

Available online at [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)

ScienceDirect

[www.elsevier.com/locate/pisc](http://www.elsevier.com/locate/pisc)

## EXTENDED ABSTRACT

# Zur Spurenelementbestimmung aus getrockneten Bioproben



Evgeniia Bakaeva<sup>a,b</sup>, Kostja Renko<sup>a</sup>, Sandra Müller<sup>a</sup>,  
Lutz Schomburg<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup>Institut für Experimentelle Endokrinologie, Charité - Universitätsmedizin, D - 13353-Berlin

<sup>b</sup>Staatliche Demidov-Universität, R-150000-Jaroslavl, Russia

Received 30 July 2014; accepted 31 August 2014

Available online 4 December 2014

Spurenelemente und Hormone können in kleinen Mengen eine große biologische Wirkung ausüben. Ein Mangel oder Überschuss kann zu schweren Symptomen führen, deshalb ist die analytische Bestimmung des Spurenelementstatus eine wichtige medizinische Aufgabe. Besonders in unseren Bereichen sind in dieser Hinsicht die Spurenelemente Jod, Eisen und Selen von besonderer Bedeutung, gerade bei inflammatorischen Erkrankungen (Stoedter et al., 2010; Renko et al., 2009; Weiss, 2009) und für die Funktion der Schilddrüse und den Metabolismus der Schilddrüsenhormone (Zimmermann and Köhrle, 2002; Schomburg, 2011). Getrocknete Blutstropfen (Dried Blood Spots, DBS) werden seit den frühen sechziger Jahren nicht nur zur Diagnostik von Stoffwechselerkrankungen bei Neugeborenen verwendet (Shlosberg et al., 2011). Um die belastende Blutabnahme zu vermeiden, wurden in den letzten Jahren auch anderer Biomatrizes genutzt, wie z.B. getrocknete Urintropfen (dried urine spots, DUS) (Sughis et al., 2012).

In diesem Projekt entwickeln und optimieren wir analytische Methoden, um aus getrockneten Bioproben eine reproduzierbare Bestimmung von Spurenelementen und anderen Biomarkern durchzuführen. Ein großer Vorteil stellt die günstige Durchführung und die Möglichkeit der Lagerung der DBS und DUS bei Raumtemperatur dar, welches den Transport zum

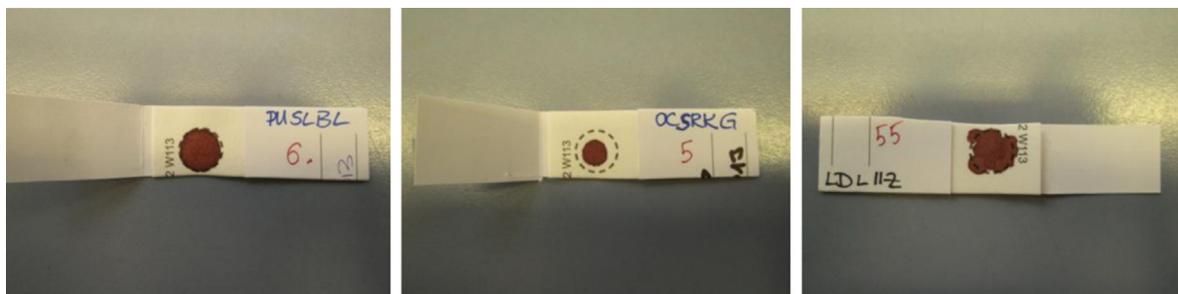
analytischen Labor vereinfacht und reproduzierbar und kostengünstig macht. Als zentrale Komponenten solcher Analysen sind die Filterkarten anzusehen, da deren Qualität und Beschaffenheit die Güte der Ergebnisse entscheidend beeinflusst. Deshalb wurden zwei kommerzielle Filterkarten, ein Zellulose-basiertes und ein Zellulose-freies Material, mit verschiedenen Matrices (Vollblut, Plasma und Serum) miteinander verglichen. Als Elementaranalyseverfahren wurde die Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse (TRFA) gewählt. Für die Jodmessungen haben wir die Sandell-Kolthoff-Reaktion optimiert, bei der durch die Zugabe von Chrom- und Arsen-Puffern eine Farbreaktion erfolgt und im Plattenphotometer quantitativ vermessen wird. Für die Bestimmung von Selenoprotein P (SePP) wurde ein immunoluminometrischer Assay genutzt (Hollenbach et al., 2008). Generell gilt sowohl für DBS als auch für DUS das die Präparate sachgerecht erstellt werden müssen, um reproduzierbare Ergebnisse liefern zu können. Hier ist im Besonderen auf eine gleichmäßige, einmalige vollständige Durchtränkung des Filterpapiers zu achten, denn die für die Analyse notwendige Präparation einer kreisrunden Stanze kann nur dann ein repräsentatives Aliquot darstellen, wenn das zugrunde liegende Präparat auch lege artis angefertigt wurde (Figure 1).

Für die Extraktion der Spurenelemente wurden drei Puffer verglichen, die Tween, Triton X-100, oder HNO<sub>3</sub> + Triton X-100 enthielten. Unsere Pilotstudien zeigen, dass die Wahl der richtigen Membran einen großen Einfluss auf die Wiederfindungsrate der Spurenelemente hat, und sich unter optimalen Bedingungen bis zu 90% des in der Probe

\*Dieser Beitrag gehört zum Sonderheft "Den Elementen auf der Spur - Diagnostik und medizinische Bedeutung der Spurenelemente".

\*Corresponding author.

E-mail address: [lutz.schomburg@charite.de](mailto:lutz.schomburg@charite.de) (L. Schomburg).



**Figure 1** Beispiel einer sachgemäßen (links) und unsachgemäßer (mitte und rechts) Präparation von Dried Blood Spots (DBS). Die DBS Analyse beruht auf einer guten Qualität der zu untersuchenden Blutproben. Hierzu muss die DBS-Membran einmalig und gleichmäßig durchgehend von einem Blutstropfen durchtränkt werden, um in der Analyse repräsentative Ergebnisse liefern zu können. Eine zu geringe Probenmenge (mitte) oder ein Präparat, auf das offenbar mehrfach getropft wurde (rechts), eignen sich nicht für die Analyse.

enthaltenen Selens und Kupfers durch TRFA sicher wiederfinden lassen. DUS wurden von Probanden vor und nach Jodeinnahme angelegt und analog vermessen. Von den DUS Proben konnten ca. 50-80% des physiologisch vorliegenden Jods aus dem normalen Urin und ca. 90-100% des Jods aus dem Urin nach der supplementierenden Jodeinnahme eluiert werden. Schließlich wurde versucht, SePP als Biomarker des Se-Status aus den Filterkarten nach Rekonstitution der Probe zu bestimmen; hier konnten trotz intensiver Bemühungen und ausgiebiger Variation der Eluierungsparameter nur 11-34% des SePP wiedergefunden werden.

Diese Ergebnisse zeigen, dass getrocknete Bioproben (Blut, Urin) gut geeignet sind, um Daten zu einzelnen Spurenelementen zu erhalten. Proteine als Biomarker scheinen generell deutlich schwieriger zu erfassen als die entsprechenden Elemente. Der Vergleich verschiedener Filterkarten zeigt starke Unterschiede in deren Eignung für diese Zwecke. Eine intensive präanalytische Charakterisierung der Matrix, der Karten und der zugehörigen Extraktionsmethode ist nötig, um ein zuverlässiges Protokoll zu entwickeln und solche Analysen zuverlässig durchzuführen.

Finanziell gefördert durch die DFG (GraKo1208, SPP1629) und das German-Russian Interdisciplinary Science Center (G-RISC).

## Conflict of interest

Die Autoren erklären, dass kein Conflict of Interest besteht.

## References

- Hollenbach, B., Morgenthaler, N.G., Struck, J., Alonso, C., Bergmann, A., Köhrle, J., Schomburg, L., 2008. New assay for the measurement of selenoprotein P as a sepsis biomarker from serum. *J Trace Elem Med Biol* 22, 24-32.
- Renko, K., Hofmann, P.J., Stoedter, M., Hollenbach, B., Behrends, T., Köhrle, J., Schweizer, U., Schomburg, L., 2009. Down-regulation of the hepatic selenoprotein biosynthesis machinery impairs selenium metabolism during the acute phase response in mice. *Faseb J* 23, 1758-1765.
- Schomburg, L., 2011. Selenium, selenoproteins and the thyroid gland: interactions in health and disease. *Nat Rev Endocrinol* 8, 160-171.
- Shlosberg, A., Rumberiha, W.K., Lublin, A., Kannan, K., 2011. A database of avian blood spot examinations for exposure of wild birds to environmental toxicants: the DABSE biomonitoring project. *Journal of environmental monitoring: JEM* 13, 1547-1558.
- Stoedter, M., Renko, K., Hog, A., Schomburg, L., 2010. Selenium controls the sex-specific immune response and selenoprotein expression during the acute-phase response in mice. *Biochem J* 429, 43-51.
- Sughis, M., Nawrot, T.S., Hauroid, V., Nemery, B., 2012. Adverse health effects of child labor: high exposure to chromium and oxidative DNA damage in children manufacturing surgical instruments. *Environmental health perspectives* 120, 1469-1474.
- Weiss, G., 2009. Iron metabolism in the anemia of chronic disease. *Biochim Biophys Acta* 1790, 682-693.
- Zimmermann, M.B., Köhrle, J., 2002. The impact of iron and selenium deficiencies on iodine and thyroid metabolism: biochemistry and relevance to public health. *Thyroid* 12, 867-878.