algae and to find out if the carry over of iodine from plant to fish to man is functioning.

## **Ein Beitrag zur Validierung der Haarmineralanalyse (HMA)**

Teresa Hamilton, Patrick Böttcher, Fritz Schweinsberg

Chemisches Labor, Institut für Allgemeine Hygiene und Umwelthygiene der Universität Tübingen, Eugenstraße 6 72072 Tübingen

### **Einführung**

Der Grund für das Scheitern und die überstürzte Flucht zu einer über 1000 km entfernter Ortschaft der 1845 von Sir John Franklin angetretenen Expedition zur Suche nach der Nord-Westpassage blieb lange im Unklaren. Erst 1986 konnte ein kanadisches Team mit Hilfe der Analyse von Haarproben gut konservierter Expeditionsteilnehmer den Fall klären. Nicht Skorbut, Hunger oder Kälte waren Schuld am Tod der Besatzung, sondern eine massive Bleivergiftung verursacht durch bleihaltige Konserven. Neben geschichtlicher Forschung und Dopingnachweisen wie im Fall Christoph Daum ist die Haaranalyse in der Gerichtsmedizin heute eine wichtige Methode zum Nachweis von Amphetaminen, Cocain und Opioiden [1]. Neuere wissenschaftliche Studien beschäftigen sich zunehmend mit der HMA zur Erfassung der Mineralstoff- und Spurenelementversorgung [2].

Es bleibt die Frage, ob die HMA Aussagen über den Gesundheitszustand eines Individuums geben kann. Zahlreiche Untersuchungslabore behaupten eben dies und werben mit Slogans wie: „die Haare sind eine Art chemisches Tagebuch“, oder „die Haaranalyse schafft Klarheit ... ein Spiegelbild des menschlichen Körpers“. Es war Ziel der vorliegenden Arbeit einen Beitrag zur Validierung der HMA zu leisten.

## **Von Al bis Zn**

### **Vergleich von Mengen-, Spuren- und Ultrapurenelementen im Plasma mit chronisch dialysepflichtigen, kardiologischen und psychiatrischen Erkrankungen mit einer Kontrollgruppe von „scheinbar gesunden“ Blutspendern**

Sibylle Streck, Martin Roskos, Thomas Deufel, Klaus Winnefeld  
Klinikum der FSU Jena, Institut für Klinische Chemie u. Laboratoriumsdiagnostik, Jena

#### **Zusammenfassung**

Im Mineralstoff-, Spuren- und Ultrapurenelementhaushalt bei Patienten mit verschiedenen Erkrankungen kann es zu einem Mangel oder einer Anreicherung der Elemente kommen, die sowohl Ursache als auch Folge dieser Erkrankung sein können.

Zur Charakterisierung dieses Elementstatus wurden 18 Elemente Aluminium, Cobalt, Cäsium Eisen, Kupfer, Iod, Mangan, Nickel, Rubidium, Selen, Zinn, Zink, Magnesium, Calcium, Natrium, Kalium, Chrom und Silizium im Blutplasma von Dialysepatienten, Patienten mit einer kardiologischen Erkrankung sowie einer Schizophrenie untersucht.

Die erhaltenen Konzentrationen wurden mit denen „scheinbar gesunder“ Blutspender verglichen und weisen bei einigen Elementen signifikante Unterschiede auf.

## **Alterations in Calcium and Magnesium Concentrations in Cell Membranes in Hypertensives**

K. Kisters<sup>1</sup>, F. Tokmak<sup>1</sup>, M. Barenbrock<sup>2</sup>, M. Kosch<sup>3</sup>, K.-H. Dietl<sup>4</sup>, M. Hausberg<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Med. Klinik I, St. Anna-Hospital, Hospitalstraße 19, 44649 Herne & <sup>2</sup>Dialysezentrum Hamm & <sup>3</sup>Med. Univ. Poliklinik Münster & <sup>4</sup>Chirurgie, Raphaels-Klinik, Münster, Germany

### **Introduction**

Changes in magnesium and calcium metabolism have been implicated in the pathogenesis of hypertension (Seelig 1980, Zidek 1982, Altura 1983, Robinson 1984). In addition, a cellular calcium-magnesium antagonism is discussed. Plasma magnesium and calcium concentrations only insufficiently reflect disorders in magnesium handling in humans (Resnick 1984, Kisters 1997, Kisters 2001). Therefore plasma, intracellular and membrane magnesium and calcium concentrations in essential hypertensives are of interest.

## **Selenspiegel, Glutathionperoxidase und Malondialdehyd bei Patienten mit fortgeschrittenen Kopf-Hals-Karzinomen**

Jens Büntzel\*#, Oliver Micke\*\*#, Klaus Schönekaes#, Ralph Mücke\*\*\*#, Matthias Stiefel°, Frank Bruns°°, Michael Glatzel°°°#

\* Klinik für HNO-Erkrankungen, Südharzkrankenhaus Nordhausen gGmbH

\*\* Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie, Universitätsklinikum Münster

\*\*\* Abteilung für Strahlentherapie, Klinikum Weiden

# AK Trace Elements and Electrolytes in Radiation Oncology AKTE

° Klinik für HNO-Erkrankungen, Zentralklinikum Suhl gGmbH

°° Klinik und Poliklinik für Strahlentherapie, Medizinische Hochschule Hannover

°°° Klinik für Strahlentherapie, Zentralklinikum Suhl gGmbH

### **Einführung**

Ein erniedrigter Spiegel von Selen im Vollblut ist für verschiedene Karzinome nachgewiesen worden (1, 2). Dieser ist in der Regel mit einer verminderten Aktivität der Glutathionperoxidase gekoppelt, in deren Folge ein ebenfalls erhöhtes Level aggressiver, freier Radikale resultiert (3). Diese chemische Konstellation findet ihren klinischen Niederschlag in der Nebenwirkungsrate von Behandlungsverfahren (z. B. der Strahlentherapie), die ihre therapeutische und toxische Wirkung über die Freisetzung solcher freien Radikale entfalten.

Zielgruppe unserer Untersuchung sind Patienten mit fortgeschrittenen Kopf-Hals-Karzinomen, die sich einer simultanen Radiochemotherapie unterziehen. Der Ausgangsstatus und die Auswirkungen einer kontrollierten Selensubstitution sollen zum weiteren Verständnis der genannten Zusammenhänge für diese Patienten im Rahmen einer Pilotuntersuchung eruiert werden.

## **Verzehr, scheinbare Absorption, Bilanz und Bedarf an Calcium in Abhängigkeit von Geschlecht, Zeit, Kostform und Alter**

Manfred Anke, Katrin Krämer-Beselia, Edda Lösch, Christina Hoppe\*, Jena und Erfurt\*

### **Einführung**

Aufgabe der Untersuchungen war es den Ca-Verzehr erwachsener Mischköstler und Vegetarier in Abhängigkeit von verschiedenen Einflussgrößen mit Hilfe der Duplikat- und Basketmethode vergleichend zu bestimmen und die Ca- Aufnahme und Ca-Ausscheidung zu bilanzieren.

## **Insulinomimetic properties of selenium depend on the chemical form of the trace element – investigations in type II diabetic dbdb mice**

A.S. Müller 1, J. Pallauf 2 and J. Rafael 1

1 Biochemie Zentrum Heidelberg, Im Neuenheimer Feld 328, D-69120 Heidelberg

2 Institut für Tierernährung und Ernährungsphysiologie, Heinrich-Buff-Ring 26 – 32, D-35392 Giessen

### **Introduction**

Insulinomimetic properties have been shown to evolve from selenate (selenium VI). Virtually normalized blood glucose concentration has been observed in streptozotocin-treated hyperglycemic type I diabetic rats after 10 weeks of oral supplementation with selenate. These rats have been shown to react similarly to non-diabetic controls when subjected to oral glucose challenge tests (1, 2, 3). The insulinomimetic action of selenate has also been confirmed by corresponding activity changes of key enzymes of the carbohydrate and lipid metabolism (2, 4). Only a partial explanation of the observed selenate effects is available. Selenate increased the phosphorylation status of single components of the insulin signaling pathway in cultured hepatocytes and 3T3L1 adipocytes, possibly responsible for the altered gene expression (5, 6). No information is available so far on insulinomimetic effects of selenate in the case of non-insulin-dependent diabetes mellitus (type II diabetes). So far no investigations on a differentiation of the insulinomimetic properties of selenate in comparison to other selenium compounds on glucose metabolism in diabetic animals have been found. The present study was therefore designed to investigate possible insulinomimetic properties of selenate in C57BL/KsOlaHsd-Lepr<sup>db</sup> mice with a defective leptin receptor, featuring severe symptoms of NIDDM such as hyperglycaemia, hyperinsulinaemia and high resistance to insulin (7). Further the present study examines whether insulinomimetic properties of selenium are only derived from selenate or whether other selenium compounds like selenite also have insulinomimetic effects.

## **Metalloproteine in der Diagnostik**

Brätter, P., Richarz, A., Wolf, C., Hahn-Meitner-Institut Berlin

Spurenelementanalysen an klinischen Proben haben als Ziel die Feststellung, ob diagnostizierte pathologische Zustände des Organismus mit einem Mangel oder Überschuß an Spurenelementen oder mit Stoffwechselstörungen im Zusammenhang stehen. Auf dem Ergebnis aufbauend schließen sich Analysen von Körpermonitoren zur Feststellung der Effektivität von eingeleiteten Therapiemaßnahmen an. Wegen der leichten Verfügbarkeit werden am häufigsten Analysen an Körperflüssigkeiten durchgeführt, d.h. an Gesamtblut, Blutzellen, Plasma, Serum und Harn obwohl sich in diesen Monitormaterialien nur ein Bruchteil des Körperbestandes an Spurenelementen befindet. Da normalerweise eine Gesamtkonzentration gemessen wird, die alle an den Stoffwechselfvorgängen beteiligten spurenelement-bindenden Komponenten zusammenfasst, werden Defizite oft auch erst spät erkannt. Besonders kritisch müssen die Ergebnisse von Serumanalysen betrachtet werden, da im Serum Spurenelementverbindungen aus sehr verschiedenen Stoffwechselfvorgängen gleichzeitig vorhanden sind: Metabolismus, Katabolismus, Transport nach Absorption im Magendarm Trakt bzw. Reabsorption von Produkten aus den katabolen Abläufen, Transport nach der Verstoffwechselfung zu den Speichern oder Ort der Funktion. Spezifische Zusammenhänge können bei der Messung des Gesamtgehaltes eines Elementes in der Serumprobe auch bei Einsatz der hochentwickelten und aufwendigen analytischen Methoden nur selten erkannt werden.

Eine differenziertere Betrachtung ist über die Charakterisierung der Bindungsformen von Spurenelementen in Körperzellen möglich. Körperzellen sind im Zusammenhang mit ihren biologischen Aufgaben differenziert hinsichtlich ihrer Morphologie und Struktur, der Anzahl und Anordnung von Organellen sowie der Produktion spezifischer chemischer Verbindungen - wie Metalloproteinen -, die im Cytoplasma gelöst sind. Für die Identifizierung der metallbindenden Komplexe werden dabei Methoden zur Trennung der organischen Bestandteile mit den Methoden zur Elementdetektion kombiniert.

Studien zur Speziation von Spurenelementen im Plasma von Zellen verschiedener Organe haben bereits gezeigt, dass darin organspezifische Bindungsmuster auftreten, deren Änderung in ursächlichem Zusammenhang mit pathologischen Zuständen stehen können. Von zunehmenden klinischen Interesse sind Metalloproteine mit antioxidativen Eigenschaften, wie Metallothioneine, Glutathion-Peroxidasen, Superoxid-Dismutasen, Catalase, Transferrin, Lactoferrin und Coeroluplasmin, die als Inhibitoren der Bildung freier Radikale wirken.

Besonders die Metallothioneine, eine Gruppe von cysteinreichen intrazellulären Proteinen, spielen offensichtlich eine Rolle bei einer Vielzahl von Vorgängen im Zellstoffwechsel und werden daher zunehmend als geeignet angesehen für das Erkennen von pathologischen Zuständen. Die Expression von MT-Genen wird gefördert von zweiwertigen Metallen aber auch von Hormonen und Cytokinen. Neuere Arbeiten weisen darauf hin, dass die MT's eine wichtige Rolle spielen in der zellulären Proliferation und Differentiation sowie bei Abwehrmechanismen. In den letzten zwei Jahren wurden MT's in verschiedenen Tumortypen mittels immunohistochemischer Methoden nachgewiesen und aus den Ergebnissen gefolgert, dass eine hohe MT-Expression verbunden ist mit erhöhter Malignität und schlechter Prognostik.

Diskutiert werden u.a. eigene Untersuchungen an transplantierten humanen Lebern (Zyste, Zirrhose, Alkohol) zur Feststellung der Metallbeladung von MT's und die Korrelationen von MT mit anderen Markern im Serum bei Sepsis.

## **Aussagekraft molekularbiologischer Untersuchungen für die Versorgung mit Spurenelementen**

Wilhelm Windisch, Wien, Österreich

Die Versorgung mit Spurenelementen unterscheidet im wesentlichen den physiologisch adäquaten Versorgungszustand, in dem der metabolische Bedarf des Organismus an einem essentiellen Spurenelement gedeckt ist, vom Zustand einer Fehlversorgung (Mangel – Überschuss). Indikatoren der Spurenelementversorgung sind hierbei besonders aussagekräftig, wenn sie sich im Bereich der Bedarfsdeckung grundsätzlich anders verhalten als bei einer Fehlversorgung. Darüber hinaus sollten sie für das betreffende Spurenelement spezifisch sein, von weiteren exogenen und endogenen Faktoren (z.B. Aufnahme anderer Spurenelemente, anabole/katabole Stoffwechsellage, Krankheit) möglichst wenig überlagert werden, sowohl rasch als auch quantitativ differenziert reagieren und die Versorgungslage des Gesamtorganismus repräsentativ abbilden. Viele „klassische“ Indikatoren erfüllen diese Voraussetzungen nur mit Einschränkungen und formen erst in Kombination mit weiteren Beobachtungen ein zumeist unscharfes Mosaik der Versorgungslage. Molekularbiologische Verfahren haben jedoch das Spektrum möglicher Indikatoren der Spurenelementversorgung grundsätzlich erweitert. Ihr Informationswert soll nun anhand von Beispielen mit den verschiedenen Klassen herkömmlicher Indikatoren verglichen werden.

## Überlegungen und Befunde zur Eisenfortifikation von Nahrungsmitteln in der 3. Welt.

K. Schümann<sup>1</sup>, A. Mäurer<sup>2</sup>, B. Elsenhans<sup>1</sup>, N.W. Solomons<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Walther-Straub-Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Ludwig-Maximilians-Universität, München; <sup>2</sup>Fraunhofer-Institut für Lebensmittel- und Verpackungstechnik, Freising; <sup>3</sup>CeSSIAM, Guatemala City, Guatemala.

### Einleitung

Die Bioverfügbarkeit von Eisen ist in der dritten Welt vor allem durch den hohen Konsum phytathaltiger Grundnahrungsmittel wie Getreide, Reis, Mais und schwarzer Bohnen eingeschränkt. Die Phytate bilden im Darmlumen feste Komplexe mit Nonhämeseisen, die die Resorptionsrate um bis zu 90% senken. Gleichzeitiger Verzehr von Fleisch, Fisch und Geflügel oder hohe Vitamin C Zufuhr können dem entgegenwirken, sind aber für die armen Bevölkerungsschichten zu teuer. Da Anämien die physische Leistungsfähigkeit und somit das Einkommen z.B. bei Akkordarbeit in der Erntezeit senkt (Dallman, 1982), ergibt sich hier ein Teufelskreis aus Armut und mangelhafter Eisenzufuhr. Nach dem Aufzehren der Eisenmitgift aus der Schwangerschaft in den ersten 4 – 6 Lebensmonaten ist der Eisenmangel sehr häufig. Im Alter von 6 – 18 Monaten wird die kindliche Intelligenzentwicklung selbst bei leichten Anämien eingeschränkt, was später auch bei reichlicher Eisenzufuhr wahrscheinlich nicht mehr ausgeglichen wird (Lozoff et al., 1991). Jüngere Überlegungen beziehen diese Befunde jedoch auch auf den weiteren sozialen Kontext und andere Nährstoffmängel, die methodisch schwer vom Eisenmangel zu trennen sind (Pollitt, 2000). Durch zusätzliche Eisenverluste mit der Menses und durch Schwangerschaften sind Frauen im gebärfähigen Alter eine weitere Risikogruppe für Eisenmangel. Dadurch steigt das Risiko für Frühgeburten und niedriges Geburtsgewicht (Allen et al., 2000a), was die Eisenmitgift der Föten reduziert und zum Eisenmangel beiträgt. In verschiedenen Projekten wurde z.B. Salz mit 10 – 15 mg Fe/d, Zucker mit 5 mg Fe/d und Reis mit 8-10 mg Fe/d oder Anchovis mit 30 mg Fe/d als Nonhämeseisen fortifiziert. Das sind im Verhältnis zu einem RDA von 10 bzw. 15 mg Fe/d für erwachsene Männer und Frauen beträchtliche Mengen und der Konsum der fortifizierten Nahrungsmittel ist über die Zeit und zwischen unterschiedlichen sozialen Schichten etwa gleich. Das Vorgehen hat jedoch den Nachteil, daß das die Bioverfügbarkeit des zugesetzte Nonhämeseisen durch den hohen Phytatkonsum ebenfalls auf etwa 10% reduziert werden kann (ref. Schümann et al., 1998).

Im Häm ist das Eisen in einem Porphyrinring gebunden und wird als Komplex entlang des gesamten Darms aufgenommen. Seine Resorptionsrate liegt deshalb mit ca. 30% deutlich höher als die von Nonhämeseisen (ca. 20% im Eisenmangel) und wird durch Phytate nicht beeinträchtigt. In den Enterozyten wird der Porphyrinring durch eine Hämoxygenase gespalten und das Eisen wird als Nonhämeseisen resorbiert. Entsprechend hat man zur Verbesserung des Eisenstatus bereits im 1. Weltkrieg ein „Blutbrot“ entwickelt (Arnold und Wizorek, 1992) und in den 1980er Jahren im Chile in einer großen Interventionsstudie Hämoglobinfortifizierte Schokoladenkekse über 3 Jahre als Schulspeise eingesetzt. Diese Studie scheiterte daran, daß der Eisenstatus der Kontrollgruppe durch Verbesserung des Lebensstandards so anstieg, daß der Unterschied zu der Interventionsgruppe nicht mehr signifikant war (Walter et al., 1993). Zudem ist Hämoglobin (64,5 kDa) im Vergleich zu den 4 enthaltenen Eisenatomen sehr voluminös. Es lag deshalb nahe, das Häm durch Säurehydrolyse von dem Globin zu trennen und durch Zentrifugations- und Trocknungsschritte ein pulveriges Hämprodukt zu entwickeln (US-Patent No. 6,217,932 B1). Den Nutzen dieses Hämpräparates haben wir in einer Interventionsstudie mit fortifiziertem Bohnenmus in Guatemala City untersucht, das zusammen mit Maisfladen (Tortillas) nach dem Abstillen von den armen Schichten als erste Beikost genutzt wird.

## **Molekularbiologische Methoden in der Spurenelementforschung**

Michael W. Pfaffl

Institut für Physiologie, Forschungszentrum für Milch und Lebensmittel, Freising -  
Weihenstephan

### **Einführung**

Die heutige Spurenelementforschung setzt sich zusammen aus den „klassischen Forschungsgebieten“ mittels der Elementanalyse, Speziesanalyse und Isotopentechniken und der relative jungen „molekularen Spurenelementforschung in den Biowissenschaften“. Diese beschäftigt sich mit der Funktion von Zellen und Zellbestandteilen auf der Ebene der Makromoleküle: *DNA*, *messenger RNA (mRNA)* und *Protein*. Durch die innovativen und leistungsfähigen Methoden und Gerätetechnik der „modernen Molekularbiologie“ werden explosionsartig neue DNA-, mRNA- und Proteinsequenzdaten generiert, die in ihrer Gesamtheit als *Genom*, *Transkriptom* und *Proteom* zusammengefasst werden. Die moderne molekulare Spurenelementforschung soll kausale Zusammenhänge und Mechanismen zwischen Struktur und Funktion herstellen, sowie Regel- und Steuermechanismen des Spurenelementstoffwechsels entdecken und aufklären. Dies wird unter dem Begriff *Metabolom* zusammengefasst. Beispiele hierfür sind die Beschreibungen des Zellstoffwechsels (Gewebekonzentrationen und -flüsse von Spurenelementen via Transporter), hormonell oder Substrat gesteuerte Mechanismen, das Wachstum, das Altern und der programmierte Zelltod (Apoptose).

## **Der Jodgehalt der Muttermilch und die geschätzte Jodaufnahme Jenaer Wöchnerinnen**

Nicolle Bader<sup>1</sup>, U. Möller<sup>2</sup>, M. Leiterer<sup>3</sup>, K. Franke<sup>3</sup>, G. Jahreis<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für Ernährungswissenschaften und <sup>2</sup>Frauenklinik der Friedrich-Schiller-Universität, Jena, <sup>3</sup>Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft, Jena

### **Zusammenfassung**

*Fragestellung:* Thüringen war vor Einführung der Jodsalzprophylaxe besonders vom Jodmangel betroffen. Im Rahmen regelmäßiger Untersuchungen zum Jodgehalt der Muttermilch in der Jenaer Region sollte eine aktuelle Analyse der Jodversorgung die Wirkung von jodmangelpräventiven Maßnahmen evaluieren.

*Material und Methoden:* Von 32 Wöchnerinnen der Jenaer Universitätsfrauenklinik wurde im Zeitraum von Januar 2000 bis August 2001 je eine Milchprobe gesammelt. Darüber hinaus stellten 34 Thüringer Milchproduzenten Sammelproben für die Jodbestimmung zur Verfügung. Die Jodanalyse der Mutter- und Kuhmilchproben erfolgte mittels ICP-MS.

*Ergebnisse:* Im Vergleich zu früheren Untersuchungen konnte eine deutlich erhöhte Jodsekretion mit der Muttermilch festgestellt werden. Der Milchjodgehalt stieg von 95 µg/l im Jahr (1996) im Mittel auf 169 µg/l an; die Schwankungsbreite ist beträchtlich (33 - 348 µg/l) [2]. Eine Steigerungsrate in Höhe von 60 % konnte auch für den Jodgehalt in der Kuhmilch ermittelt werden (Mittel: von 111 auf 178 µg/l; [2]).

*Schlussfolgerung:* Die Jodversorgung der Bevölkerung hat sich signifikant verbessert, wie dies eindrucksvoll anhand der Jodausscheidung mit der Milch für Mensch und Tier gezeigt werden konnte. Als mögliche Ursachen konnte die breitflächige Verwendung von Jodsalz und der Einsatz von jodangereichertem Mineralfutter in der Tierernährung ermittelt werden. Kuhmilch entwickelte sich damit zu einer bedeutenden Jodquelle.

*Schlüsselwörter:* Muttermilch, Kuhmilch, Jodzufuhr, Jodsupplementation

## **Organspezifische Elementbindungsmuster in humanen Gewebecytosolen**

Andrea Richarz, Christian Wolf, Peter Brätter  
Hahn-Meitner-Institut, Glienicker Str. 100, 14109 Berlin, Email: richarz@hmi.de

### **Einführung**

Die physiologische Funktion der Elemente im Organismus hängt entscheidend davon ab, an welche Proteine sie gebunden sind: Transportproteine, Speicherproteine oder Metalloenzyme, welche an zahlreichen Stoffwechselreaktionen beteiligt sind.

Zur Untersuchung der an unterschiedliche Proteine im Cytosol von menschlichen Geweben gebundenen Spurenelemente wurden die Biomoleküle mittels Größenausschlußchromatographie getrennt und die Elemente on-line mittels induktiv gekoppelter Plasma-Massenspektrometrie detektiert.

## **Erhöhung der Caspase-3 und Fas mRNA Expression in adulten Ratten mit subklinischer Zink-Defizienz**

A. Didier, W. Windisch und M. W. Pfaffl  
Institut für Physiologie, Freising - Weihenstephan

### **Einleitung**

Nach der Entdeckung von Zink als wichtigem Spurenelement für die menschliche und tierische Ernährung wurden in den vergangenen Jahren zahlreiche Versuche durchgeführt, um die molekularen Mechanismen der Zink-Defizienz-assoziierten Pathologie näher zu charakterisieren. Im Tiermodell wurden die Folgen einer Zinkmangelsituation meist an prä-adulten Tieren untersucht, um so die Zinkmangel bedingte Wachstumsretardierung und andere pathologische Veränderungen besser beleuchten zu können. Im Gegensatz dazu wurde die hier vorgestellte Studie in adulten Ratten durchgeführt. Die Symptome des Zinkmangels waren zudem subklinischer Art. Damit reflektiert dieses Modell eine nicht ungewöhnliche Stoffwechselsituation in der Bevölkerung der Industrienationen.

Weiterhin ist seit einigen Jahren bekannt, dass Zinkmangel neben einer reduzierten Zellproliferation auch in der Lage ist, Apoptose auszulösen (Ahn et al, 2001; Cao et al. 2001). Allerdings wurde in diesen Untersuchung Apoptose mittels Detektion der DNA Fragmentierung (TUNEL-Assay) nachgewiesen. Mit dieser Methode werden allerdings nur Zellen in einem sehr späten Stadium der Apoptose detektiert. Die Ergebnisse der hier vorgestellten Untersuchung zeigen, dass Apoptose-assoziierte Faktoren in einer Zinkmangel-Situation auf transkriptioneller Ebene hochreguliert sind.

## **Selenium deficiency alters gene expression in the liver of growing rats**

Alexandra Fischer and Josef Pallauf

Institute of Animal Nutrition and Nutrition Physiology, Justus Liebig University Gießen, Heinrich-Buff-Ring 26-32, 35392 Giessen

### **Introduction**

Selenium (Se) is an essential trace element known to affect a wide range of physiological processes. It plays a role in the elimination of reactive oxygen species, in cell proliferation and in the regulation of redox-sensitive enzyme cascades, thereby modulating leucotriene synthesis, inflammatory processes and apoptosis (FLOHÉ et al. 2000). Most known biological functions of Se are carried out by selenoproteins, which in mammals are essential for life (BÖSL et al. 1997).

Methods for large scale measurement of gene expression are becoming important tools in the field of free radical research (LOCKHART et al. 1996). In a previous study measuring differential expression of 450 genes with cDNA array technology in Se and/or vitamin E deficient rats, Se deficiency led to a significant down-regulation of 9 genes, encoding for detoxifying enzymes in liver metabolism as well as to a down-regulation of Se dependent cGPx (FISCHER et al. 2001). A combined vitamin E and Se deficiency was characterised by inductions in the expression of genes encoding for proteins involved in antioxidant defense, cell cycle, apoptosis, inflammation and acute phase response. The largest differential expression between control and double-deficient animals was observed for cGPx.

In order to obtain a even more comprehensive understanding of the molecular mechanisms involved in the pathophysiology of Se deficiency, a global expression profile of 1200 genes in Se deficient rat liver was determined using cDNA array technology. Furthermore the Se status was monitored by measuring Se concentrations and the activities of different Se dependent enzymes.

# **Moderne und umfassende Qualitätssicherung in der Haar-Mineralstoff-Analytik (HMA) am Beispiel der Schwermetalle Quecksilber und Blei und der Spurenelemente Zink und Mangan**

Dipl.-Chem. Dr. rer. nat. Josef Rauscher

TORRE Ganzheitl. Pharmazie GmbH, Willi-Grasser-Strasse 5 - 7, 91056 Erlangen

## **Einführung**

Die HMA liefert in Verbindung mit der Wachstumsgeschwindigkeit der Haare eine einzigartige Information über Zeitraum und Dauer von umwelt- oder arbeitsplatzbedingten Schwermetallbelastungen des Organismus . Obwohl dabei nicht immer zwischen endogener und exogener Belastung unterschieden werden kann (und auch aufgrund toxikologischer und kinetischer Betrachtungen oft keine Korrelation zwischen Haarkonzentrationen und der Konzentration in inneren Organen existieren kann), ist sie ein nützliches Instrument für arbeitsmedizinische / -hygienische oder umwelttoxikologische Fragestellungen. Die Haarmineralstoffanalyse braucht allerdings eine dem analytischen Problem angemessene Qualitätssicherung.

## **Die geniom® Technologie: Der erste frei programmierbare DNA-Array**

Marcus Hausch, febit ag, Käfertaler Straße 190, D-68167 Mannheim

### **Einführung**

Die geniom® Technologie der febit ag stellt einen neuartigen vollautomatisierten Ansatz für die DNA-Diagnostik dar. Der Benutzer kann vollintegriert in einem Labor-tischgerät in situ Oligonukleotidmicroarrays aufbauen, hybridisieren und auswerten. Diese Technologieplattform ist damit einerseits hervorragend zur Entwicklung von DNA-Diagnostikchips geeignet, andererseits im nächsten Schritt auch für den Routineinsatz im Diagnostiklabor. Für die Entwicklung dieser neuartigen Technologie hat die febit ag den diesjährigen Innovationspreis der deutschen Wirtschaft erhalten.