

Gesellschaft für Mineralstoffe und Spurenelemente e. V. (GMS)

Abstrachteft

23. Jahrestagung der GMS 2007

Stuttgart, 28.–29. September 2007
Kultur- & Kongresszentrum Liederhalle (KKL)
Berliner Platz 1–3, 70174 Stuttgart

Thema 2007:
Anwendung und Bedeutung ausgewählter
Spurenelemente und Mineralstoffe in der Medizin

Kongresssprachen: Englisch und Deutsch

Die Tagung wurde von Länderärztekammer Baden-Württemberg mit
12 Fortbildungspunkten zertifiziert.

Posterpräsentationen** zu allen wissenschaftlichen Aspekten von Mineralstoffen
und Spurenelementen in der Biomedizin, Bioanalytik und Umwelt –

Spurenelemente und Mineralstoffe – Stand der Wissenschaft und klinische Bedeutung

Josef Köhrle

Institut für Experimentelle Endokrinologie und Endokrinologisches Forschungs-Centrum
Charité EnForCé, Charité - Universitätsmedizin Berlin, Charitéplatz 1, 10117 Berlin
Josef.Koehrle@charite.de

Spurenelemente, Mineralstoffe, Vitamine und Hormone haben gemeinsam, dass sie in kleinsten Mengen grosse biologische Wirkungen hervorrufen und in fast alle Stoffwechselwege direkt oder vermittelt über spezifische, von ihnen funktionell abhängige Proteine regulierend eingreifen. Zwischen diesen teils nahrungsabhängig zugeführten Substanzgruppen gibt es vielfältige biochemische und metabolische Interaktionen. Es werden sogar additive, synergistische oder teils auch antagonistische Wechselwirkungen beobachtet und präventiv oder therapeutisch in der Medizin eingesetzt. Die enormen methodischen, technischen und analytischen Fortschritte der letzten Jahre und Erkenntnisse aus der Sequenzierung der Genome vieler Spezies einschliesslich des Menschen zeigten auf, dass Spurenelemente und Mineralstoffe nicht nur für Cofaktoren, prosthetische Gruppen, oder als spezifische Gegenionen für geladene Biomoleküle benötigt werden, sondern dass ihre systemischen und lokalen Konzentrationen und Kompartimentierungen in Zellen ebenso strikt reguliert werden, wie ihr Stoffwechsel und ihr Einbau in funktionelle Biomoleküle. Insbesondere für die essentiellen Spurenelemente Selen, Eisen, Zink, Kupfer, Molybdän, aber auch für die Mineralstoffe Natrium, Kalium, Calcium und Magnesium sowie für Phosphat, Sulfat, Chlorid und Iodid konnten spezifische, regulierte Bindungs- und Transportproteine in verschiedenen Membranen der Zellen, intrazellulär und auch in Körperflüssigkeiten identifiziert werden. Expression und Funktion dieser Proteine unterliegen regulatorischen Rückkopplungsmechanismen wie sie für Hormone, nutritive und metabolische Signalsubstanzen bekannt sind. Basale Vorgänge der Transkription, Translation und postrationalen Proteinmodifikation werden durch Spurenelemente und Mineralstoffe wie Se, Fe, Zn, Ca und andere beeinflusst. Die Entschlüsselung des humanen Selenogenoms, das durch 25 Gene kodiert wird, zeigte, dass präventiv und therapeutische nützliche Selenwirkungen nicht nur durch optimierte Glutathionperoxidaseaktivität (Stichworte „antioxidative Wirkung und oxidativer Stress“) erklärt werden können, sondern dass es enzym-, zell-, und krankheitsspezifische Selenwirkungen gibt (z.B. Redox-Regulation, Schilddrüsenhormonstoffwechsel, Rigid Spine Disease, Entwicklungsstörungen). Diese werden über einzelne Selenoproteine und davon abhängige Stoffwechselreaktionen vermittelt. Die Entdeckung spezifischer, zellulärer und intrazellulärer Transporter und Bindungsproteine für Eisenionen hat neue Einsichten in die Regulation des Eisenhaushalts, die Wirkung von Eisenionen und die Pathophysiologie verschiedener Krankheiten, z.B. Infektionskrankheiten, vermittelt. Sogar ein neues Eisen-regulierendes, von der Leber sezerniertes Hormon, Hpcidin, wurde entdeckt, durch das eine systemisch rückgekoppelte Regulation des Eisenhaushalts erfolgt wie es für den Calcium-Haushalt seit langem bekannt ist. Ähnliches trifft für Phosphat zu, wo ebenfalls neu entdeckte Hormone (z.B. FGF23, Phosphatonine, Klotho) eine vernetzte Regulation zum hormonregulierten Calcium-Stoffwechsel herstellen. Für die Biosynthese des Molybdän-haltigen Kofaktors MoCo wurde ein bei Eukaryonten ungewöhnlicher Transkriptionsmechanismus charakterisiert und entsprechende genetische Defekte werden konsequent mit molekularen Prinzipien therapiert. Die Forschung und Analytik im Bereich der Spurenelemente und Mineralstoffe hat somit bedeutende Beiträge zu Fortschritten in den biomedizinischen Disziplinen geliefert und Diagnostik, Therapie und Prävention von Krankheiten auf wissenschaftlich fundierter Basis beträchtlich verbessert.

New Assay for the Measurement of Selenoprotein P

**Birgit Hollenbach¹, Nils G. Morgenthaler^{1,2}, Joachim Struck², Christine Alonso²,
Andreas Bergmann², Josef Köhrle¹, and Lutz Schomburg¹**

¹ Institute of Experimental Endocrinology, Charité - Universitätsmedizin Berlin, 10117 Berlin

² Research Department, B.R.A.H.M.S AG, Biotechnology Centre, 16761 Hennigsdorf

E-Mail: lutz.schomburg@charite.de

Selenoprotein P (SePP) is a central transport molecule for the trace element selenium (Se). Under normal conditions, it accounts for > 50% of Se in blood of rodents or humans [1]. Circulating SePP is mainly derived from hepatocytes, and it serves to supply brain, kidney or testis with the essential micronutrient [2, 3]. Especially within brain, SePP appears pivotal to ensure a preferential Se supply to neurons potentially involving a reversible biosynthesis and degradation cycle [4]. Serum Se and serum SePP amounts correlate over a wide concentration range, but SePP might represent the better biomarker for Se status. To generate a reliable and fast assay for SePP quantification, we developed an immunological detection method. Two independent SePP-specific polyclonal SePP antibodies were raised in sheep and used to establish a sandwich assay. The stability of the analyte was compared in human serum and plasma, respectively. Serum turned out to yield the more stable and consistent results, and the analytical detection limit was 200-times below the SePP concentrations in healthy men and women. When we compared serum SePP concentrations between the sexes, no statistically significant differences were observed, but older individuals had accumulated higher SePP amounts in serum compared to younger people. Finally, we compared healthy controls and critically ill patients that are known to display low serum Se concentrations which correlate to their morbidity [5, 6]. Indeed, serum SePP concentrations displayed the same negative acute phase behaviour as serum Se concentrations [7]. Thus, a reduced SePP biosynthesis rate or an increased degree of SePP uptake from serum underlies the well characterized negative acute phase response of serum Se. The SePP assay may therefore serve as a valuable test to diagnose Se status, and to monitor therapeutic efficiency and recovery in critically ill patients.

- [1] Burk RF, Hill KE. Selenoprotein P: an extracellular protein with unique physical characteristics and a role in selenium homeostasis. *Annu Rev Nutr* 2005; 25:215-35.
- [2] Schomburg L, Schweizer U, Holtmann B, Flohé L, Sendtner M, Köhrle J. Gene disruption discloses role of selenoprotein P in selenium delivery to target tissues. *Biochem J* 2003; 370(Pt 2):397-402.
- [3] Hill KE, Zhou J, McMahan WJ, Motley AK, Atkins JF, Gesteland RF, Burk RF. Deletion of selenoprotein P alters distribution of selenium in the mouse. *J Biol Chem* 2003; 278(16):13640-6.
- [4] Schomburg L, Schweizer U, Köhrle J. Selenium and selenoproteins in mammals: extraordinary, essential, enigmatic. *Cell Mol Life Sci* 2004; 61(16):1988-95.
- [5] Forceville X, Vitoux D, Gauzit R, Combes A, Lahilaire P, Chappuis P. Selenium, systemic immune response syndrome, sepsis, and outcome in critically ill patients. *Crit Care Med* 1998; 26(9):1536-44.
- [6] Angstwurm MW, Schottdorf J, Schopohl J, Gärtner R. Selenium replacement in patients with severe systemic inflammatory response syndrome improves clinical outcome. *Crit Care Med* 1999; 27(9):1807-13.
- [7] Nichol C, Herdman J, Sattar N, O'Dwyer PJ, St JORD, Littlejohn D, Fell G. Changes in the concentrations of plasma selenium and selenoproteins after minor elective surgery: further evidence for a negative acute phase response? *Clin Chem* 1998; 44(8 Pt 1):1764-6.

Polymorphisms in selenoproteins.

Alan M. Diamond

Department of Kinesiology and Human Nutrition,
University of Illinois at Chicago, USA, 60607
E-mail: adiamond@uic.edu

Genetic variation among humans might provide insight into individual disease risk and mechanisms of action of substances that are thought to be protective. There exists significant data indicating that selenium can protect against cancer, including animal work, epidemiology and selenium supplementation studies. While the means by which selenium provides its benefits remain unproven, it is likely that at least some of these positive effects are due to selenium's effects on selenium-containing proteins. In support of this, animal studies have shown that mice deficient in selenoproteins are predisposed to cancers of several types. Data as to which selenoprotein is the significant one comes from human genetic analyses indicating that polymorphisms in the gene for the anti-oxidant selenoprotein glutathione peroxidase-1 (GPx-1) are associated with increased risk of cancer. To substantiate the link between GPx-1 variations and cancer risk, and perhaps the mechanism of action of selenium, it needs to be established that GPx-1 polymorphisms can influence the function and/or structure of the corresponding protein and these genetic variations can affect the biological processes that can contribute to cancer risk. Using *in vitro* analyses, allelic variants of GPx-1 demonstrate different biochemical properties. In addition, the levels of GPx-1 can influence a cells ability to sustain DNA damage, as measured using the formation of micronuclei in irradiated cells. Polymorphisms in GPx-1 also provide a useful tool to examine chromosomal loss during cancer development; loss of heterozygosity at the GPx-1 locus is a frequent event during the development of several tumor types. Collectively, these studies indicate that polymorphisms in GPx-1 may determine cancer risk and that reduced levels of the corresponding GPx-1 protein may increase susceptibility to DNA damage. In addition, these data also suggest that GPx-1 may be a target for the benefits of selenium supplementation. This work was supported by grant NIH 5 RO1 CA101053.

Selen bei Autoimmunerkrankungen der Schilddrüse

J. Rendl

Klinik für Nuklearmedizin
St. Vincentiuskliniken Karlsruhe, Südenstraße 32, 76137 Karlsruhe
Email: johann.rendl@vincentius-ka.de

Das Spurenelement Selen(Se) spielt eine bedeutende Rolle im Stoffwechsel der Schilddrüse (SD) sowohl unter physiologischen Bedingungen als auch bei Schilddrüsenerkrankungen. Genaue Kenntnisse über den kausalen Zusammenhang zwischen Entstehung von Autoimmunerkrankungen der Schilddrüse und Selenmangel sind vergleichsweise neu. Bei den häufigsten Autoimmunerkrankungen der SD wie Hashimoto-Thyreoiditis und Morbus Basedow gilt der nicht ausreichend kompensierte intrathyreoidale oxidative Streß als wesentlicher pathogenetischer Mechanismus. Gut charakterisierte Selenoenzyme wie die Glutathionperoxidasen und Thioredoxinreduktasen beeinflussen Zellfunktionen und den Redoxstatus der SD als antioxidative Schutzsysteme.

Aktuelle, plazebokontrollierte Studien zeigen, daß eine ausreichende Se-Substitution bei den Autoimmunthyreopathien die Aktivität der Entzündung und des Immungeschehens deutlich verringern und die Beschwerden der Patienten signifikant verbessern kann.

Gärtner und Mitarbeiter konnten nachweisen, daß 200µg Se tgl. über 3 Monate bei Patienten mit Hashimoto-Thyreoiditis sowohl zu einer signifikanten Abnahme der TPO-Antikörper (TPO-Ak) führt (36% in der Verum-Gruppe vs. 12% in der Plazebo-Gruppe) als auch wesentlich die klinischen Beschwerden und das Allgemeinbefinden verbessert (SF-12-Protokoll). Eine anschließende Cross-Over-Studie bestätigte die Ergebnisse: Patienten mit fortlaufender Se-Behandlung wiesen einen weiteren Rückgang der TPO-Ak auf, in der auf Plazebo umgestellten Gruppe gingen die Antikörper wieder nach oben. Untermuert wurden diese Resultate durch eine in Athen durchgeführte Studie von Duntas et al: Abfall der TPO-Ak um 56% unter Selen- vs. 27% bei Plazebobehandlung.

Eine ganz aktuelle Untersuchung aus Italien (Negro et al.) konnte zeigen, daß eine Se-Substitution bei schwangeren Frauen mit positiven TPO-Ak die Entzündungsaktivität und die Inzidenz der postpartalen Hypothyreose deutlich reduziert (62 % vs 44 % in der Plazebogruppe).

Eine ebenfalls neue, retrospektive Studie aus Düsseldorf bei Patienten mit Morbus Basedow ergab die höchsten Serum-Selenkonzentrationen in der Remissionsgruppe, was auf einen positiven Effekt von Se auf den Autoimmunprozeß und die Remissionswahrscheinlichkeit hindeutet. Offensichtlich aber muß man Basedow-Patienten höher mit Se dosieren.

Künftige weitere Anwendungen von Selen in höherer Dosierung sind denkbar bei der Amiodaron-induzierten destruktiven Thyreoiditis sowie unmittelbar nach Radioiodtherapie zur Abschwächung radioiodinduzierter destruktiver Prozesse (strahleninduzierte Thyreoiditis sowie Sialadenitis).

Gärtner et al.: J Clin Endocrinol Metab. 2002 Apr;87(4):1687-91
Duntas et al.: Eur J Endocrinol. 2003 Apr;148(4):389-93.
Negro R et al: J Clin Endocrinol Metab. 2007 Apr;92(4):1263-8.
Wertenbruch T et al.: Med Chem. 2007 May;3(3):281-4.

Selen bei Sepsis

R. Gärtner

Medizinische Klinik Innenstadt Universität München, Ziemssenstr. 1, D-80336 München
E-mail: roland.gaertner@med.uni-muenchen.de

Schon seit mehr als 20 Jahren ist bekannt, dass die Selenspiegel im Plasma von Patienten mit schwerer Sepsis und Multiorganversagen signifikant erniedrigt sind. Sie korrelieren umgekehrt proportional mit dem Überleben. Selen liegt im Plasma nicht als freies Ion oder Salz vor, sondern befindet sich als Selenocystein im aktiven Zentrum von Selenoproteinen. Diese haben eine ganz entscheidende Rolle in der Regulation von Entzündungsprozessen.

In zwei unabhängig voneinander durchgeführten Pilotstudien konnte bereits gezeigt werden, dass eine Selensubstitution bei Sepsis-Patienten eine Reduktion der Mortalität um ca. 20% bewirken kann, allerdings waren die Studien mit 40 bzw 42 Patienten zu klein, um das Ergebnis statistisch abzusichern. In einer kürzlich publizierten größeren, multizentrischen, prospektiven und randomisierten Studie (SIC-Studie) bei Patienten mit schwerer Sepsis und septischem Schock konnten wir diese ersten Ergebnisse bestätigen: die Mortalität war um 14,3% in der Gruppe der Patienten reduziert, die per-protocol behandelt worden waren (n=189, p<0.05), und um 10,4% im Gesamtkollektiv (1).

Behandelt wurden die Patienten mit 1000 µg Natrium-Selenit als Bolus über 30 min, gefolgt von 1000 µg Natrium-Selenit pro Tag im Perfusor für 14 Tage oder Placebo; als Basis erhielten alle Patienten 35 µg Natrium-Selenit.

Die am schwersten erkrankten Patienten hatten am meisten von der Selensubstitution profitiert: Bei Patienten mit schwerem septischem Schock und nachgewiesener DIC betrug die Reduktion der Mortalität 26,1% (n = 82, p = 0,018; OR 0,34, CI 0,14 – 0,84), das entspricht einer „number-needed to treat“ (NNT) von vier. Insgesamt korrelierte die Mortalität umgekehrt proportional zu den Selenspiegeln (p=0,019), wie in früheren Studien bereits gut belegt ist. Es wurden keine unerwünschten Nebenwirkungen beobachtet, die Selenspiegel lagen im oberen Normalbereich.

Fasst man die Ergebnisse dieser drei bisherigen, kontrollierten Studien zum Einfluss einer adjuvanten, hochdosierten Selensubstitution bei Patienten mit Sepsis und Multiorganversagen zusammen, so ergibt sich in der Metaanalyse eine hoch signifikante Reduktion der Mortalität um 21,1% (p< 0,01). In zwei kleineren Studien mit entweder sehr niedrig (2) oder sehr hoch (3) dosiertem Natrium-Selenit konnten diese Ergebnisse nicht bestätigt werden, es zeigte sich kein Einfluss auf Mortalität oder klinischen Verlauf.

Nach den bisherigen wissenschaftlichen Erkenntnissen ist die Selensubstitution ein pathophysiologisch sehr sinnvoller, und nun auch in einer großen klinischen Studie belegter, erfolgreicher Therapieansatz. Allerdings scheint die Dosis entscheidend zu sein, sowohl zu wenig als auch ein zu viel hat keinen Einfluss auf die Mortalität. Es konnten aber in bisher allen Studien keine unerwünschten Wirkungen nachgewiesen werden. Selenoproteine modulieren die Immunreaktion über eine verminderte NF- κ -B Translokation und Zytokin-Freisetzung in Makrophagen, wie kürzlich gezeigt werden konnte. Außerdem können sie die durch freie Sauerstoffradikale induzierte Endothelschädigung und damit das Multiorganversagen verringern. Eine groß angelegte multizentrische Studie wird noch durchgeführt werden um diese sehr viel versprechenden Ergebnisse eindeutig abzusichern.

Literatur:

1. Crit Care Med (2007) 35: 118-126
2. Clin Nutr. (2007) 26: 41-50
3. Crit Care. (2007) 11(4):R73 [Epub ahead of print]

The impact of sodium selenite in gynecologic radiation oncology – final results of a prospective randomized observation study

R. Mücke

Department of Radiotherapy, St. Josefs-Hospital Wiesbaden, Germany

Email: r.muecke@rns-wiesbaden.de

Background: Selenium has been shown to possess cancer-preventive and cytoprotective activity in both animal models and humans. The aim of this prospective randomized observation study was to evaluate the ability of sodium selenite to compensate a pre-existing selenium deficiency and to prevent radiation-induced diarrhea in adjuvant radiotherapy (RT) for pelvic gynecologic malignancies.

Methods: From 12/2000 to 05/2007, a total of 82 patients with histopathologically proven diagnosis of a malignancy of cervix or corpus uteri with a selenium deficiency (whole blood) after curative surgical treatment were randomized before entering radiation treatment to receive oral sodium selenite or observation. In the supplementation group, patients received 500 µg sodium selenite per os on the days of radiotherapy and 300 µg sodium selenite on the days without treatment till the last day of radiotherapy. In the control group, adjuvant radiotherapy was given without supplementation of selenium. During treatment, levels of whole blood selenium were measured after completing 50% of RT, at the end of RT and 6 weeks after RT using a spectrofluorometer with a normal range of 85-162 µg/l [Winnefeld et al. 1995]. CT-based 3D-conformal radiotherapy of the true pelvis was delivered by a linear accelerator, the total doses ranged between 45.0/46.0 Gy and 50.0/50.4 Gy with a daily dose of 1.8 Gy to 2.0 Gy. Radiation-associated diarrhea was recorded weekly according to the CTC-criteria. Statistical analysis was performed using t-test for selenium levels and u-test for diarrhea. Overall survival rates and the incidence of diarrhea were analyzed as time-event curves by the Kaplan-Meier method including log-rank test. All statistical analyses were performed using the commercially available program package SPSS.

The study was approved by the International Ethics Committee in Freiburg, Germany.

Results: A total of 82 patients with a median age of 66 years (range 31-80) were evaluable. Of these patients, 39 were randomized in the supplementation group and 43 in the control group. Before adjuvant radiotherapy, in the supplementation group the mean whole blood selenium level was 65.5 µg/l and in the control group 64.5 µg/l ($p=0.481$). At the end of RT, a significant increase in the mean level of whole blood selenium (86.9 µg/l) reaching the lower normal range was observed in the supplementation group. In the control group, no change of mean selenium levels was seen (62.8 µg/l) ($p=0.0001$). Six weeks after completing adjuvant radiotherapy and supplementation of selenium, we measured 68.6 µg/l in the control group and 73.9 µg/l in the verum group ($p=0.344$). There has been a statistically significant difference between the study groups towards a lower incidence of diarrhea CTC 1-3 in RT-week 4-6 with selenium supplementation ($p=0.018, 0.025, 0.029$). The actuarial incidence of radiation induced diarrhea of at least CTC 2 in the selenium group is 21% compared to the control group with 46.6% ($p=0.0385$). By a median follow-up of 28 months (1-72) the actuarial 5 year overall survival rate of patients with supplementation of selenium was calculated to be 93.8% compared to 84.6% in the control group ($p=0.2927$). During supplementation of selenium, no side effects were observed.

Conclusion: Our data suggest that supplementation of sodium selenite is able to significantly increase whole blood selenium levels in patients with gynecological tumors undergoing radiotherapy of the pelvic region after curative surgical treatment. Concerning radiation-induced diarrhea, we found a significant trend for prevention in the supplementation group. Overall survival rates show that supplementation of selenium does not interfere with the positive biological effects of ionizing radiation. So far, there is no evidence that radical scavenger selenium exhibits any tumor-protective properties. The decrease of whole blood selenium levels after 6 weeks of completing radiotherapy and supplementation of selenium shows the increased need for selenium in cancer patients.

Selen und Neurodegeneration

Dr. rer. nat. Ulrich Schweizer

Institute of Experimental Endocrinology, Charité - Universitätsmedizin Berlin,
10117 Berlin

E-Mail: ulrich.schweizer@charite.de

Die Datenlage zur potentiellen Rolle von Selen bei neurodegenerativen Erkrankungen ist unübersichtlich und widersprüchlich. In unseren Augen liegt das daran, dass wir nicht wissen, ob der messbare Selengehalt in Biopsieproben mit dem bioverfügbaren Selen korreliert. Weiterhin wussten wir bis vor kurzem nur wenig über den Transport von Selen ins Gehirn bzw. in Nervenzellen und seinen Metabolismus im Gehirn. Zuletzt ist das Wirkprinzip von „Selen“, also die wirksame molekulare Form nicht zweifelsfrei identifiziert – werden alle Wirkungen von Selen im Gehirn durch Selenoproteine vermittelt? Und welches Selenoprotein vermittelt welche Wirkung – und gibt es Korrelationen mit neurodegenerativen Erkrankungen wie Morbus Alzheimer oder Parkinson?

Wir versuchen diese Fragen mithilfe molekularbiologischer Methoden in Mäusen zu erhellen. Dabei nutzen wir eine ganze Reihe transgener Mausmodelle. So konnten wir zeigen, dass Mäuse mit Inaktivierung des Selentransportproteins, Selenoprotein P, einen neurologischen Phänotyp mit Epilepsie und selektivem Neuronenuntergang entwickeln, der mit einem niedrigen Gehirnselengehalt korreliert. Tatsächlich kann man den Selengehalt des Gehirns durch Supplementation mit anorganischem Selen in diesen Mäusen erhöhen und damit die biochemischen und neurologischen Phänotypen normalisieren. Obwohl diese Arbeiten die ersten klaren Ergebnisse einer Rolle für Selen im normalen Metabolismus des Gehirns darstellen, blieb die Frage nach dem Wirkprinzip damit nicht vollständig beantwortet. Um zu prüfen, ob Selen über Selenoproteine und in Nervenzellen wirkt, erzeugten wir transgene Mäuse, in denen spezifisch die Nervenzellen keine Selenoproteine synthetisieren können. Der beobachtete neurodegenerative Phänotyp zeigte dann zweifelsfrei, dass neuronale Selenoproteine entscheidend für die Funktion und das Überleben von Nervenzellen sind. In einem weiteren Experiment gelang es uns dann zu zeigen, dass das Fehlen der Glutathion-peroxidase 4 für den neurodegenerativen Phänotyp der Mäuse verantwortlich ist.

In anderen Studien gelang es uns herauszuarbeiten, dass Selenoprotein P im Gehirn eine Selenspeicherfunktion ausübt, die über die bisher bekannte Transportfunktion von der Leber ins Gehirn hinausgeht. Zusammen mit der Identifizierung eines spezifischen Rezeptors für Selenoprotein P können wir jetzt ein Modell für den Selenmetabolismus im Körper vorschlagen, welches die bevorzugte Versorgung des Gehirns mit Selen molekular erklärt. Trotz der Identifikation von Glutathionperoxidase 4 als essentielles Selen-Protein in Neuronen, sollte man sich vor vorschnellen Interpretationen hüten, solange die Funktionen aller anderen 24 menschlichen Selenoproteine nicht vollständig bekannt sind. Mit unseren neuen Konzepten und neuentwickelten Methoden werden wir jetzt aber in der Lage sein, die Rolle von Selenoproteinen und Selenmetabolismus im Gehirn bei degenerativen Erkrankungen besser zu entwirren.

Bedeutung von Selen im Knochenstoffwechsel

Franz Jakob

Universität Würzburg, Klinische und Experimentelle Osteologie,
Brettreichstraße 11, 97074 Würzburg
E-Mail: f-jakob.klh@uni-wuerzburg.de

Das Spurenelement Selen wird in verschiedenen Regionen der Welt über die Nahrung in unterschiedlichen Mengen aufgenommen, da die Konzentration im Boden und in den Nahrungsmitteln starken Schwankungen unterliegt. In unseren Regionen ist die tägliche Aufnahme im unteren Normbereich bis leicht erniedrigt. Selen wird in einem komplexen Mechanismus reguliert in die Aktiven Zentren verschiedener Proteine eingebaut. In Anwesenheit einer 3'-untranslatierten Hairpin-Struktur codiert das opale Stopcodon UGA für die 21. Aminosäure Selenocystein. Eine ganze Reihe von Selenoproteinen ist am Stoffwechsel und der Neutralisierung Reaktiver Sauerstoff-Spezies (ROS) beteiligt, für viele andere ist die Funktion noch nicht charakterisiert.

Knochen ist ein komplexes Gewebe; welches in konzertierter Aktion von mesenchymalen Osteoblasten und myeloischen Osteoklasten aufgebaut und umgebaut wird. Besonders Osteoklasten sind essentiell abhängig von der Signaltransduktion durch das NFkB-System, welches in hohem Ausmaß durch Redox-Regulation moduliert wird. NO hat wesentliche Signalwirkung im Osteoblasten. Im Zuge der Resorption von Knochen entstehen hohe Konzentrationen an ROS. Oxidative Belastung verursacht ein Funktionsdefizit des Osteoblasten. Osteoporose ist eine Erkrankung, bei der durch verminderte Knochenmasse und Knochenqualität eine Prädisposition für Fragilitätsfrakturen besteht. ROS könnten durch Aktivierung des Knochenabbaus und gleichzeitige Hemmung der Knochenformation eine Dysbalance in der Knochenbilanz verursachen und so einen Beitrag zur Pathogenese der Osteoporose leisten. Gleichzeitig könnten sie eine beschleunigte Zellalterung im Knochen begünstigen. Alterung ist einer der wichtigsten klinischen Risikofaktoren für die Osteoporose. Wir konnten nachweisen, dass nahezu alle bekannten Selenoprotein mRNA Spezies in mesenchymalen Stammzellen (MSC) und Fetalen Osteoblasten exprimiert werden. In Primären Kulturen solcher Zellen kann die Aktivität antioxidativer Selenoenzyme durch die Supplementation von Selen gesteigert werden. Thioredoxinreduktase 1 (TrxR1) ist ein Vitamin D-responsives Protein. Die Stimulation der mRNA ist auch in selendefizienten Kulturen nachzuweisen, die Steigerung der TrxR1 Aktivität ist nur unter Selen-Supplementation vorhanden. MSC produzieren in der Zellkultur deutlich mehr ROS, wenn die Kulturen ohne Selen-Supplementation gezogen werden. Dies zeigt, dass eine adäquate Selenversorgung Einfluss auf biologische Prozesse nimmt. Wir konnten zeigen, dass die Selen-Behandlung die Ausbildung von Micronuclei in MSC signifikant reduziert. Micronuclei werden durch genotoxischen Stress vermehrt gebildet. Diese Daten haben Implikationen für die Kultur von MSC, die für zellbasierte Therapieverfahren eingesetzt werden sollen.

Osteoporose und Arteriosklerose kommen sehr häufig gemeinsam vor. Das gleichzeitige Auftreten der Entkalkung des Knochens und der Verkalkung von Gefäßen legt nahe, dass verwandte Mechanismen eine Rolle spielen könnten. Bei der Arteriosklerose wurde die Glutathionperoxidase-Aktivität in Erythrozyten als ein aussagekräftiger Prädiktor für kardiovaskuläre Endpunkte wie Herzinfarkt und Schlaganfall charakterisiert. Wir haben in einer Kohorte von 200 Patienten mit leichter und schwerer Osteoporose die Glutathionperoxidase-Aktivität im Serum gemessen. Wir konnten feststellen, dass die Patienten mit schwerer Osteoporose und multiplen Frakturen eine signifikant niedrigere

Aktivität aufwies. Diese war allerdings nicht assoziiert mit dem Selenspiegel im Serum, so dass die GPx-Aktivität ein unabhängiger Marker für das Risiko einer schweren Osteoporose zu sein scheint. Weitere Untersuchungen müssen zeigen, ob eine verminderte antioxidative Kapazität einerseits ein Risikofaktor für die Entstehung einer schweren Osteoporose ist und andererseits ob durch Interventionen (gezielte Substitution) prospektiv das Risiko von Frakturen reduziert werden kann.

Are There Risks of Supranutritional Intakes of Selenium?

Gerald F. Combs, Jr., Ph.D.

Center Director

Grand Forks Human Nutrition Research Center, USDA-ARS, Grand Forks, ND, USA

E-Mail: Gerald.Combs@ARS.USDA.GOV

Interest in the health relevance of selenium (Se) has come in waves. The first came 7 decades ago when Se was identified as an active principle in toxicities of cattle and horses grazing on Se-accumulating plants. The second wave came two decades later when Se was found to spare the vitamin E needs of experimental animals. This role was clarified in the third wave 35 yrs. ago with the discovery of Se as an essential constituent of the antioxidant enzyme glutathione peroxidase. Over succeeding years Se, in the form of selenocysteine, was recognized as an essential constituent of some 25 selenoenzymes. The fourth wave was apparent 30 yrs. ago (but had roots earlier) with the recognition that supranutritional doses of Se could reduce/delay carcinogenesis in animals - a finding extended to humans by the Nutritional Prevention of Cancer (NPC) Trial which in 1995 showed that a 200 mcg Se/d supplement to Se-adequate subjects (consuming >85 mcg/d) reduced risks to total cancers, cancers of the lung, prostate and colon-rectum, and total cancer mortality. Cohort and case control studies have also indicated protective effects of Se against risks of prostate cancer and coronary heart disease. The prospect that Se may be useful in preventing cancer naturally raises questions about its safety; hence, the current wave of interest in this essential nutrient.

Clearly Se can be toxic, but intakes as great as 400 mcg/day have been regarded as safe. Nevertheless, it is plausible that supranutritional doses within this range may present risks. In vitro studies have indicated that oxidation of the metabolic intermediate H₂Se can induce mutagenesis with DNA damage. We found DNA damage in canine brain and prostate to show biphasic responses to increasing Se status (toenail Se), with protection occurring at moderate levels beyond which DNA damage increased. However, it is not clear whether/how these findings relate to health risks in humans taking Se. To this point, two observations from the NPC Trial are relevant: increased risks of secondary non-melanoma skin cancer (NMSC, combined basal and squamous cell carcinomas) and type II diabetes in the Se-treatment group. The latter finding relates to an analysis of the NHANES-III data suggesting an association of serum Se and diabetes risk.

Neither of those findings constitutes a clear indication of risk. The association of Se and NMSC risk was marginal; when a 2-yr lag term was included in the model the effect was not significant, suggesting that the effect was driven by latent lesions at randomization in these subjects with histories of basal/squamous cell lesions. The difference in diabetes rate, also of marginal significance, is difficult to interpret because we did not consider diabetes risk factors in subject selection or treatment randomization, and we ascertained diabetes status years after the trial based on subject self-reported health status and medication use. We have not found such associations in our recent Se-supplementation studies with smaller numbers of subjects. Are there risks of supranutritional intakes of Se? Supporting evidence is weak; but prudence dictates including markers of diabetes risk/outcome in ongoing/future Se-supplementation studies.

Investigations on the Permeability of the human Blood-CSF-Barrier for Selected Metals with Focus on Manganese

(Untersuchungen zur Durchlässigkeit der humanen Blut-Liquor-Schranke für ausgewählte Metalle mit Schwerpunkt Mangan)

V. Nischwitz, B. Michalke

GSF National Research Center for Environment and Health, Institute of Ecological Chemistry, Ingolstädter Landstr. 1, 85764 Neuherberg, Germany

Email: volker.nischwitz@gsf.de

About 0.5 to 1 million people in Germany are suffering from neurodegenerative diseases like Alzheimer disease, Parkinson disease and Prion diseases. The common mechanisms of these diseases are the aggregation and deposition of proteins in the brain and oxidative stress which causes loss of neurons. A crucial role of metals in the initiation or promotion of neurodegenerative diseases is discussed and supported by studies showing an accumulation of metals in the brain as well as changes in the metal homeostasis [1].

A key issue in the understanding and possibly treatment of neurodegenerative diseases are the transport of metal species from the blood into the cerebrospinal fluid (CSF) and the brain respectively. Currently, there are limited data available on total metal contents in CSF and few studies attempted metal speciation analysis in CSF.

Therefore, our study investigated the permeability of the blood-CSF-barrier for selected metals including Mn, Fe, Cu, Zn, Mg and Ca. Serum (the body fluid in front of the barrier) and CSF (the body fluid behind the barrier) are routinely sampled on the same day from patients in neurological departments. Aliquots of such paired samples from 29 individuals without severe damage of the neural barrier and without known excess exposure to metals were available for our investigations.

Total contents of the selected metals were determined with inductively coupled plasma mass spectrometry including a dynamic reaction cell (DRC-ICP-MS) and with inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). Size characterisation of the metal species in serum and CSF samples was performed with size exclusion chromatography coupled online with DRC-ICP-MS.

The results from the determination of the total metal contents indicate that the permeability of the blood-CSF-barrier is high for Mg and Ca, medium for Mn and low for Cu, Fe and Zn. Results from the chromatographic separation of the metal species demonstrate that molecular size is an important aspect for the selectivity of metal transport across the blood-CSF barrier.

References:

[1] Molina-Holgado et al., *Biometals* (2007) 20, 639-654

Ausprägung von M. Crohn Symptomatik, Anämie, und intestinaler Eisenresorption in Abhängigkeit vom Eisenstatus in einem chronischen Entzündungsmodell der Maus

K. Schümann, C. Kraus, N. Schulz, B. Szegner, K. Pantopoulos, D. Haller

Zentralinstitut für Ernährung (ZIEL), TUM, Freising,

E-Mail: K.Schuemann@lrz.uni-muenchen.de

Fragestellung: Freies Eisen katalysiert nach dem Fenton-Mechanismus oxidativen Stress und kann so chronische Entzündungen verursachen oder verschlimmern. Andererseits akkumuliert Eisen in entzündetem Gewebe. Die vorliegende Arbeit untersucht, ob sich der Verlauf chronischer Entzündungen *in vivo* durch eisenarme Fütterung mildern lässt und in welchem Ausmaß Eisenresorption und Anämie durch die Entzündung beeinflusst werden.

Material und Methoden: Heterozygote TNF Δ ARE-Mäuse mit konstitutiv überexprimiertem Tumornekrosefaktor entwickeln altersabhängig eine terminale Ileitis, deren Ausprägung histologisch mit einem Crohn-Score (0-12) quantifiziert werden kann. Eisenarmut wurde durch eisenarme Fütterung (Diät C 1038, Fa. Altrumin, Lage) für fünf Wochen während des Wachstums induziert. Den ^{59}Fe -Uptake aus dem Volumen in das duodenale Gewebe und den ^{59}Fe -Transfer aus dem Duodenum in den Organismus bestimmten wir in abgebundenen Segmenten *in vivo*. Hämoglobinkonzentration (Hb) und Hämatokrit (Hk) wurde mit Hilfe der Cyanmethämoglobin- und der Mikrohämatokrit-Methode ermittelt; der hepatische Nonhämeseingehalt wurde nach Eisenelution mit HCl unter Verwendung adäquater Standards photometrisch bestimmt.

Ergebnisse und Diskussion: Wildtypmäuse zeigten unabhängig vom Eisenstatus einen unauffälligen Crohn-Score von unter zwei. Eisenadäquate TNF Δ ARE-Mäuse wiesen im Alter von 16 Wochen dagegen eine massive Ileitis auf, die durch Eisenmangel fast vollständig unterdrückt wurde (Crohn-Score: 8 vs. 3). Ob diese hochsignifikante Reduktion der Entzündung auf den geringeren Reiz durch das eisenarme Futter im Lumen zurückgeht oder auf den systemischen Eisenmangel bedarf weiterer Klärung. Eisenarme Fütterung reduziert den hepatischen Nonhämeseingehalt in Wildtyp- und TNF Δ ARE-Mäuse ohne Unterschied signifikant. Die Hb-Konzentration sank dagegen nur in den eisenarmen TNF Δ ARE-Mäusen und der Hk lag bei Eisenmangel in den TNF Δ ARE-Mäusen deutlich unter dem der Wildtypkontrollen. Wegen der extramedulären Erythropoese lassen sich Mäuse durch eisenarme Fütterung kaum anämisch machen. Die Signifikanz der Beeinflussung von Hb und Hk durch die Entzündung ist deshalb eindrucksvoll. Der duodenale ^{59}Fe -Transport aus dem Lumen in den Organismus war im Eisenmangel signifikant gesteigert, zeigte aber keine Unterschiede zwischen Wildtyp- und TNF Δ ARE-Mäusen; letztere kumulierten aber signifikant mehr ^{59}Fe im duodenalen Gewebe. Dieser Befund kann als Hepsidin-vermittelte Blockade des Ferroportins in der basolateralen Membran des Duodenums der TNF Δ ARE-Mäuse interpretiert werden. Das gesteigerte ^{59}Fe -Angebot in der Mucosa könnte dann die eingeschränkte Leistung der verbliebenen Ferropotipopulation ausgleichen. Die Bestimmung von Hepsidin und Ferroportin in Leber und Duodenum steht aus.

Danksagung: Herr Dr. Kollias (Institut Alexander Fleming) danken wir für die Erlaubnis mit den TNF Δ ARE-Mäusen zu arbeiten.

Minerals and trace elements in food supplements – approved substances, quantities, advertising claims

A. Kraus

Verla-Pharm Arzneimittel, 82324 Tutzing, Germany

Email: anton.kraus@verla.de

Food supplements (FS) are regulated by EU directive 2002/46/EC resp. the german regulation "Nahrungsergänzungsmittelverordnung (NemV)". In Annex I of NemV the minerals are listed which may be used in FS. Annex II substantiates what compounds of these minerals are approved. A temporary arrangement permits the further use of other compounds as listed in Annex II until 31 December 2009 under certain conditions. Furthermore there is the possibility to use food ingredients as source of mineral compounds, e.g. selenium yeast as source of selenomethionine.

Apart from the question what minerals may be used in FS it is interesting what amounts of minerals in FS are used and allowed. The examples of zinc and selenium make clear that high dosages of minerals in FS are used throughout the EU member states. A differentiation of FS and drugs with respect to the recommended dosages is not possible. This shows the difficulty of so called dual-use-products put in circulation both as drugs and as FS, therewith food. According to directive 2002/46/EC maximum and minimum amounts of minerals shall be adopted, but have not been determined up to now and are awaited eagerly. Proposals of various institutions and associations are varying considerably.

The regulation (EC) No 1924/2006 (so called health claim regulation), valid since 1 July 2007, regulates nutrition and health claims made on food. According to the health claim regulation a community list with permitted claims (amongst others for minerals) shall be determined until 31 January 2010. It remains to be seen to what extent currently existing lists of industrial alliances are adopted by the European Commission for the community list.

Selenium and zinc in the testis of a marsupial species the Tammar Wallaby (*Macropus eugenii*)

Bertelsmann, Holger

Hahn-Meitner-Institut Berlin GmbH (HMI), Glienicker Straße 100, 14109 Berlin

E-Mail: bertelsmann@hmi.de

The trace elements selenium and zinc are essential for mammals and indispensable for normal spermatogenesis. In the rat the testis is one of the organs which are preferentially supplied with selenium and zinc deficiency leads to abnormal development of the flagella of spermatozoa. In many mammals and several other vertebrate animal species the selenoprotein phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx) and the zinc-containing outer dense fiber (ODF) proteins are present in the mid-piece and in the flagella of spermatozoa, respectively. However, little is known about the significance of the trace elements for the male reproduction in the marsupial species. In the testis of the Tammar wallaby relative high concentrations of selenium and zinc were found. By means of two different antibodies and selenium analysis we identified PHGPx in this marsupial species. These findings assume that selenium and zinc are necessary for normal sperm development in the Tammar Wallaby.

Selensubstitution in der Kopf-Hals-Chirurgie

**Jens Büntzel (1,2), Oliver Micke (2), Klaus Kisters (2), Michael Glatzel (2),
Asadulla Garayev (1)**

(1) Klinik für HNO-Erkrankungen, Südharz-Krankenhaus Nordhausen,
Dr.-Robert-Koch-Straße 39, 99734 Nordhausen

(2) AK „Trace Elements and Electrolytes in Oncology“ (AKTE)
E-Mail: jens.buentzel@shk-ndh.de

Hintergrund:

Wir haben kürzlich über den positiven Einfluss einer Selenitgabe auf die Rückbildung eines interstitiellen Ödems im Kehlkopfeingangsbereich nach Strahlentherapie berichtet. Die aktuelle Untersuchung beschreibt die Effekte von Selenit auf das postoperative Ödem bei mittleren bis großen tumorchirurgischen Eingriffen in der Mundhöhle und dem Oropharynx.

Patienten und Methode:

Wir nahmen 25 Patienten (5 Frauen, 20 Männer) in die Untersuchung auf, die nach GCP-Grundsätzen durchgeführt wurde. Alle Patienten litten an einem Karzinom der Mundhöhle (n=10) bzw. des Oropharynx (n=15). Wir führten eine laserchirurgische Tumorresektion bei allen Patienten durch, bei 20/25 Patienten eine Neck Dissection. 10/20 dieser Patienten erhielten die Neck Dissection beidseits. Am Abend des OP-Tages messen wir die Mundöffnung (Ödem des Mundbodens) und den Halsumfang (Ödem der Weichteile). Nach dieser Messung erhalten die Patienten zweimal täglich 1.000 µg Natriumselenit, die Messungen wurden alle 24 Stunden wiederholt.

Ergebnisse:

Wir beobachteten eine signifikante Verbesserung der Mundöffnung ($p=0,03$) nach 24 Stunden, die Reduktion des Weichtelödems war nach 48 Stunden signifikant. Die normale perorale Ernährung erwies sich 24 h nach der Operation bereits wieder suffizient. Der positive Effekt der Supportivbehandlung mit Natriumselenit auf die postoperative Komorbidität wird in der Diskussion hervorgehoben.

Zusammenfassung:

Die präsentierten Daten (Phase II) zeigen ähnliche Effekte der Selenitgabe auf die Rückbildung des postoperativen Ödems im Rahmen der Onkochirurgie der Mundhöhle und des Rachens, wie wir sie bereits in der Therapie des posradiogenen Ödems des Kehlkopfeinganges gesehen haben. Größere Studien sind zur Überprüfung dieser Hypothese in Vorbereitung.

Untersuchung zur Korrelation zwischen Tumorgröße und Serumkonzentration der Spurenelemente Selen und Zink bei Kopf-Hals-Tumoren

Ute Knoll, Jens Büntzel

Klinik für HNO-Erkrankungen, Südharz-Krankenhaus Nordhausen,
Dr.-Robert-Koch-Straße 39, 99734 Nordhausen
E-Mail: jens.buentzel@shk-ndh.de

Hintergrund:

Daten aus der onkologischen Literatur deuten auf eine mögliche Bedeutung der Serumkonzentrationen von Zink und Selen als Tumormarker hin. Die dargestellte Studie soll zur Abklärung dieses Phänomens bei Kopf-Hals-Tumorpatienten beitragen.

Methode:

Seit Juni 2007 erhalten neuen Tumorpatienten der HNO-Klinik des Südharz-Krankenhauses Nordhausen präoperativ ein Kontrastmittel-MTR in definierter Schichtdicke von 3 mm, das eine dreidimensionale Darstellung des Primärtumors und eine exakte Tumorummetrie des Ausgangsbefundes für diese Patienten zulässt. Ein Tumorummen (Tumormast) von $> 25 \text{ cm}^3$ gilt bisher als prognostisch besonders ungünstig. Ebenfalls vor der primären Operation wird über eine Atomabsorptionsspektrometrie die Konzentration von Zink und Selen im Serum bestimmt. Mittels kommerzieller Kits werden die charakteristischen Tumormarker CYFRA 21-1 und SCC für jeden Patienten mitgeführt.

Kasuistiken:

Auf dem Poster wird die Methode exemplarisch für einen 58jährigen Patienten mit einem Oropharynxkarzinom T4 N2b M0 (Tumorummen 72 cm^3 , Zn-Serum $0,66 \text{ mg/l}$, Se-Serum $48 \mu\text{g/l}$, SCC $7,2 \text{ ng/ml}$, CYFRA 21-1 $2,3 \text{ ng/ml}$) das Verfahren der Tumorummetrie dargestellt. Im Vergleich mit den Bilder eines 64jährigen Patienten mit einem Gaumenbogenkarzinom T2 N0 M0 (Tumorummen 8 cm^3) werden die Grenzen der Methode der Tumorummetrie dargestellt und diskutiert.

Hypothese:

Eine Nutzung der Serumkonzentration von Selen und Zink als Tumormarker setzt eine Korrelation zwischen den veränderten Laborwerten und der individuellen Tumormast des Patienten voraus.

Simultaneous micro amount trace element analysis of blood and serum samples using total reflection X-ray fluorescence (TXRF) spectrometry

Armin Gross, Hagen Stosnach

Bruker AXS Microanalysis GmbH, Schwarzschildstr. 12, 12489 Berlin

E-mail: armin.gross@bruker-as.de

The determination of trace elements in blood samples and other clinical or biochemical materials like peptides or enzymes is an important analytical task. In blood and serum essential elements like Fe, Cr, Mn, Ni, Cu, Zn and Se must be controlled because a depletion of these elements leads to serious deficiency diseases. In terms of environmental and occupational medicine, a more prominent application is the analysis of toxic metals like Pb, As or Hg. The continuous monitoring of the Pt concentration in human blood is a crucial task during chemotherapy treatment of cancer patients.

At the same time, small discrete blood sample volumes containing a large proportion of organic molecules in a high salt matrix limit the practicality of such analyses. Typically, sample preparation for AAS or ICP-OES analysis requires time-consuming and hazardous acid digestion [1].

In TXRF analysis, a small volume (typically 5 to 10 μ l) of liquid-based samples is usually dried as a thin film on a quartz reflector and subsequently irradiated by monochromatized X-rays. Due to this principle, matrix effects are negligible in most cases. Thus, quantification can be performed by means of internal standardisation.

In this study, the feasibility and restrictions of blood analysis by means of TXRF spectroscopy without need for time-consuming preparation methods like acid digestion are reported. In addition, the monitoring of Pt concentrations in human blood during chemotherapy of cancer patients is described [2].

Literatur:

[1]: Prange, A. et al. (1989): Multi-element determination of trace elements in whole blood and serum by TXRF, *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 355; 914-918.

[2]: Greaves, E.D. et al. (2000): Determination of platinum in serum and urine samples from pediatric cancer patients by TXRF, *X-Ray Spectrometry*, 29; 349-353.

Antimon – Interferenz mit der zellulären Antwort auf DNA-Schädigung

Großkopf, C., Hartwig, A.

Institut für Lebensmitteltechnologie und Lebensmittelchemie, TU-Berlin
E-Mail: claudia.grosskopf@tu-berlin.de

Obwohl dreiwertiges Antimon schon lange als genotoxisch und kanzerogen eingestuft ist, sind die zugrunde liegenden Wirkmechanismen bislang noch unbekannt. Eine viel versprechende Hypothese basiert auf der Inhibierung von Proteinen der DNA-Reparatur. Wie bereits für andere Metalle gezeigt wurde, bieten sich insbesondere Zinkfingerdomänen als sensitive Zielstrukturen an [1].

Um diesen Ansatz experimentell zu überprüfen, untersuchten wir den Einfluss von SbCl_3 auf ein synthetisches Peptid, das der Zinkfingerdomäne von Xeroderma Pigmentosum Gruppe A Protein (XPA) entspricht, und konnten eine konzentrationsabhängige Zinkfreisetzung messen. Da XPA an der Reparatur großräumiger und helixverzerrender DNA-Schäden beteiligt ist [2], konzentrierten wir uns im Folgenden auf Kombinationsstudien mit UVC-Strahlung, die solche Läsionen induziert. Zellzyklusanalysen in einer menschlichen Lungenkarzinomzelllinie ergaben, dass Sb(III) den S-Phase-Arrest nach UVC-Bestrahlung wesentlich verlängert und verstärkt. Des Weiteren zeigten immunofluorimetrische Messungen der Cyclobutan-Pyrimidindimere, den Hauptläsionen nach UVC-Bestrahlung, dass ihre Reparatur durch Antimon deutlich verringert wird.

Zusammenfassend lassen diese Ergebnisse auf einen Eingriff von dreiwertigem Antimon in die Zellantwort auf DNA-Schädigung nach UVC-Strahlung schließen. Ob dies auf eine Inaktivierung von XPA zurückzuführen ist oder ob andere molekulare Mechanismen zugrunde liegen, ist Gegenstand weiterer Untersuchungen.

[1] Hartwig, A., *Antioxidants & Redox Signaling*, Vol. 3, pp. 625-634

[2] Miyamoto, I., Miura, N., Niwa, H., Miyazaki, J., Tanaka, K., *The Journal of biological Chemistry*, Vol. 267, pp. 12182-12187

Einfluss von Selen auf die Zellzykluskontrolle

Klaus, V., Hartwig, A.

Technische Universität Berlin, Gustav-Meyer-Allee 25, 13355 Berlin
E-Mail: viola.klaus@tu-berlin.de

Selenhaltige Nahrungsergänzungsmittel werden mit einer antioxidativen und postulierten krebopräventiven Wirkung in Zusammenhang gebracht. Für das häufig eingesetzte Natriumselenit als reduzierbare Selenverbindung sind allerdings auch Einflüsse auf oxidierbare Proteinstrukturen denkbar. So zeigten vorangegangene Untersuchungen, dass Thiolgruppen der isolierten Zinkfingerproteine Fpg und XPA sensitiv auf Oxidation und somit Zinkfreisetzung durch reduzierbare Selenverbindungen reagieren [1]. Im Rahmen dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass reduzierbare Selenverbindungen in einem subzellulären Testsystem die Zinkkomplexierende DNA-Bindungsdomäne des Tumorsuppressorproteins p53 entfalten. Die Ausbildung der sogenannten „mutanten“ Konformation führt zur Inaktivierung des Transkriptionsfaktors p53, welcher Gene reguliert, die an DNA-Reparatur, Zellzykluskontrolle und Apoptose beteiligt sind. Daraufhin wurde in p53-profizienten und -defizienten HCT116 Zellen der Einfluss von Selen auf die Funktionsfähigkeit von p53 in Zellzyklusprozessen untersucht. Es zeigte sich, dass die Zytotoxizität von Natriumselenit im Gegensatz zu der von Selenomethionin p53-abhängig ist. Weiterhin wurden abhängig vom p53-Status unterschiedliche Zellzyklusarreste induziert. Während die p53-profizienten Zellen nach 24 h Natriumselenit-Inkubation ab 3 μM in einen G1-Arrest gingen, arretierten die defizienten Zellen erst ab 8 μM in der S-Phase. In einem weiteren Test wurde der Einfluss der Selenverbindungen auf die Zellzykluskontrolle betrachtet. Natriumselenit bewirkte keine Veränderung im p53-abhängigen G1-Arrest nach Inkubation mit Actinomycin D. Zudem wurde die Expression der p53-abhängigen Downstream-Gene *p21*, *XPA* und *p48* durch Natriumselenit gesteigert. Insgesamt blieben die p53-abhängige Induktion von Zellzyklusarresten, die Zellzykluskontrolle und die Funktion von p53 als Transkriptionsfaktor auch in vergleichsweise hohen Konzentrationen von Natriumselenit erhalten. Die Inaktivierung von p53, die im subzellulären System beobachtet wurde, scheint daher im zellulären System nicht relevant zu sein.

[1] Blessing, H., Kraus, S., Heindl, P., Bal, W., Hartwig, A. (2004) Eur. J. Biochem. 271: 3190-9

Induktion der Lymphangiogenese mit VEGF durch Stimulation mit Natriumselenitgaben- eine alternative Therapie des sekundären Lymphödems

Dr. med. dent. Henry Leonhardt

Klinik und Poliklinik für Mund-,Kiefer- und Gesichtschirurgie,
Universitätsklinikum der Technischen Universität Dresden, Fetscherstraße 74, 01309 Dresden
E-Mail: henry.leonhardt@uniklinikum-dresden.de

In dieser Arbeit soll der komplexe Mechanismus dargestellt werden, welcher der Behandlung des postoperativen chronischen Lymphödems mit Natriumselenitgaben zugrunde liegt. Hauptaugenmerk lag auf der Erforschung der Regulation von NF- κ B und der konsekutiven Expression der lymphangiogenetischen Zytokine VEGF und IL-8.

In einer prospektiven, randomisierten und doppelblinden Untersuchung wurde die NF- κ B-Bindungsaktivität sowie die VEGF- und IL-8 Serumkonzentrationen in Abhängigkeit von Natriumselenit- und Placebogaben erforscht.

In der Behandlungsgruppe mit Natriumselenit wurden höhere VEGF- und IL-8- Konzentrationen im Serum gefunden. Die Bindungsaktivität von NF- κ B war unter Natriumselenitapplikation um 40% erhöht.

Die erhöhte Bindungsaktivität von NF- κ B induziert die Lymphangiogenese, indem die Expression von lymphangiogenetischen Zytokinen wie VEGF und IL-8 verstärkt wird. Die verstärkte Lymphangiogenese führt zu einer Reduktion des postoperativen chronischen Lymphödems, indem über die erhöhte Anzahl an Lymphgefäßen mehr interstitielle Flüssigkeit abgeführt werden kann und damit die Grundlage für die Pathomechanismen des Lymphödems entzogen wird. Zusätzlich unterstützt die starke antioxidative Wirkung der Selenoenzyme die Reduktion von Entzündung und Zellschäden im Lymphödem.

Da auch die Metastasierung von soliden Tumoren über eine verstärkte Lymphangiogenese induziert werden kann, ist diese Therapie ausschließlich für Patienten nach R0 Tumorresektionen geeignet. Unter dieser Bedingung ist die Applikation von Natriumselenit zur Behandlung des postoperativen chronischen Lymphödems eine einfache, sichere und preiswerte Therapie.

Influence of red cell transfusion on whole blood selenium concentration in children with hemato-oncological diseases

Mackenroth J¹, Siegert G², Kuhlisch E³, Hölig K⁴, Suttorp M¹

¹ Div. of Pediatric Hematology and Oncology; ² Institute of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine; ³ Institute of Medical Informatics and Biometry; ⁴ Div. of Transfusion Medicine, University Hospital Carl Gustav Carus, Technical University of Dresden, Germany

Background: In humans, blood contains the major part of total body selenium (Se); this trace element is approximately evenly distributed among plasma and red cells. Its important role in antioxidative biological processes is proven. Especially in clinical oncology Se - as a complementary remedy - seems to minimize side effects of antineoplastic treatment (e.g. radiation induced mucositis, A Gehrisch et al, 2007). In addition, adult patients (pts) suffering from cancer (lung, prostate, breast) exhibited lower Se blood concentrations than healthy controls (CD Thomson, 2004). Therefore in alternative medicine, daily intake of Se is recommended to prevent cancer. Also many parents ask for Se supplementation in their children during treatment of pediatric malignancies. However, toxic Se levels can easily be achieved especially in young children. In order to analyse whether Se is also supplied by frequently necessary red cell transfusions (RCT), we determined Se concentration in whole blood prior and after packed RCT in pediatric pts with hemato-oncological diseases.

Methods: EDTA blood was taken from 14 pts (age median: 2.5 yrs, range 1 mo-17 yrs) with aplastic anaemia (n=2), acute leukemias (ALL: n=3; AML: n=4) and solid tumors (sarcoma n=2, neuroblastoma n=2, hepatoblastoma n=1) prior and after packed RCT (n=45). Pts received a median of 3 transfusions (range:1 – 13). Samples were also collected from the blood bags and from 10 healthy adult controls. Se was determined quantitatively by atomic absorption spectrometry.

Results: In all controls and 95% of the samples from the blood transfusion bags Se-concentrations were within the normal adult range (74-139 µg/L). The mean Se concentration in the patients prior to packed RCT was 66.2 µg/L (range: 37.6 – 166.4 µg/l) and increased to 70.7 µg/L (range: 14.1 – 105.1 µg/l) thereafter (statistically not significant). Applying age dependant reference values Se concentrations were below the lower limit in 59% of the samples prior to RCT and only in 29% after RCT. The reason for this sharp percental increase was the fact that Se concentrations were often just marginally below the age-dependant lower limit prior to RCT and in the normal range thereafter.

Conclusions: Six out of 14 (43 %) pediatric pts with hemato-oncological diseases in this survey never had a Se deficiency at any point of analysis. At single time point six of the remaining eight pts exhibited a transient Se deficiency with values far below the lower age related limit. The deficiency was corrected in 6 out of 8 pts by RCT. However, as Se values may fluctuate in individual pts a supplementation should only be initiated if based on regular monitoring of the Se concentration.

Identification of trace-element bound proteins of rat prostate by laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry after gel electrophoresis under native and denaturing conditions

Alexei Plotnikov, Jürgen Bartel, Antonios Kyriakopoulos
Hahn-Meitner-Institut Berlin, Glienicker Str. 100, 14109 Berlin
E-Mail: plotnikov@hmi.de

Trace-element bound proteins amounting about 30% of all known ones play an essential but still insufficiently investigated role in living bodies. Even the separation and identification of such proteins is a challenge for modern bioanalytical chemistry due to the conformational changes during the separation and following loss of specifically bound ions. This concerns also gel electrophoresis which is widely used as a very powerful technique for protein separation. The elucidation of the stability of bindings between proteins and trace elements under different conditions during the electrophoresis requires also a very sensitive element-specific detection method. Combining an outstanding detection power with spatially resolved direct sampling laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry (LA-ICP-MS) is well suited for this purpose.

A comparative study of the trace-element bound proteins of rat prostate separated by gel electrophoresis both under native and denaturing conditions was carried out using scanning LA-ICP-MS. The obtained results are discussed in details.

Acute-Phase Regulation of Selenoprotein S

M. Stoedter, K. Renko, J. Köhrle and L. Schomburg

Institute for Experimental Endocrinology, Charité – Universitätsmedizin,
Chariteplatz 1, 10117 Berlin
lutz.schomburg@charite.de

Selenoproteins contain the 21st proteinogenic amino acid selenocysteine (Sec), which is co-translationally incorporated into nascent polypeptide chains in response to UGA codons and additional transcript-specific signals. Transacting factors, including the Sec-tRNA, Sec-specific elongation factor (EFSec), selenophosphate synthetase 2 (SPS2), Sec synthase (SecS), and a SECIS-binding protein (SBP2) represent additional essential components for efficient selenoprotein biosynthesis and Sec insertion. Selenoprotein S (SelS) is an only recently described selenoprotein, which is thought to be implicated in type 2 diabetes and inflammation. In-vitro studies have shown that SelS expression is controlled by circulating cytokine and glucose levels. From a functional point of view, SelS participates in the retro-translocation that is an essential part of quality control in the ER and the ERAD (ER-associated degradation) pathway. ERAD is needed for the clearance of misfolded proteins within the cell that are produced mainly by ROS and oxidative stress.

In an attempt to define the regulation of SelS in vivo, we have injected male and female mice with lipopolysaccharid (LPS) to induce an acute phase response (APR). By Western blot analysis, SelS turned out to be expressed ubiquitously. Strong signals for SelS were obtained from liver, intestinal tract, spleen, muscle, heart, lung, testis and brain. During the APR, we have observed a tissue- and gender-specific regulation of SelS expression. Sexual dimorphic regulation was especially prominent in white adipose tissue (WAT) and the reproductive organs. These findings are in line with the sex-specific effects of Se as reported from clinical supplementation studies. The biological significance of these findings needs to be explored in future experiments, which are currently under way and focus onto the impact of the interaction of SelS expression and the immunological response towards acute phase stimuli.

Funded by grants from the Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG) and Deutsche Krebshilfe.

Inhibition of DNA repair pathways by arsenicals: molecular aspects of arsenic induced carcinogenicity.

¹T. Schwerdtle, ¹F. Ebert, ¹M. Nollen, ¹I. Hamann, ¹I. Walter, ²W. Bal, ³L.H.F. Mullenders and ¹A. Hartwig

¹Institute of Food Technology and Food Chemistry, Technical University Berlin, Germany

²Institute of Biochemistry and Biophysics, Polish Academy of Sciences, Warsaw, Poland

³Department of Toxicogenetics, Leiden University Medical Center, The Netherlands

E-Mail: anja.schwerdtle@tu-berlin.de

Inhibition of different DNA repair processes appears to be one important mechanism of arsenic induced carcinogenicity. With respect to nucleotide excision repair (NER), which is involved in the removal of DNA lesions induced by environmental mutagens, our data demonstrate a strong repair inhibition of BPDE-induced bulky lesions in human cells especially by trivalent arsenicals at environmentally relevant concentrations. As one potential molecular target for the observed repair inhibition, the damage recognition NER protein XPA was identified. Studies on a synthesized 37 amino acid peptide, representing the XPA zinc finger structure, showed that arsenite oxidizes the structure and monomethylarsonous acid (MMA(III)) efficiently binds covalently to the cysteines. The impact of the arsenicals on the assembly of NER factors at damaged sites in human fibroblasts was investigated by a local UVC-irradiation assay. Non-cytotoxic concentrations of arsenite and MMA(III) decreased the association of XPA at local damage sites. Further investigations demonstrated also a decreased association of the NER protein XPC in the presence of arsenic, as well as a diminished delocalisation of NER factors during later repair. With respect to base excision repair (BER) arsenic additionally strongly inhibited repair of visible light induced oxidative DNA damage in cultured human lung cells, which may partly be due to inhibition of the zinc finger repair protein PARP-1.

In summary our data demonstrate that arsenic strongly inhibits two important DNA repair pathways, responsible for the removal of DNA lesions induced by endogenous processes and environmental mutagens. Comparing arsenite and its metabolite MMA(III), in all test systems applied MMA(III) showed stronger or additional effects at lower concentrations as compared to arsenite. Thus biomethylation of arsenite increases arsenic induced genotoxicity and consequently presumably carcinogenicity.

Einfluss einer steigenden Jod-Konzentration im Futter in Form von Kaliumjodid oder Kaliumjodat auf die Schlacht- und Mastleistung sowie die Jod-Konzentration in Muskel- und Lebergewebe beim Mastschwein

V.Wagner¹, W.Windisch¹, S.Swoboda², T. Etle¹

¹Universität für Bodenkultur Wien, Department für Lebensmittelwissenschaften und -technologie, Abteilung Tierische Lebensmittel, Tierernährung und Ernährungsphysiologie, Gregor Mendel Straße 33, A-1180 Wien

²Universität für Bodenkultur Wien, Department für Wald- und Bodenwissenschaften, Institut für Bodenforschung, Peter Jordan-Str. 82, A-1190 Wien
E-Mail: victoria.wagner@boku.ac.at

In der vorliegenden Studie wurde an 60 Mastschweinen mit einem mittleren Anfangsgewicht von 36,1 kg ($\pm 4,9$) der Einfluss unterschiedlicher Jod-Zulagen (400 oder 4000 $\mu\text{g}/\text{kg}$) zum Futter in Form von Kaliumjodid oder Kaliumjodat auf Parameter der Mast- und Schlachtleistung, sowie die Konzentration an Jod in Muskel- und Lebergewebe untersucht. Die 60 Tiere wurden gleichmäßig auf 4 Versuchsgruppen aufgeteilt und bei einem Gewicht von 112,4 kg ($\pm 4,5$) unter standardisierten Bedingungen geschlachtet.

Durch die Zulage von 4000 μg Jod/kg wurden der Futteraufwand ($p < 0,01$) und die Futteraufnahme ($p < 0,01$) im Vergleich zur Zulage von 400 μg Jod/kg deutlich ($p < 0,01$) erhöht, was auf einen leistungsmindernden Effekt bereits bei relativ niedrigen Jodzulagen hindeutet.

In Hinblick auf verschiedene Schlachtleistungsparameter (z.B. Fleischfettverhältnis, Rückenspeckdichte, Schlachtverluste) konnten keine Unterschiede in Abhängigkeit von der Zulagehöhe an Jod bzw. der Jodquelle festgestellt werden.

Beim Vergleich der beiden Zulagehöhen (400 und 4000 μg Jod/kg) lassen sich dosisabhängige Steigerungen der Jod-Konzentration sowohl im Muskel als auch in der Leber beobachten. Durch die hohen Zulagestufen (4000 μg Jod/kg) waren die Gehalte an Jod im Muskel und in der Leber im Vergleich zu den Zulagestufen von 400 μg Jod/kg signifikant erhöht (24,8 vs 46,5 μg Jod/kg T; 117,7 vs 330,8 μg Jod/kg T; $p < 0,0001$). Obwohl die Jodgehalte im Muskel höher als in vergleichbaren Studien von FRANKE et al. (2006) und SCHÖNE et al. (2006) liegen, bestätigen vorliegende Ergebnisse Angaben der EFSA (2005), nach denen Schweinefleisch im Vergleich zu anderen Lebensmitteln, wie Milch und Eiern oder speziellen Nahrungsmitteln, wie Algen und Meeresfischen nur einen geringfügigen Beitrag zur Gesamtjodversorgung beim Menschen hat.

Zwischen den Zulagen an Jod in Form von Kaliumjodid und Kaliumjodat gab es betreffend der Jod-Konzentration in Muskel- und Lebergewebe, wie auch bei der Mast- und Schlachtleistung, nur geringfügige Unterschiede.

Literatur:

EFSA (2005): Opinion of the Scientific Panel on Additives and Products of Substances used in Animal Feed on the request from the Commission on the use of iodine in feedingstuffs. The EFSA Journal 168: 1-42.

Franke, K.; Berk, A.; Leiterer, M.; Schöne, F. (2006): Einfluss einer gestaffelten Jodversorgung auf den Jodstatus von Schweinen. Proc. 9. Tagung Schweine- und Geflügelernährung, 28.-30.11.2006, Halle, 173-175.

Schöne, F.; Zimmermann, Chr.; Quanz, G.; Richter, G.; Leiterer, M. (2006): A high dietary iodine increases thyroid iodine stores and iodine concentration in blood serum but has little effect on muscle iodine content in pigs. Meat Science 72: 365-372.