

Die schnelle und effiziente analytische Bestimmung von
Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelementen im
Blutplasma von Patienten mit unterschiedlichen
Erkrankungen und der statistische Vergleich mit einer
Kontrollgruppe

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades doctor rerum naturalium
(Dr. rer. nat.)

vorgelegt vor dem Rat der Chemisch-Geowissenschaftlichen Fakultät der
Friedrich-Schiller-Universität Jena

von Sibylle Streck
geboren am 21.11.1962 in Aschersleben

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	4
1. Einführung.....	6
1.1. Bedeutung der Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelemente für den menschlichen Organismus.....	6
1.2. Ziel der vorliegenden Untersuchungen	7
1.3. Analysenmethoden für die Bestimmung von Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelementen in biologischen Flüssigkeiten	8
2. Material und Methoden.....	11
2.1. Untersuchungsmaterial und Probennahme.....	11
2.2. Routinebestimmungsmethoden für Metallionen im klinisch chemischen Labor.....	12
2.2.1. Bestimmung der Mengen-, Spuren-, und Ultraspurenelemente mit der Atomabsorptionsspektrometrie.....	12
2.2.2. Bestimmung einiger Mengenelemente mit der ionenselektiven Potentiometrie (ISE)	14
2.3. Die Methode der ICP-MS.....	14
2.4. Statistikprogramm „Statistika“ und die verwendeten statistischen Größen.....	18
3. Experimenteller Teil – Methodenentwicklung für die ICP-MS.....	24
3.1. Auswahl eines geeigneten Gefäßmaterials.....	24
3.2. Optimierung der Probenverdünnung.....	24
3.3. Auswahl des internen Standards	26
3.4. Optimierung von Mess- und Spülzeiten	27
3.5. Kalibration	29
3.6. Störungen und mögliche Korrekturen	32
3.7. Zusammenstellung der verwendeten Analysenparameter für die ICP-MS	37

4. Ergebnisse	38
4.1. Vergleich der verwendeten Analysemethoden AAS, ISE, ICP-MS	38
4.1.1. Nachweisgrenzen im Vergleich zu Referenzwerten im Blutplasma	38
4.1.2. Serielle Präzision.....	39
4.1.3. Tag-zu-Tag-Präzision.....	39
4.1.4. Richtigkeit.....	41
4.1.5. Analysenzeit	43
4.1.6. Analysenkosten	44
4.1.7. Probenverbrauch.....	45
4.1.8. Mittelwerte und Standardabweichungen für die untersuchten Mengen-, Spuren- und Ultrapurenelemente im Blutplasma der 4 Probandengruppen.....	46
4.2. Signifikante Unterschiede beim Vergleich der Gruppen untereinander..	52
4.3. Korrelation der Elemente untereinander	54
4.4. Alters- und Geschlechtsabhängigkeiten der Elementkonzentrationen...	57
4.5. Klassifikationsanalyse (Gibt es sogenannte Patientenklassen?)	59
4.6. Vergleich der Ergebnisse mit anderen Studien	66
5. Schlussfolgerungen für den Mengen-, Spuren- und Ultrapurenelement- haushalt bei Dialyse-, Kardiologie- und Schizophreniepatienten	68
5.1. Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz.....	68
5.2. Patienten mit einer kardiologischen Erkrankung.....	80
5.3. Patienten mit einer Schizophrenie	82
5.4. Allgemeine Schlussfolgerungen.....	83
6. Zusammenfassung	83
7. Literaturverzeichnis	88
Danksagung	95
Lebenslauf	96
Selbstständigkeitserklärung	97

Abkürzungsverzeichnis

AAS	Atomabsorptionsspektrometrie
Add1	1. Additionsstandard
b	Steigung der Kalibriergeraden
Blanc	Blindwert
deion.	deionisiert
f	Anzahl der Freiheitsgrade
ICP	induktiv gekoppeltes Plasma
IEEE	Schnittstelle zu Verbindung des Elan6000 mit dem Computer
ISE	Ionenselektive Elektrode
m	Anzahl der Messungen an der Analysenprobe
MS	Massenspektrometrie
n	Anzahl der Messungen oder Probanden
NAA	Neutronenaktivierungsanalyse
NWG	Nachweisgrenze
OES	optische Emissionsspektrometrie
p	Signifikanzniveau
Q_x	Summe der Abweichungsquadrate von x bei der Kalibrierung
r	Korrelationskoeffizient
R	Richtigkeit
RF Power	Hochfrequenzleistung
Rh-IS	Rhodium als interner Standard
RSD	Relative Standardabweichung
s	Standardabweichung
s_L	Standardabweichung der Leerwertmessung
s_p	Standardabweichung der Präzision
s_{x0}	Verfahrensstandardabweichung bei der Kalibration

Std	Standard
$t_{f,\alpha}$	Quantil der t-Verteilung
x_i	Messwert
x_m	Mittelwert
x_m^2	Quadrat des arithmetischen Mittels
x_{NG}	Nachweisgrenze
x_w	wahrer Wert von x

1. Einführung

1.1. Bedeutung der Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelemente für den menschlichen Organismus

Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelemente sind wichtige Bestandteile des menschlichen Organismus. Ohne diese ist ein Leben nicht möglich, da sie eine Vielzahl lebenswichtiger Funktionen und Reaktionen bedingen. Mineralstoffe und Spurenelemente sind am Aufbau lebensnotwendiger Enzyme, Hormone und Proteine beteiligt. Sie spielen eine wichtige Rolle für Knochen- und Zellaufbau sowie für ein funktionstüchtiges Immunsystem.

Als Mengenelemente oder auch Elektrolyte werden die Elemente bezeichnet, deren prozentualer Anteil an der Körpermasse beim gesunden Erwachsenen größer als 0,1% beträgt und die in Körperflüssigkeiten in Konzentrationsbereichen von mmol/l vorliegen. Dazu gehören neben lebenswichtigen Nichtmetallen die Metallionen von Natrium, Kalium und Calcium (Brätter, 1992). In die Gruppe der Elektrolyte wird auch das in etwas geringerer Konzentration vorliegende Element Magnesium einbezogen.

Die Spurenelemente haben in Körperflüssigkeiten Konzentrationsbereiche von $\mu\text{mol/l}$ (Fe, Cu, Zn, I, Rb, Se, Si).

Die Konzentration der Ultraspurenelemente ist noch niedriger (nmol/l, pmol/l). Aufgrund der niedrigen Gehalte im Vergleich zu den Nachweisgrenzen der gebräuchlichen Analysemethoden ist ein Mangel bei diesen Elementen (Al, Mn, Ni, Co, Cr, Cs, Sn) schwierig nachzuweisen.

Die 18 Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelemente Ca, Co, Cu, Cr, F, Fe, I, K, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, Se, Si, Sn, V, Zn sind derzeit als essentiell für den menschlichen Organismus bekannt. Eine unzureichende Versorgung mit diesen Elementen kann zu Mangelkrankungen führen. In hohen Dosen können sie jedoch auch toxisch wirken.

Essentielle Elemente lassen sich durch folgende Hauptmerkmale beschreiben:

Das Element sollte im gesunden Gewebe aller Lebewesen vorkommen, wobei die Konzentration von Individuum zu Individuum nahezu gleich ist (Normalbereich).

Ein Entzug bewirkt für die Individuen die gleichen physiologischen und morphologischen Abnormitäten, die bei normaler Versorgung nicht auftreten. Bei Supplementation sind diese Veränderungen reversibel.

Die durch Entzug oder Mangel auftretenden Abnormitäten sind von spezifischen biochemischen Veränderungen begleitet, die sich bei normaler Ernährung oder Supplementation normalisieren.

Neben den genannten und zum großen Teil gut untersuchten Elementen gibt es Spurenelemente, deren Essentialität vermutet, aber noch nicht nachgewiesen wurde.

So z.B. für die Elemente Rubidium und Cäsium. Diese sind weitverbreitet in der Natur und Bestandteil aller biologischer Flüssigkeiten und Gewebe. Rb und Cs übernehmen

ähnliche Funktionen in der Zelle wie Natrium und Kalium (Krachler, 1999). Obwohl ihr Gehalt im Plasma höher als der gut untersuchter Ultraspurenelemente wie z.B. Co, Cr, Mn und Ni beträgt, wird ihnen kaum Aufmerksamkeit geschenkt.

Es ist wünschenswert, mit einer Mehrelementmethode wie der ICP-MS, neben den als essentiell bekannten Elementen auch die „vergessenen“ Elemente (Krachler, 1998) Rb und Cs sowie deren Rolle in der Gesamtheit der Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelemente im Organismus zu untersuchen.

1.2. Ziel der vorliegenden Untersuchungen

In der medizinischen Diagnostik werden besondere Anforderungen an die verwendeten Analysenverfahren gestellt. Wesentliche Kriterien für die Einsatzfähigkeit eines Verfahrens sind dabei Reproduzierbarkeit, Standardisierbarkeit, Personal-, Material- und Zeitaufwand sowie Probenbedarf. Verfahren mit einem hohen Automatisierungsgrad, die kostengünstig und schnell mit wenig Probenmaterial eine Vielzahl von analytischen Informationen liefern, werden zunehmend eingesetzt. Erwünscht ist außerdem die Einordnung der Analysensysteme in zeitgemäße Konzepte der Laborautomatisation und Labororganisation. Die Anforderungen an Richtigkeit und Präzision werden dabei zur damit erzielbaren diagnostischen Wertigkeit des jeweiligen Ergebnisses in Beziehung gesetzt und ggf. relativiert.

Die Bestimmung der meisten Spuren- und Ultraspurenelemente lässt sich derzeit nicht mit gebräuchlichen klinisch-chemischen Automaten realisieren. Für diese Untersuchungen ist die Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) die Methode der Wahl. Diese Einelementmethode ist bei der Untersuchung vieler Elemente sehr zeit- und materialaufwendig.

Das begrenzte Volumen an Untersuchungsmaterial (oft nur 2-3 ml Plasma oder Serum) lässt nur eine geringe Anzahl von Untersuchungen zu. Einige Elemente (Cs, I) lassen sich nur schwer oder gar nicht mit der Atomabsorptionsspektrometrie bestimmen.

Erstes Ziel war daher die Etablierung der ICP-MS als Methode zur Messung von 18 ausgewählten Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelementen (Aluminium, Calcium, Cäsium, Chrom, Eisen, Iod, Kalium, Kobalt, Kupfer, Magnesium, Mangan, Natrium, Nickel, Rubidium, Selen, Silizium, Zink und Zinn) aus ca. 3 ml Blutplasma unter medizinisch-diagnostischen Bedingungen.

Ein weiteres Ziel war es, Nachweisgrenzen, Reproduzierbarkeit, Richtigkeit, Analysenzeit und Analysenkosten der ICP-MS und der herkömmlichen Analysemethoden (AAS, ISE) zu vergleichen und für jedes der 18 Elemente das optimale Nachweisverfahren auszuwählen mit der Frage, inwieweit die ICP-MS in der klinischen Chemie praktikabel ist und evtl. die AAS und ISE ersetzen kann.

Als drittes Ziel der Arbeit sollte die mögliche medizinische Relevanz der mit den so evaluierten Analysemethoden erfassten Analyte bestimmt werden durch die Untersuchung von Plasmaproben von Patienten mit einer terminalen Niereninsuffizienz (Dialysepatienten), von Patienten mit kardiologischen Erkrankungen (Bluthochdruck oder Patienten nach einem Eingriff am Herzen) sowie von Patienten mit einer Schizophrenie. Um einen Mangel oder eine Akkumulation der Mengen-, Spuren-, und Ultraspurenelemente bei diesen Patienten festzustellen, sind die Konzentrationen mit Referenzwerten zu vergleichen, die anhand einer Kontrollgruppe („scheinbar gesunde“ Blutspender) mit den gleichen Methoden ermittelt wurden.

Mit Hilfe des Statistikprogrammes „Statistika“ soll getestet werden, ob sich die Elementkonzentrationen bei Patienten und Kontrollgruppe signifikant unterscheiden, ob Korrelationen der Elemente untereinander auftreten und ob es alters- und geschlechtsspezifische Konzentrationsveränderungen gibt.

Mit Hilfe der Hauptkomponentenanalyse ist zu prüfen, ob anhand der vorliegenden Analysendaten eine Einteilung der Patienten in Klassen möglich ist.

Abschließend sollen Ursachen und klinische Bedeutung der Ergebnisse dieser Untersuchungen erläutert und mögliche Schlussfolgerungen daraus für die Diagnostik sowie fortführende Untersuchungen gezogen werden.

1.3. Analysemethoden für die Bestimmung von Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelementen in biologischen Flüssigkeiten

Für die Bestimmung von Elementkonzentrationen in biologischen Flüssigkeiten wurden eine Reihe von Methoden entwickelt, die sich durch Nachweisgrenzen, Routinefähigkeit, Bedienkomfort, Analysendauer und -kosten voneinander unterscheiden (siehe Tabelle 1).

Die Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) ist für die Bestimmung vieler Elemente in der Medizin die sogenannte Referenzmethode.

Das Messprinzip der AAS basiert auf der Schwächung elementspezifischer Strahlung durch Absorption des Lichtes durch Atome. Das Atomabsorptionsspektrometer besteht aus einer elementspezifischen Strahlungsquelle (z.B. Hohlkatodenlampe), dem Atomisator (Flammenatomisator, Graphitrohrföfen oder Quarzzelle), einem Monochromator, der den Bereich der Resonanzlinie auswählt, dem Detektor und dem PC zur Datenverarbeitung.

Der Atomisator hat die Aufgabe, die Probe thermisch zu zersetzen und freie Atome zu bilden. Die entstandene Atomwolke ist nun in der Lage, Licht der Resonanzlinie aufzunehmen. Dabei steht die Schwächung dieses Lichts im direkten Zusammenhang mit der Zahl der gebildeten Atome bzw. der Elementkonzentration in der Probe.

Die Wahl der Atomisierungstechnik hängt von dem zu bestimmenden Element und dessen Konzentration in der Probe ab. Die Mengen- und ein Teil der Spurenelemente werden aufgrund der hohen Konzentrationen mit der Flammentechnik, die Ultrapurenelemente mit der um 1 bis 3 Größenordnungen empfindlicheren Graphitrohrtechnik bestimmt. Mit Hilfe der Quecksilber-Hydrid-Technik, deren Atomisator eine Quarzzone ist, können nur wenige hydridbildende Elemente (As, Se, Sn, Sb) sowie Quecksilber analysiert werden.

Messgröße bei der Atomabsorption ist die Extinktion, die sich nach dem Lambert-Beerschen Gesetz aus dem Logarithmus des Quotienten aus Ausgangsintensität und geschwächter Intensität berechnet.

Vorteile der AAS sind relativ geringe Anschaffungs- und laufende Kosten, die Vielzahl der Elemente, die mit dieser Methode bestimmt werden können, das hohe Nachweisvermögen, wenig und meist kompensierbare Störungen durch andere Elemente oder die Probenmatrix sowie die relativ einfache Bedienbarkeit der Geräte.

Nachteilig sind der hohe Zeitbedarf, da z.Z. jeweils nur ein Element bestimmt werden kann, der relativ hohe Probenverbrauch und der geringe dynamische Bereich (Welz, 1997; Haraguchi, 1999; Alfassi, 1994; Vandecasteele, 1993).

Zu den atomspektrometrischen Methoden gehören neben der Atomabsorption die auf Atomemission basierenden Methoden, die Flammenphotometrie und die ICP-OES.

Bei diesen Analysenmethoden wird die von angeregten Atomen emittierte charakteristische Strahlung zur quantitativen Elementbestimmung verwendet.

Bei der **Flammenphotometrie** erfolgt die Anregung der Atome durch hohe Temperaturen in einer Flamme. Durch einen Monochromator wird der elementspezifische spektrale Bereich ausgewählt. Als Detektor werden Photoelemente verwendet. Mit der Flammenphotometrie können nur leicht anregbare Elemente (Alkali- und Erdalkalimetalle) analysiert werden (Schwedt, 1992).

Vorteile der Flammenphotometrie sind die geringen Anschaffungs- und Betriebskosten. Ein großer Nachteil dieser Methode ist, dass sie nur für wenige Elemente eingesetzt werden kann.

Für schwerer anregbare Elemente (z.B. die Schwermetalle) sind höhere Flammentemperaturen erforderlich, die durch ein induktiv gekoppeltes Hochfrequenzplasma (ICP) erzeugt werden können. Mit der **ICP-OES** (induktiv gekoppeltes Hochfrequenzplasma mit einem optischen Emissionsspektrometer als Detektor) ist eine Multielementbestimmung möglich. Mit der ICP-OES können in kurzer Zeit und mit geringem Probenvolumen simultan bis zu 60 Elemente in einem Konzentrationsbereich von max. 6 Größenordnungen analysiert werden.

Bei diesen Geräten sind die Anschaffungs- und Betriebskosten relativ hoch und z.T. nicht kompensierbare Störungen durch spektrale Interferenzen sowie bei einigen Elementen die hohen Nachweisgrenzen von Nachteil (Schwedt, 1992; Haraguchi, 1999; Alfassi, 1994; Vandecasteele, 1993; Sansoni, 1985).

Bei der **ICP-MS** wird als Anregungsquelle ebenso ein induktiv gekoppeltes Argonplasma verwendet. Als Empfänger dient bei diesen Geräten ein Massenspektrometer. Diese Methode wird unter Punkt 2.3.1. noch einmal genauer beschrieben.

Von höchstem Vorteil dieser Technik ist ihr hohes Nachweisvermögen bei gleichzeitiger Multielementbestimmung und geringem Probenbedarf. Nachteilig sind hier die enormen Anschaffungs- und hohen Betriebskosten sowie eine Vielzahl von Störungen (Interferenzen) durch Proben- und Gasmoleküle (Haraguchi, 1999; Alfassi, 1994; Vandecasteele, 1993).

Beim Einsatz der ionenselektiven Potentiometrie werden Elektroden verwendet, die selektiv auf bestimmte freie Ionen ansprechen (**ISE**). Da die meisten Mengen-, Spuren- und Ultrapurenelemente in biologischen Flüssigkeiten in organisch gebundener Form (an Enzyme, Proteine) vorliegen, ist diese einfache und schnelle Methode nur auf wenige Elemente (Na, K) beschränkt (Schwedt, 1992).

Besonders nachweisstark sind die radiochemischen Methoden. Z.B. lassen sich bei der Neutronenaktivierungsanalyse (**NAA**) Nachweisgrenzen bis in den Pikogrammbereich erzielen. Da diese sehr kostenintensiv und zeitaufwendig sind, sind sie für die klinische Routine nicht gebräuchlich (Alfasi, 1994; Dams, 1994; Chan, 1998).

Eine weitere Methode zur Bestimmung von Elementen in biologischen Flüssigkeiten ist die **Photometrie**. Ein Photometer bestimmt Lichtabsorption bzw. Lichtdurchlässigkeit im Bereich des ultravioletten und sichtbaren Lichtes. Der Bestimmung ist häufig eine Farbbildungsreaktion vorgeschaltet. Sie erfolgt bei einer jeweils definierten Wellenlänge und ist nur für eine geringe Anzahl von Elementen mit ausreichender Empfindlichkeit möglich (Schwedt, 1992).

Durch die gute Automatisierbarkeit der Methode wird sie in klinisch - chemischen Automaten verwendet.

Tab.1: Ausgewählte Methoden zur Elementanalytik

Methode	AAS	Flammen- photometrie	ICP-OES	ICP-MS	ISE (Automat)	NAA	Photometrie
Anschaffungskosten	relativ gering	gering	mittel	hoch	gering	hoch	gering
laufende Kosten	gering	gering	hoch	hoch	hoch	hoch	gering
Anzahl der Elemente pro Messzyklus	1	max. 4	bis 60	bis 60	8	ca. 20	1
Anzahl der möglichen zu bestimmenden Elemente	ca. 70	8	ca. 70	alle	8	ca. 60	gering
Störungen	gering	gering	relativ hoch	hoch	gering	gering	mittel
Nachweisgrenzen	mittel / niedrig	mittel	niedrig	sehr niedrig	hoch	sehr niedrig	niedrig
Methodenentwicklung	einfach	sehr einfach	schwierig	sehr schwierig	sehr einfach	schwierig	einfach
Probenbedarf bei Bestimmung mehrerer Elemente	hoch	gering	gering	gering	gering	gering	mittel
Zeitbedarf für Mehrelementanalysen	hoch	gering	gering	gering	gering	hoch	hoch
dynamischer Bereich (Größenordnungen) pro Element	gering (2-3)	gering (2-3)	hoch (5-6)	hoch (5-6)	sehr gering (1-2)	sehr gering (1-2)	gering (2-3)

2. Material und Methoden

2.1. Untersuchungsmaterial und Probennahme

Zur Blutentnahme wurden bei allen Probanden Monovetten für die Metallanalytik mit speziellen kontaminationsfreien Kanülen (Sarstedt) verwendet. Werden andere Entnahmesysteme eingesetzt (Serummonovetten und Edelstahlkanülen), können erhöhte Konzentrationen von Aluminium, Mangan, Nickel, Chrom und Silizium durch Kontamination aus dem Gefäß- und Kanülenmaterial auftreten.

Das Blut wurde 7 min zentrifugiert und das so gewonnene Plasma in spezielle kontaminationsfreie Probengefäße (Sarstedt) portioniert. Bis zur Untersuchung wurden die Proben bei – 20 °C eingefroren.

Blutproben wurden von Patienten mit einer terminalen Niereninsuffizienz (Dialysepatienten), von Patienten mit kardiologischen Erkrankungen (Bluthochdruck oder Patienten nach einem Eingriff am Herzen) sowie von Patienten mit einer Schizophrenie gewonnen. Bei den Dialysepatienten wurde vor und unmittelbar nach der Dialyse Material entnommen, um zusätzlich den Einfluss der „Blutwäsche“ auf den Spurenelementstatus mit zu erfassen.

Als Kontrollgruppe wurden „scheinbar gesunde“ Blutspender unterschiedlichen Geschlechts in verschiedenen Altersgruppen untersucht.

2.2. Routinebestimmungsmethoden für Metallionen im klinisch chemischen Labor

2.2.1. Bestimmung der Mengen-, Spuren-, und Ultraspurenelemente mit der Atomabsorptionsspektrometrie

In der Klinischen Chemie wird ein Teil der Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelemente mit der Atomabsorptionsspektrometrie bestimmt.

Je nach Konzentration werden die Flammen- oder Graphitrohr-AAS sowie die Hydridtechnik eingesetzt. Untersuchungsmaterial sind Serum oder Blutplasma, Vollblut, Urin, Speichel und Gewebe. In den weiteren Ausführungen soll nur auf die Untersuchung des Blutplasmas eingegangen werden.

Mit der Flammen-Atomabsorptionsspektrometrie werden die Elemente Mg, Ca, Fe, Cu und Zn analysiert. Die Bestimmung von Na und K ist ebenfalls mit dieser Methode möglich, wird aber selten auf diese Weise durchgeführt, da die praktikablere Methode der ionenselektiven Potentiometrie (ISE) dafür zur Verfügung steht.

Die Messung mit der Flammen-AAS wird wenig durch Störungen durch andere Elemente oder die organische Probenmatrix beeinträchtigt. Grundlage der Konzentrationsbestimmung sind manuell hergestellte wässrige Kalibrierstandards für jedes Element. Die Richtigkeit der mit diesen Standards erstellten Kalibrierkurven wird durch die Bestimmung von zertifizierten Kontrollmaterialien zu Beginn der Messreihe geprüft.

Zur Bestimmung von Mg und Ca im Plasma werden 200 µl Probenmaterial mit 0,1 M HCl im Verhältnis 1:11 verdünnt. Die Proben werden gegen ebenso präparierte wässrige Kalibrierstandards gemessen. In einer sequentiellen Multielementmethode werden beide Elemente aus dem gleichen Probenansatz automatisch nacheinander untersucht.

Aufgrund der niedrigeren Konzentrationen von Fe, Cu und Zn im Plasma ($\mu\text{mol/l}$) können die Proben nur in einem geringen Verhältnis verdünnt werden. Da bei großen Analysenserien das Brenner-Zerstäuber-System durch den hohen organischen Anteil in den Plasmen schnell verstopfen würde, werden die Proben enteiweißt.

Zunächst wird 1 ml der Plasmaproben mit Salzsäure angesäuert, um an Proteine gebundenes Fe, Cu, Zn in Ionenform zu überführen. Anschließend wird die Enteiweißung mit Trichloressigsäure vorgenommen. Prüflösung ist die nach Zentrifugation gebildete wässrige Phase. Fe, Cu und Zn können in einem gemeinsamen Messansatz mit Hilfe einer sequentiellen Multielementmethode anhand einer wässrigen Kalibrierkurve analysiert werden.

Die Messungen wurden mit dem AAS5 FL der Firma Analytik Jena AG durchgeführt.

Für die Bestimmung der Elemente Al, Cr, Mn, Ni, Se und Si wird in der klinisch-chemischen Routine die im Vergleich zur Flammen-AAS empfindlichere Graphitrohr-AAS eingesetzt.

Die Bestimmungen mit der Graphitrohr-AAS werden meist durch die Probenmatrix gestört. Diese Störungen machen sich durch unspezifische Absorption (auch als Untergrundsignal bezeichnet) durch Moleküle oder andere Elemente in den Proben sowie durch Signaldepression im Vergleich zu wässrigen Lösungen bemerkbar.

Um Störungen durch unspezifische Absorption zu kompensieren, wird mit der Technik der Untergrundkorrektur gearbeitet. Dazu kann die Untergrundkorrektur mit Hilfe einer Deuterium-Lampe oder durch den Zeeman-Effekt verwendet werden. Ist die Korrektur nicht ausreichend, kann zusätzlich mit Matrixmodifiern gearbeitet werden, die die Atomisierungstemperatur für das zu bestimmende Metall heraufsetzt, um bei somit höheren Pyrolyse- (oder Vorbehandlungs-) temperaturen einen großen Anteil der störenden Bestandteile vor der eigentlichen Atomisierung abzutrennen.

Tab. 2: Analysenparameter für die Graphitrohr-AAS

Parameter	Al	Cr	Mn	Ni	Se	Si
Wellenlänge (nm)	309,3	359,4	279,5	232,0	196,0	251,6
Probenvolumen (µl)	200	200	200	200	200	200
Verdünnung	1:6	1:2	1:2	1:2	1:2	1:2
Verdünnungslösung	0,1 n HNO ₃	0,1n HNO ₃	0,1n HNO ₃	0,1n HNO ₃	2% HAc	0,1 % Tri- ton-X100
Pyrolysetemperatur °C	1200	1300	1000	1200	1300	1400
Atomisierungstemperatur °C	2250	2499	1900	2200	2200	2550
Untergrundkorrektur	D2	D2	D2	D2	Zeeman	D2
Modifier	keiner	keiner	keiner	keiner	Pd/Pt	Pd
Volumen im Rohr (µl)	20	20	20	25	15/10	10/10

Mit der Methode der Standardaddition können Signaldepressionen kompensiert werden. Das bedeutet, die Kalibrierung wird mit matrixangepassten (plasmahaltigen) Additionsstandards durchgeführt, indem zu einem Plasma Standards unterschiedlicher Konzentration zugeführt werden und aus dem Anstieg der Additionskurve die Kalibrierfunktion ermittelt wird.

In Tabelle 2 sind die wichtigsten Parameter für die 6 mit der Graphitrohrtechnik bestimmten Elemente zusammengetragen. Die Untersuchungen wurden mit dem AAS5 EA der Firma Analytik Jena AG und dem PE 4110 ZL der Firma PerkinElmer Instruments durchgeführt.

2.2.2. Bestimmung einiger Mengenelemente mit der ionenselektiven Potentiometrie (ISE)

Die Bestimmung einiger Mengenelemente im Plasma ist auf einfache und schnelle Weise mit ionenselektiven Elektroden (ISE) möglich. Ionenselektive Elektroden sind Flüssigmembranelektroden, die nur auf bestimmte freie Messionen ansprechen.

Bei diesen Elektroden wird das Potential durch den Übergang von Messionen zwischen der wässrigen Phase (Blutplasma) und der flüssigen, aktiven Phase (Ionenaustauscher) bestimmt. In der hydrophoben Membran befinden sich die ionenaustauschenden (organischen) Gegenionen .

Für die vorliegenden Untersuchungen wurde der ionenselektive Analyser „Microlyte“ der Firma Thermo Electron GmbH eingesetzt. Die im Plasma in freier Ionenform vorliegenden Elemente Kalium und Natrium wurden mit dieser Methode analysiert. Da von den Mengenelementen Magnesium und Calcium nur ca. 60 bzw. 50 % ionisiert im Plasma vorliegen, ist diese Methode zur Erfassung der Gesamtkonzentration nicht geeignet.

Das „Microlyte“ verfügt über ein Ventil- und Pumpensystem, welches zunächst nacheinander die 4 gebrauchsfertigen Kalibrierstandards, die alle zur Messung benötigten Ionen enthalten, in den Elektrodenblock transportiert. Der Elektrodenblock besteht aus hintereinandergeschalteten Elektroden für alle zu messenden Ionen und ermöglicht somit eine Parallelbestimmung dieser Ionen in einem Analysenablauf. Die Kalibration wird automatisch durchgeführt und auf Linearitätsfehler kontrolliert.

Nach erfolgreicher Kalibration wird die Richtigkeit anhand von methodenspezifischem Kontrollmaterial geprüft.

Die Plasmen können anschließend unverdünnt gemessen werden. Dazu werden die Proben (200 µl) manuell über eine Kanüle zugeführt. Nach ca. 2 Minuten werden die Konzentrationswerte für Natrium und Kalium durch den Drucker ausgegeben.

Ein Vergleich mit dem AAS5 FL zeigt gute Übereinstimmungen zwischen beiden Methoden. Da mit dem „Microlyte“ eine Parallelmessung beider Elemente möglich ist und die Proben ohne Verdünnung (keine Verdünnungsfehler) analysiert werden können, ist die ionenselektive Potentiometrie der AAS vorzuziehen.

2.3. Die Methode der ICP-MS

Die ICP-MS ist eine molekülspektroskopische Methode zur simultanen Multielementbestimmung (Schwedt, 1992).

In einem als Ionenquelle dienenden induktiv gekoppeltem Hochfrequenzplasma (ICP = Inductively Coupled Plasma) werden Ionen erzeugt, die nach Massentrennung in einem Massenspektrometer (MS) detektiert werden können.

Da für die vorliegenden Untersuchungen das ICP-MS ELAN 6000 der Firma Perkin Elmer Instruments eingesetzt wurde, wird die Methode anhand der speziellen Gerätespezifikation vorgestellt (siehe Abb. 1).

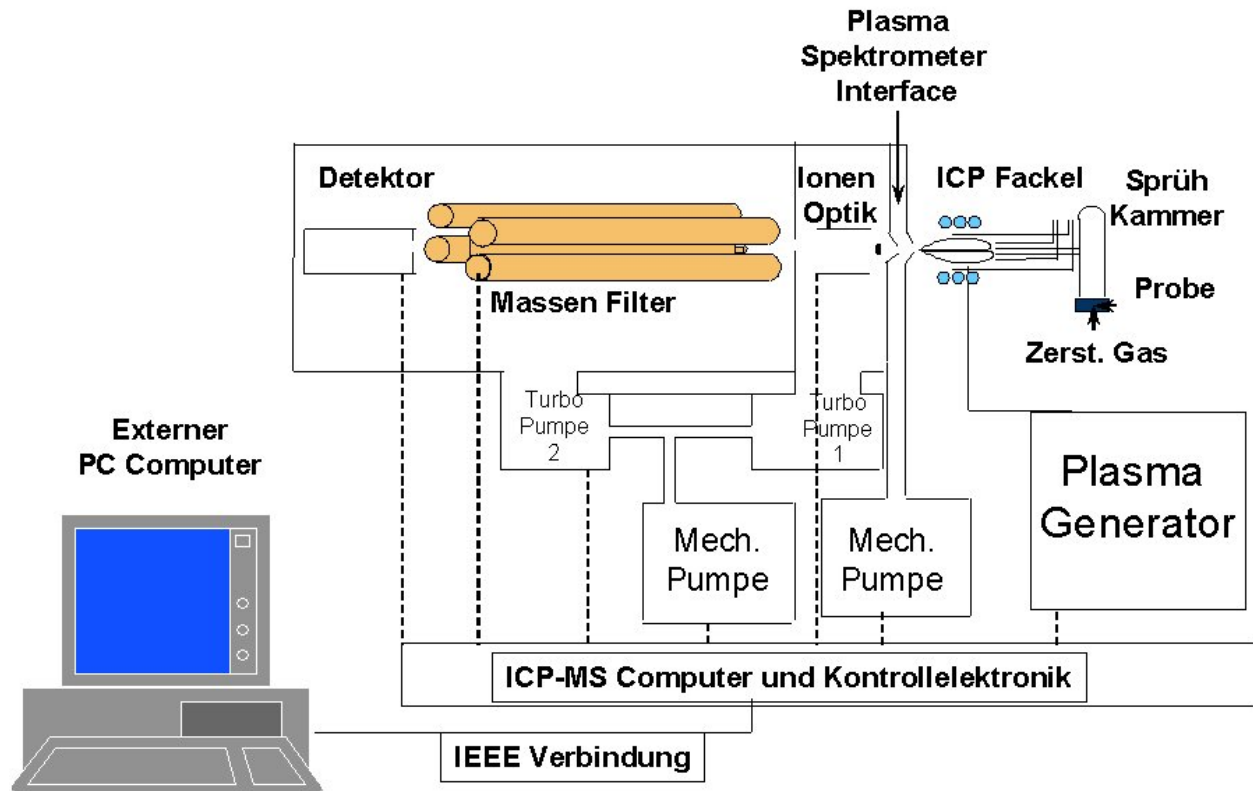


Abb. 1: Schematischer Aufbau eines ICP-MS (PerkinElmer Instruments)

Die zu analysierenden flüssigen Blutplasma-Proben werden durch eine peristaltische Pumpe, die für einen gleichmäßigen Flüssigkeitstransport von 1,4 ml/min sorgt, einem Zerstäuber zugeführt. Aufgrund der hohen Salzbelastung in den Proben wurde ein dafür besonders geeigneter Cross-Flow-Zerstäuber verwendet. Durch den am Zerstäuber anliegenden Argonstrom von ca. 1 l/min wird ein Proben-aerosol erzeugt. Da die Aerosol-ausbeute aufgrund der Tröpfchengröße nur wenige Prozent beträgt, wird der größte Teil der Probenlösung über einen zweiten Schlauchweg der Pumpe in ein Abfallgefäß transportiert.

Das Proben-aerosol wird über ein Quarzrohrsystem, der sogenannten Torch, dem Plasma zugeführt. Das Quarzrohrsystem besteht aus einem inneren Rohr, in dem mit dem am Zerstäuber anliegenden Argonstrom das Proben-aerosol zur analytischen Zone transportiert wird und einem äußeren Rohr, in dem ein Argonstrom von 6 bis 15 l/min fließt, der für die eigentliche Plasmabildung benötigt wird. Ein zusätzlicher Argonstrom in einem mittleren Rohr kann bei Proben mit hoher Salzlast oder hohem Kohlenstoffgehalt (Proteine) hinzugeschaltet werden.

Im letzten Drittel des Quarzrohrsystems werden alle Gasströme zusammengeführt. Das Ende des Quarzrohrsystems ist von einer Spule umgeben. Mit Hilfe dieser Spule wird Hochfrequenzenergie auf die fließenden Gasströme übertragen. In dem anliegenden Hochfrequenzfeld wird das Argon durch Stöße zwischen Argonatomen und Elektronen angeregt und ionisiert. Durch diesen Prozess entsteht ein heißes Plasma mit einer Temperatur oberhalb 5000 K. Bei dieser Temperatur werden die in das induktiv gekoppelte Plasma eingebrachten Elemente teilweise ionisiert. Die Ionisierung erfolgt durch Zusammenstöße zwischen Analytatomen und hochenergetischen Elektronen, Argonionen oder metastabilen Argonatomen. Neben Analytatomen können jedoch auch Moleküle der Probenmatrix oder Lösungsmittelbestandteile ionisiert werden, was dann zum Teil zu erheblichen Störungen führen kann.

Geladene und nichtgeladene Teilchen gelangen mit dem Plasmastrom in das sogenannte Interface. Durch einen Druck von wenigen mbar wird dieser Strom durch die max. 1 mm große Öffnung des Samplers gesaugt. Der gekühlte Sampler ist eine meist aus Nickel gefertigte konische Lochblende. Der Plasmastrom expandiert in diesem Zwischenraum. Ein Teil davon wird mit Hilfe einer zweiten Lochblende, dem Skimmer, in das Massenspektrometer geleitet. Im Massenspektrometer liegt ein Arbeitsdruck von $<10^{-5}$ mbar an.

Unmittelbar hinter dem Skimmer befindet sich der Photonenstop. Dieser dient zur Entfernung nichtgeladener Teilchen, die sich zwischen Interface und Quadrupol an den Ionenlinsen ablagern würden. Nur positiv und negativ geladene Teilchen gelangen hinter den Photonenstop in eine Zylinderlinse. Durch ein dort angelegtes Potentialgefälle werden die Ionen fokussiert. Ein optimaler Ionenstrom für eine bestimmte Masse (also ein bestimmtes Elementisotop) wird erzielt, wenn die angelegte Linsenspannung dem Wert der kinetischen Energie dieses Isotops entspricht. Alle anderen Massen würden in diesem Fall diskriminiert werden. Durch schrittweises Ändern der Linsenspannung können die gewünschten Massen nacheinander in den Quadrupol durchgelassen werden.

Das Quadrupolmassenspektrometer besteht aus 4 parallel angeordneten Stäben, an die ein Gleichspannungsfeld und zusätzlich ein Hochfrequenzfeld angelegt werden. Durch Anlegen einer definierten Spannung kann die Transmission einer bestimmten Masse erfolgen. Ändert man das Quadrupolfeld kontinuierlich, können die gewünschten Massenbereiche abgefahren werden.

Zur Detektion der Ionen wird ein Elektronenvervielfacher verwendet, der dem Quadrupol nachgeschaltet ist. Die dort erhaltenen Signale werden als Counts für jede Masse/Ladung computergesteuert weiterverarbeitet.

Bei der Methode des ICP-MS mit dem ELAN 6000 und anderen ICP-MS-Geräten treten eine Reihe von Fehlermöglichkeiten durch Störeinflüsse auf, die zu systematischen Fehlern führen können.

Im Massenspektrometer werden Teilchen mit einem definierten Masse zu Ladungs-Verhältnis registriert. Neben den gewünschten Elementionen entstehen im Prozess der Ionisierung jedoch auch Clusterionen oder Molekülionen.

Ursachen für die Bildung von Clusterionen sind Lösungsmittel und die darin enthaltenen Säuren sowie die Probenmatrix (H_2O^+ , H_3O^+ , NO^+ , NO^{2+} ...), Ionen von Gasen aus der Atmosphäre (O_2^+ , CO^+ , CO_2^+ , NH^+ , NO^+ ...) und Reaktionsprodukte mit dem Plasmagas Argon (ArO^+ , ArOH^+ , ArCl^+ , Ar_2^+ ,...). Diese Ionen verursachen besonders im Massenbereich bis 80 spektrale Interferenzen, die die Bestimmung leichter Elemente erschweren. So stört z.B. $^{80}\text{Ar}_2^+$ mit einer Masse von 80 einfach geladen die Bestimmung des häufigsten Selenisotops ^{80}Se , $^{28}\text{CO}^+$ mit der Masse 28 die Bestimmung von Silizium ^{28}Si . In einem solchen Fall muss auf ein ungestörtes Isotop ausgewichen werden, wenn dies möglich ist. Die prozentuale Häufigkeit dieser Ausweichisotope ist meist geringer, was einen Signal- und damit auch Empfindlichkeitsverlust zur Folge hat. Es gibt jedoch eine Reihe von monoisotopen Elementen, die nur ein Isotop besitzen (z.B. Be, F, Na, Al, P, Sc, Mn, Co, As, Y, Rh, I, Cs, Au, Bi).

Daneben treten Störungen durch natürlich vorkommende stabile Isotope verschiedener Elemente mit der gleichen Masse auf, die sogenannten isobaren Interferenzen. So haben die Elemente Ar, K, Ca alle ein stabiles Isotop der Masse 40, Ti, V, Cr ein Isotop der Masse 50.

Eine weitere Störquelle sind mehrfach geladene Ionen. Da in der Massenspektrometrie das Masse-Ladungsverhältnis registriert wird, erscheinen doppelt geladene Ionen bei der halben Masse. Das häufigste Isotop des Zirkoniums ^{90}Zr stört als doppelt geladenes Ion die Bestimmung des Scandiums. Da Scandium ein monoisotopes Element ist und nur dieses eine Isotop besitzt, wird die Bestimmung in Anwesenheit hoher Zr-Gehalte kompliziert bzw. nicht durchführbar.

Schließlich können auch Nachbarionen im großen Überschuss im Vergleich zum zu analysierenden Elementes durch „Peakverbreiterung am Fuß“ des Signals die Messung empfindlich stören.

(Broeckard, 1990; Stroh, 1995; Schwedt, 1992; Schramel, 1997; Luck; 1987, Kern, 1995; Montaser, 1993)

Um Fehlermöglichkeiten durch die genannten Störungen und Kontaminationen zu vermeiden oder zu minimieren, ist die Methode zu optimieren. Dazu sollte ein geeignetes Gefäßmaterial und Lösungsmittel ausgewählt werden. Es ist zu entscheiden,

welche Masse für welches Element geeignet ist. Verdünnungsverhältnis und Kalibrationsart sowie der interne Standard sind auszuwählen.

Um eine große Anzahl von Elementen in verschiedenen Konzentrationsbereichen analysieren zu können, sind bei der Methodenentwicklung (Punkt 3) Kompromisse nötig.

2.4. Statistikprogramm „Statistika“ und die verwendeten statistischen Größen

Die Datenauswertung erfolgt mit dem unter dem Betriebssystem Windows arbeitenden Statistikprogramm „Statistika“. Dazu können die mit Microsoft-Excel erfassten Datensätze in das Programm importiert werden.

Die Daten sind im Programm „Statistika“ in Fälle (Patienten) und Variable (Elemente) organisiert.

„Statistika“ verfügt über schnell zugängliche Funktionen - wie Berechnung der Mittelwerte, Standardabweichungen, Signifikanztests, Korrelationsberechnung und über Funktionen der multivariaten Statistik (Hemmer, 1998).

Analysendaten unterliegen einer bestimmten Variationsbreite. Diese wird bestimmt durch das Probenmaterial (hier durch das menschliche Individuum) und durch die Messunsicherheit. In den vorliegenden Daten wird die Ungewissheit durch die Variabilität des menschlichen Individuums und durch die Messunsicherheiten (zufällige und systematische Fehler) beeinflusst. Zufällige Fehler lassen sich durch Messwertwiederholungen einschränken. Systematische Fehler werden durch Richtigkeitsuntersuchungen erkannt und behoben.

Mittelwert

Der Mittelwert charakterisiert die Lage der Daten auf der x-Achse. Die Standardabweichung beschreibt die Streuung der Daten um den Mittelwert.

Der Mittelwert x_m wird bei normalverteilten Daten aus dem Quotienten der Summe aller Einzelwerte und der Anzahl der Einzelmessungen n ermittelt (Formel 1).

$$x_m = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (\text{Formel 1})$$

Neben dem mit Formel 1 berechneten Mittelwert wird bei Messreihen mit einer Reihe stark abweichender Einzelwerte (Ausreißer) auch der Median verwendet. Der Median ist ein robustes Lagemaß auf der x-Achse, der bei ungerader Anzahl von Messungen der mittlere aller Messwerte, bei gerader Anzahl von Messungen das arithmetische Mittel der beiden mittleren Messwerte ist.

Das geometrische Mittel (Formel 2), welches meist bei einer logarithmischen Verteilung der Messwerte verwendet wird, ist die n -te Wurzel aus dem Produkt der Ergebnisse von n Messungen.

$$x_m = \sqrt[n]{\prod_{i=1}^n x_i} \quad (\text{Formel 2})$$

In den vorliegenden Untersuchungen wurde der Mittelwert anhand von Formel 1 berechnet (arithmetisches Mittel), da die Daten für die meisten Elemente normalverteilt waren.

Verteilungsfunktion

Zur Charakterisierung von Datenreihen dient die Häufigkeitsverteilung, d.h. das Auftragen der Messgröße in Abhängigkeit von deren Häufigkeiten in Form eines Säulendiagramms. (Doerffel, 1987)

Bei normalverteilten Analysenwerten ergibt sich eine symmetrische Darstellung in Form der Gaußschen Glockenkurve.

Daneben können asymmetrische Verteilungen auftreten z.B. die logarithmische Normalverteilung, bei der nicht das arithmetische Mittel sondern das geometrische Mittel als Mittelwert verwendet wird.

Ein Maß für die Symmetrie der Verteilungsfunktion ist die Schiefe. Bei einer ideal symmetrischen Verteilung ist die Schiefe Null. Bei asymmetrischen Verteilungen weicht die Schiefe von Null ab. Die Schiefe bei linksgipfliger Verteilung ist größer, bei rechtsgipfliger Verteilung kleiner Null.

Standardabweichung

Die Standardabweichung ergibt sich aus der Wurzel des Quotienten aus der Summe der Quadrate der Abweichungen der Einzelwerte x_i vom Mittelwert x_m und der Anzahl der Freiheitsgrade $n-1$ (Formel 3).

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - x_m)^2}{n-1}} \quad (\text{Formel 3})$$

Statistische Signifikanz

Die statistische Signifikanz ist ein Maß dafür, inwieweit ein ermitteltes Ereignis „wahr“ ist. Sie wird durch das p-Niveau für die Zuverlässigkeit des Ereignisses gekennzeichnet. Je niedriger der Wert für p ist, desto zuverlässiger ist eine Beziehung zwischen den Variablen zweier Stichproben. Das in statistischen Auswertungen häufig verwendete p -Niveau von 0,05 besagt, das die Wahrscheinlichkeit eines Zusammenhangs in 95 % der Fälle zutrifft.

Bei der Auswertung wissenschaftlicher Untersuchungen werden Ergebnisse mit dem Signifikanzniveau von $p < 0,05$ als „gerade noch statistisch signifikant“, Ergebnisse mit $p < 0,01$ als „statistisch signifikant“ und mit $p < 0,005$ als „hochsignifikant“ bezeichnet. (Statistika, Benutzerhandbuch)

Korrelation

Die Korrelation gibt den Zusammenhang zwischen zwei oder mehreren Variablen an. Für die Daten wird ein Korrelationskoeffizient berechnet, der zwischen $-1,00$ und $+1,00$ liegen kann. Ein Korrelationswert von $-1,00$ beschreibt die perfekte negative, ein Wert von $+1,00$ die perfekte positive Korrelation. Bei einem Korrelationskoeffizienten von $0,00$ besteht überhaupt kein Zusammenhang zwischen den Variablen. Der am häufigsten verwendete Korrelationskoeffizient ist der „Pearsonsche Korrelationskoeffizient“ r . Die Pearsonsche Korrelation bestimmt das Ausmaß, in dem die Werte zweier Variablen proportional sind. Die Korrelation ist dann hoch, wenn sie durch eine Gerade, die Regressionsgerade, dargestellt werden kann. Um die Korrelation bewerten zu können, ist die Signifikanz der Korrelation zu überprüfen (Statistika, Benutzerhandbuch).

Ausreißer

In Messreihen sind mitunter Ausreißer, d.h. atypische, selten auftretende Ereignisse zu beobachten. Diese Ausreißer können durch zufällige Messfehler, falsche Probennahme oder durch Variationen unter den Probanden auftreten. Diese Ausreißer haben einen erheblichen Einfluss auf den Mittelwert, die Standardabweichung und den Korrelationskoeffizienten (Statistika, Benutzerhandbuch).

Es gibt eine Reihe von Ausreißertests, die Messwerte als Ausreißer erkennen können, wie z.B. der Ausreißertest nach Grubbs.

Beim Auftreten von zufälligen Messfehlern und falscher Probennahme (z.B. führt die Abnahme mit der falschen Monovette durch Kontamination zu hohen Aluminiumkonzentrationen) ist eine Ausreißereliminierung zu empfehlen. Ausreißer, die durch die Variation der Individuen untereinander auftreten (z.B. Dialysepatienten, die durch Iodbehandlung erhöhte Iodkonzentrationen im Plasma sowohl vor als auch nach der Dialyse aufwiesen), sind jedoch nicht durch Ausreißertests auszugleichen.

Diese abweichenden Ereignisse sind mit in die Berechnung einzubeziehen und auch nicht durch Verwendung des Medians anstelle des Mittelwertes zu eliminieren. Aussagekräftig ist bei medizinischen Untersuchungen das arithmetische Mittel der Patientengrundgesamtheit.

Nachweisgrenze

In der DIN 32645 sind der Begriff der Nachweisgrenze und die Methoden zu deren Bestimmung in der Analytik festgelegt.

Danach ist die Nachweisgrenze „derjenige Gehalt, der unter Verwendung der ermittelten Kalibrierfunktion dem kritischen Wert der Messgröße zuzuordnen ist“. „Der kritische Wert der Messgröße ist derjenige Messwert, bei dessen Überschreitung unter Zugrundelegung einer festgelegten Irrtumswahrscheinlichkeit erkannt wird, dass der Gehalt des Bestandteils in der Analysenprobe größer ist als derjenige in der Leerprobe.“ (DIN 32645).

Zur Bestimmung der Nachweisgrenze sind zwei Methoden möglich. Die direkte Methode (Leerwertmethode) ermittelt die Nachweisgrenze aus der Unsicherheit des Leerwertes. Bei der indirekten Methode (Kalibriergeradenmethode) wird die Unsicherheit des

Leerwertes in der unmittelbaren Nachbarschaft der Nachweisgrenze ermittelt (DIN 32645; Müller, 1994).

Zur Bestimmung der Nachweisgrenze mit der Blindwertmethode wurde der Anstieg der Additionskalibrationskurven und die Messwerte von 10 Blindwertmessungen ermittelt.

Um die Nachweisgrenze mit der Kalibriermethode zu berechnen, wurden 10 Standards, die kleiner als das 10 fache der Nachweisgrenze entsprachen, gemessen.

Da die Bestimmung der Nachweisgrenze mit der Kalibriermethode bei einer großen Anzahl zu bestimmender Elemente sehr aufwendig ist, wurden die Nachweisgrenzen mit der Blindwertmethode ermittelt und diese Methode am Beispiel von 3 Elementen mit der Kalibriermethode verglichen (siehe 4.1.1.)

Die Nachweisgrenze berechnet sich nach der Leerwertmethode durch Formel 4, nach der Kalibriermethode durch Formel 5.

$$x_{NG} = \frac{s_L}{b} \cdot t_{f;\alpha} \cdot \sqrt{\left(\frac{1}{m} + \frac{1}{n}\right)} \quad (f = n-1 \text{ Freiheitsgrade}) \quad (\text{Formel 4})$$

$$x_{NG} = s_{XO} \cdot t_{f;\alpha} \cdot \sqrt{\left(\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{x_m^2}{Q_x}\right)} \quad (f = n-2 \text{ Freiheitsgrade}) \quad (\text{Formel 5})$$

x_{NG}	= Nachweisgrenze
s_L	= Standardabweichung der Leerwertmessung
b	= Steigung der Kalibriergeraden
m	= Anzahl der Messungen an der Analysenprobe
n	= Anzahl der Kalibrierproben
$t_{f;\alpha}$	= Quantil der t-Verteilung
s_{XO}	= Verfahrensstandardabweichung bei der Kalibration
x_m^2	= Quadrat des arithmetischen Mittels
Q_x	= Summe der Abweichungsquadrate von x bei der Kalibrierung
f	= Anzahl der Freiheitsgrade

Zur Vereinfachung der Berechnung wurde ein modifiziertes Excel-Programm verwendet, in das die Messdaten der einzelnen Elemente eingetragen und die Nachweisgrenzen automatisch berechnet wurden.

Die Nachweisgrenze hat für die Auswertung der Probenergebnisse eine große Bedeutung. Vor allem bei der Messreihe der Kontrollgruppe wurden bei einzelnen Elementen Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze registriert. Um auch diese Messwerte mit dem Programm „Statistika“ auswerten zu können, musste ein Kompromiss gefunden werden.

Wie bei Hecht (Hecht, 1996) vorgeschlagen, wurde für alle Konzentrationswerte unterhalb der Nachweisgrenze die Hälfte der Nachweisgrenze eingetragen. Die auf diese Weise „manipulierten“ Messdaten sind ein analytisch nicht tragbarer Kompromiss, der nur im Rahmen der statistischen Auswertung Anwendung finden darf. Die Konzentrationen sind jedoch als „kleiner Nachweisgrenze“ anzugeben.

Präzision und Richtigkeit

Mit Präzision und Richtigkeit wird die Genauigkeit einer Analysenmethode bestimmt.

Die Präzision beschreibt den zufälligen Fehler und charakterisiert die Wiederholbarkeit der Messungen. Sie wird als Schätzwert der Standardabweichung s_p von n (n ca. 20) nach Formel 3 berechnet und meist als relative Standardabweichung RSD (Formel 6) angegeben.

$$RSD = \frac{s_p}{x_m} \quad (\text{Formel 6})$$

RSD = relative Standardabweichung

Für die vorliegenden Untersuchungen wurden die serielle Präzision der Messserie und die Tag-zu-Tag-Präzision bestimmt. Bei der seriellen Präzision wurde der Fehler innerhalb einer Messserie aus 21 aufeinanderfolgenden Analysen berechnet. Dieser Fehler beinhaltet nur die Messwertstreuung. Für die Tag-zu-Tag-Präzision wurde die gleiche Probe an unterschiedlichen Tagen analysiert. Neben der Messwertstreuung geht in diesen Wert auch der Fehler bei der Erstellung der Kalibrierfunktion ein.

Die Richtigkeit beschreibt den systematischen Fehler. Sie wird durch die Wiederfindungsrate R (Formel 7) durch den Vergleich von Mittelwert x_m und wahren Wert x_w (Sollwert von zertifiziertem Material) ermittelt.

$$R = \frac{x_m}{x_w} \cdot 100\% \quad (\text{Formel 7})$$

R = Richtigkeit (Wiederfindungsrate)

x_m = Mittelwert

x_w = wahrer Wert

(Otto, 1997)

Klassifikationsanalyse

Die Klassifikationsanalyse ist eine Form der Auswertung sehr großer Datensätze.

Mit Hilfe der Klassifikation werden Regeln gesucht, nach denen Objekte auf Grund ihrer Merkmale in zwei oder mehrere Klassen eingeteilt werden können.

Bei dieser multivariaten Datenanalyse werden alle Elemente gleichzeitig berücksichtigt und in die Rechnung einbezogen, vieldimensionale Zusammenhänge werden durch Dimensionsreduzierung in überschaubare Darstellungen gebracht. Unter Berücksichtigung der Korrelation der Elemente untereinander werden neue unkorrelierte Größen wie z.B. die Hauptkomponenten erzeugt.

Es gibt überwachte und unüberwachte Verfahren. Bei den überwachten Verfahren werden zunächst anhand von Datensätzen mit bekannter Klassenzugehörigkeit Regeln erstellt. Unbekannte Objekte können anschließend in die bekannte Klassen eingeordnet werden.

Bei den unüberwachten Verfahren bestehen keine bekannten Klassenzugehörigkeiten. Diese sollen anhand des Verfahrens gefunden werden.

In den vorliegenden Untersuchungen soll das unüberwachte Verfahren angewendet werden und zunächst getestet werden, ob eine Einordnung in verschiedene Klassen überhaupt möglich ist.

Die Klassifikation kann mit Hilfe der Hauptkomponentenanalyse durchgeführt werden.

Ziel dieser Analyse ist es, eine große Zahl von Variablen einer Datenmatrix durch eine geringere Zahl von Hauptkomponenten darzustellen. Dabei bleiben die Informationen aus der Datenmatrix weitgehend erhalten.

Die Dimensionsreduzierung erfolgt durch „Aufspannen“ eines neuen Koordinatensystems. Die Richtung der Achsen dieses neuen Koordinatensystems wird durch die Komponenten bestimmt, die den größten Anteil an der Gesamtvarianz haben. Man kann sich diese Transformation als Rotation des m -dimensionalen Koordinatensystems (bei m Variablen) der Originaldaten in ein neues Koordinatensystem der Hauptkomponenten vorstellen.

Dazu ist die Berechnung der Eigenwerte erforderlich. Der Eigenwert ist ein Maß für den Varianzanteil eines Faktors an der Gesamtvarianz der Datenmatrix. Je höher der Eigenwert ist, desto höher ist der Einfluss dieses Faktors auf das Gesamtergebnis.

Der Faktorladungsplot gibt den Anteil einer Variablen an einer bestimmten Hauptkomponente an. Je weiter die Variablen vom Ursprung (0;0) entfernt liegen, desto höher ist ihr Einfluss auf die aufgetragene Hauptkomponente. Eine Variable im Ursprung würde sich auf keine der beiden Hauptkomponenten auswirken (Danzer, 2001; Statistika, Benutzerhandbuch).

3. Experimenteller Teil – Methodenentwicklung für die ICP-MS

3.1. Auswahl eines geeigneten Gefäßmaterials

Die Blutplasmaproben sind vor der Bestimmung mit dem ICP-MS zu verdünnen, da sich durch die hohe organische und Salzmatrix das Zerstäuber-Brenner-System schnell zusetzen würden. Da kein Probengeber zu Verfügung stand, sind Form und Größe der Probengefäße nicht festgelegt. Wichtig bei der Auswahl waren demnach ausreichendes Probenvolumen und die Reinheit der Probengefäße. Die Probengefäße müssen ca. 5 ml Messlösung fassen und dürfen nach 24 Stunden keine merklichen Kontaminationen für die zu bestimmenden Elemente aufweisen.

Untersucht wurden Polystyrolgefäße mit Polypropylenstopfen und Polypropylengefäße mit Schraubkappe aus dem gleichen Material von der Firma Sarstedt.

Dazu wurden je 20 Probengefäße mit 0,3%iger HNO_3 gefüllt, geschüttelt und die Intensitäten für die Blindwerte für die zu untersuchenden Elemente nach 24 Stunden ermittelt. Keines der beiden Gefäßmaterialien war für die gesamte Elementpalette geeignet. Aus der Oberfläche der Probengefäße wurden vor allem die Elemente Al, Co, Cu, Fe, Mn, Ni, Sn, und Zn eluiert. Die Gefäße waren erst nach einer Vorreinigung verwendbar. Die Probengefäße wurden mehrere Tage mit 0,3%iger HNO_3 gefüllt stehen gelassen und anschließend gründlich mit deionisiertem Wasser gespült. Untersucht man die Blindwerte in den so gereinigten Gefäßen, so sind bei den Polystyrolgefäßen keine wesentlichen Blindwerteeinflüsse mehr registrierbar. Die Polypropylengefäße geben nach einmaliger Reinigung noch messbare Spuren von Zinn ab, die wahrscheinlich durch den Herstellungsprozess verursacht wurden (Weichmacher, Katalysatoren).

Für alle nachfolgenden Untersuchungen wurden mit 0,3%iger HNO_3 vorbehandelte und anschließend gespülte Polystyrolgefäße verwendet.

3.2. Optimierung der Probenverdünnung

Auch bei der Probenverdünnung müssen Kompromisse eingegangen werden. In den Blutplasmaproben sollen Elemente in unterschiedlichen Konzentrationsbereichen analysiert werden. Einige Elemente liegen im Bereich der gerätespezifischen Nachweisgrenzen vor (z.B. Co), andere sind in so hoher Konzentration enthalten, dass ein Messen in der unverdünnten Probe ausgeschlossen ist (z.B. Na). Hinzu kommt der hohe Anteil organischer Matrix durch ca. 7% Eiweißanteil im Plasma. Das bedeutet, die Verdünnung sollte so gering wie möglich gehalten werden, aber auch nicht so gering, dass das Analysensystem während des Messens zugesetzt wird.

In der Literatur wurde die Bestimmung von Metallspuren in Serum oder Blutplasma bereits von einigen Autoren beschrieben. Hier wurden Verdünnungsverhältnisse von 1:5 (Vanhoe, 1989; Barany, 1997), 1:10 (Keller, 1998; Forrer, 1998), 1:15 (Delves, 1997), 1:20-1:50 (Alimonti, 1997; Szpunar, 1997) je nach zu bestimmender Elementpalette und Art des Zerstäubers angewendet.

Für die vorliegenden Untersuchungen wurde ein Verdünnungsverhältnis von 1:10 verwendet. Eine geringere Verdünnung führt zu einer zu hohen Salz- und Matrixbelastung des Zerstäuber-Brennersystems sowie zu einem schnelleren Verschleiß von Sampler und Skimmer.

Bei einer höheren Verdünnung (1:20) wird die Reproduzierbarkeit innerhalb einer Messserie bei Elementen mit niedriger Intensität schlechter.

Neben der Wahl des Verdünnungsverhältnisses werden die unterschiedlichsten Verdünnungslösungen eingesetzt. Salzsäure, Schwefelsäure und Phosphorsäure sollten aufgrund ihrer enthaltenden Störelemente Chlor, Schwefel und Phosphor nicht eingesetzt werden. Deionisiertes Wasser wäre ein ideales Lösungsmittel, das bei einer gut funktionierenden Reinstwasseranlage den geringsten Chemikalienblindwert aufweist. Die in das ICP-MS eingetragene Probenlösung sollte jedoch aufgrund des Reinigungseffektes leicht sauer sein. Günstig und deshalb auch von vielen Anwendern eingesetzt (Vanhoe, 1989; Keller, 1998; Alimonti, 1997; Szpunar, 1997; Hsiung, 1997) ist hierfür eine verdünnte Salpetersäure, die keine zusätzlichen Elemente in das Messsystem einträgt (Stickstoff, Wasserstoff und Sauerstoff befinden bereits durch Wasser und Luft im System).

Getestet wurden in den Voruntersuchungen unterschiedliche Konzentrationen von Salzsäure, Salpetersäure (beide Suprapur von Merck), Essigsäure (Ultrapur von Merck) und Triton-X100 auf das Blindwertverhalten der gesamten Elementpalette.

Unter Verwendung von steigenden Salzsäurekonzentrationen wurden auch steigende Intensitäten für Aluminium, Kobalt und Mangan aufgrund von Verunreinigungen und Interferenzen beobachtet. Verwendet man verdünnte Salpetersäure als Verdünnungsmedium so sind erst ab Säuregehalten über 1% störende Verunreinigungen bei den Elementen Al, Mn, Ni, Sn zu beobachten.

4%ige Essigsäure wurde von Forrer (Forrer, 1998) als Verdünnungsmedium empfohlen, um einen Kohlenstoffüberschuss im Plasma zu erzeugen und Störungen aufgrund der Kohlenstoffmatrix durch einen ständigen Kohlenstoffüberschuss zu minimieren. Da die Essigsäure mit dem Reinheitsgrad Ultrapur nicht über ausreichende Spurenelementreinheit verfügte, war sie als Verdünnungsmittel für diese Untersuchungen nicht geeignet.

Triton-X100 wird als grenzflächenaktive Substanz zur Veränderung der Oberflächenspannung der Lösungen und Tropfen bei verschiedenen Analyseverfahren eingesetzt. Es verfügt über eine ausreichende Reinheit bei der Bestimmung der Ultrapurenelemente. Bei Zerstäubung von Plasmaproben mit und ohne Verwendung von Triton-X100 konnten jedoch keine Intensitätsunterschiede beobachtet werden. Das bedeutet, unter Verwendung von Triton-X100 wird die Tröpfchenzusammensetzung im Zerstäuber nicht verbessert. Auf den Einsatz von Triton-X100 kann demnach verzichtet werden.

Die Plasmaproben wurden mit einer 0,3%igen Salpetersäurelösung (Salpetersäure Suprapur von Merck) im Verhältnis 1:10 verdünnt.

3.3. Auswahl des internen Standards

Bei der Methode der ICP-MS ist es erforderlich, mit internen Standards zu arbeiten. Während großer Analysenserien von Probenlösungen mit hoher Salzkonzentration kann es zu Salzablagerungen an Zerstäuber, Brenner sowie Konen und damit zu Drifterscheinungen kommen. Um diese Drift oder Signalschwankungen aufgrund ungleichmäßiger Zerstäubung bei Proben hoher Viskosität zu korrigieren, wird jeder dem System zugeführten Lösung die gleiche Konzentration eines internen Standards zugegeben.

Bei der Auswahl eines geeigneten internen Standards muss darauf geachtet werden, dass dieser in keiner messbaren Konzentration in den zu bestimmenden Proben enthalten ist. Er darf keine Störungen der zu untersuchenden Elemente verursachen und ebenso durch die Probe nicht gestört werden.

Üblicherweise werden „seltene“, monoisotope Elemente mit relativ hoher Masse wie Sc, In, Rh verwendet.

Abb. 2 zeigt die Intensitäten des internen Standards Scandium innerhalb einer Messreihe mit fünf wässrigen Standards (Messung 1-5), 18 Blutplasma-Proben (Messung 6-23) und zwei Blindwerten (Messung 24 und 25) in laufender Folge.

Aus dieser Graphik ist zum einen eine Drift, die durch Zusetzen des ICP-Einlasssystems verursacht wird, durch stetig kleiner werdende Intensitäten erkennbar. Des Weiteren wird ein Intensitätssprung von den wässrigen Lösungen zu den Plasma-Proben deutlich. Intensitätserhöhung der Masse 45 für Scandium wird aufgrund von Störungen durch die Realproben verursacht.

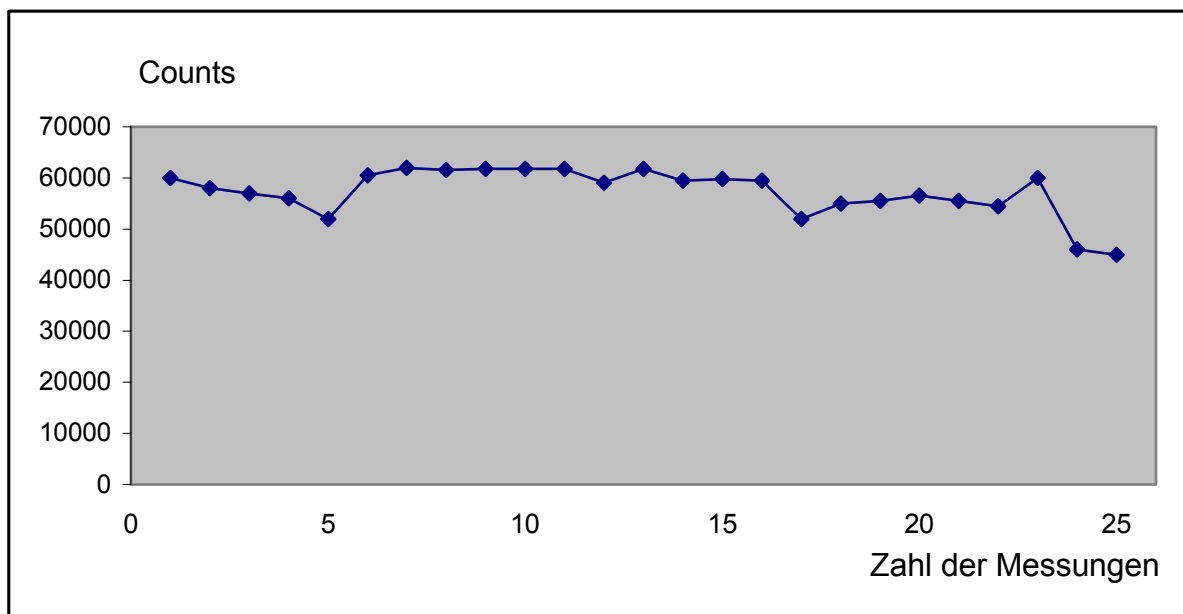


Abb. 2: Intensitäten (Counts) bei Verwendung von Scandium 45 als interner Standard innerhalb einer Messreihe

Ähnliche Ergebnisse wurden unter Verwendung von Indium als interner Standard erzielt.

Abb. 3 zeigt die relativ stabilen Intensitäten von Rhodium 103 innerhalb einer Messreihe. 200 µl einer 100 µg/l Rhodiuumlösung, durch Verdünnen eines speziellen ICP-Standards hergestellt, wurden zum Blindwert, den Standardlösungen und den Proben gegeben.

Zur Konzentrationsberechnung wurden nicht die Intensitäten abzüglich des Blindwertes sondern der Quotient aus Intensität für das jeweilige Element und der Intensität der Masse 103 (des internen Standards) eingesetzt.

Drifterscheinungen durch Zusetzen des Brenner-Zerstäuber-Systems oder Verkrusten von Sampler und Skimmer, die sich sowohl auf die Intensität der Messungen als auch des internen Standards bemerkbar machen, werden auf diese Weise automatisch korrigiert.

Voraussetzung dafür ist die korrekte Zugabe der gleichen Menge internen Standards in alle zu vermessenden Lösungen.

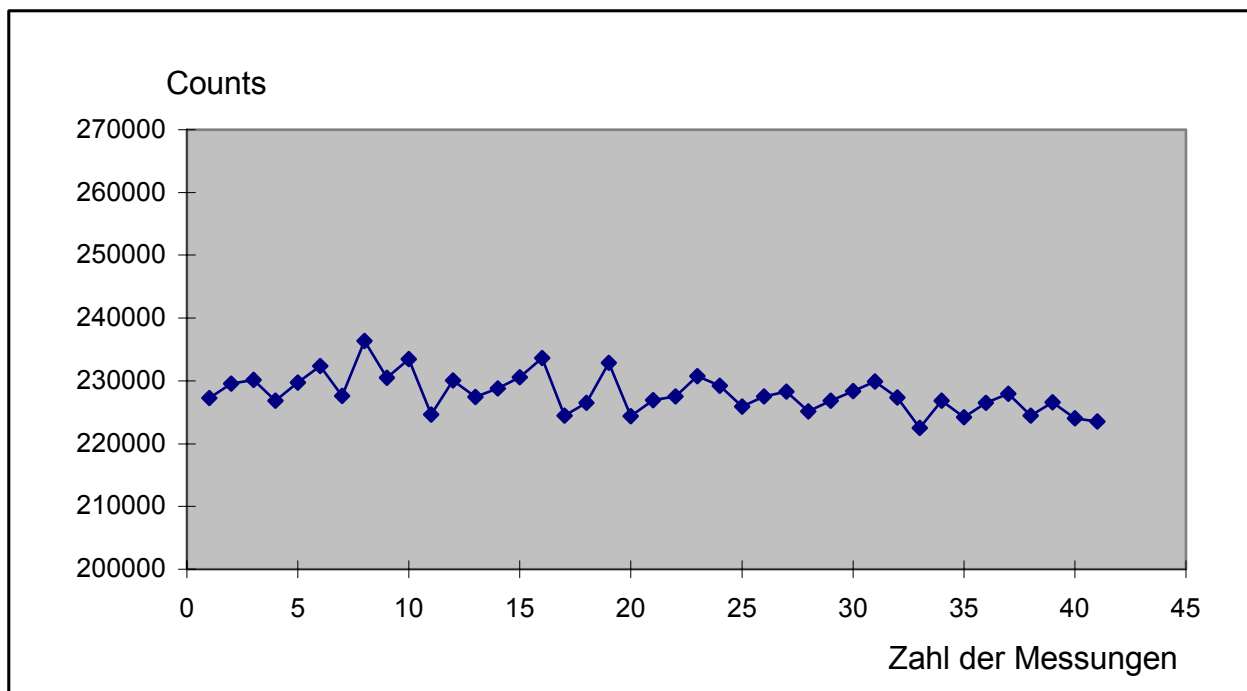


Abb. 3: Intensitäten (Counts) von Rhodium 103 als interner Standard innerhalb einer Messreihe.

3.4. Optimierung von Mess- und Spülzeiten

Die Dauer einer Messung mit einem ICP-Spektrometer ist abhängig von der Anzahl der zu messenden Ionen, der Beobachtungszeit jeder einzelnen Masse, auch Dwell-Time genannt, und der Anzahl der Wiederholmessungen. Es können bis zu 60 Massen in einem Lauf bestimmt werden. Dabei können mehrere Isotope eines Elements in einem Messzyklus bestimmt werden. Weitere Massen werden nur zur Korrektur von Störungen

miterfasst, ohne dass eine Kalibration und Konzentrationsbestimmung für das Element erfolgt. So wird z.B. ^{35}Cl nur zur Korrektur der Chloridstörung beim Element Mangan gemessen. ^7Li wird als sogenanntes Phantomion bei jeder Messung registriert, um die Trägheit des optischen Systems beim Sprung von der höchsten Masse ^{133}Cs zur niedrigsten Masse ^{24}Mg auszugleichen. Zusätzlich wird der interne Standard bei jeder Messung mit erfasst.

Die Dwell-Time ist die Zeit, die zur Messung jedes einzelnen Ions ausgewählt wird. Es wird eine Zeit von 50 ms empfohlen. Zur Optimierung der Messung vor allem der Elemente mit Konzentrationen im Serum im Bereich der Nachweisgrenze wurden Versuche mit veränderter Messzeit vorgenommen. Es wurden Zeiten von 10, 20, 50 und 100 ms gewählt und die Elemente Kobalt und Nickel untersucht. Die Signalhöhe ist von der Dwell-Time unabhängig. Die relative Standardabweichung sinkt mit zunehmender Zeit von 14% auf 6,5% bei 10 und 20 ms sowie auf 2,4% bei 50 ms. Bei noch höheren Zeiten verbessert sich die Reproduzierbarkeit nicht weiter.

Die Anzahl der Vergleichsmessung kann aufgrund der Stabilität des Systems gering gehalten werden. Die relativen Standardabweichungen liegen bei Doppelbestimmungen der Spurenelemente in Abhängigkeit von der Elementkonzentration bei 1-2%. Eine dritte Parallelmessung verändert den Mittelwert und dessen Vertrauensbereich nicht wesentlich, würde aber das System durch längere Probenzuführung unnötig belasten.

Unter Berücksichtigung der oben genannten Bedingungen ergibt sich eine Messzeit von ca. einer Minute.

Die Spülzeiten dürfen nicht zu kurz sein, da es zu Memorie-Effekten kommen kann, die bei einigen Elementen z.B. Iod bei Spülzeiten unter 60 s beobachtet wurden. Iod verweilt besonders lange im Schlauchsystem und bedarf einer speziellen Entfernung mit einer verdünnten Ammoniaklösung. Damit das Brenner-Zerstäubersystem ausreichend gereinigt wird, wurde zunächst 1 min lang mit 2%igem Ammoniak und anschließend eine weitere Minute mit 0,3%iger HNO_3 gespült. Um konstante Plasmabedingungen zu erhalten, ist es günstig, mit den Proben ähnlichen Lösungen zu spülen. Hier wurde die Verdünnungslösung auch als Spüllösung eingesetzt.

Vor Beginn der eigentlichen Messung wird die Delay-Time aktiv. Das bedeutet, es wird schon Probe angesaugt, aber noch nicht gemessen. Diese Zeit ist erforderlich, um die Probe durch die relativ langen Schlauchwege über den Zerstäuber in das Plasma zu transportieren. Nach ca. 1 min Delay-Time liegen stabile Verhältnisse im Plasma vor.

Rechnet man die Zeiten zusammen, so ergibt sich eine Probenansaugzeit von ca. 2 Minuten und damit ein Probedarft von 2,8 ml bei einer Ansaugrate von 1,4 ml/min.

Die Gesamtanalysenzeitzeit pro Probe, bestehend aus Delay-Time, Messzeit und Spülzeit, beträgt ca. 4 Minuten.

3.5. Kalibration

Die ICP-MS ist wie die meisten anderen Analysemethoden eine indirekte Methode. Das bedeutet, um Konzentrationen in unbekanntem Proben bestimmen zu können, müssen zunächst Standards bekannter Konzentration gemessen werden. Aus den erhaltenen Intensitäten und diesen Konzentrationen ist eine vorzugsweise lineare Funktion zu bilden. Diese ist Bezugsfunktion für die Konzentrationsberechnung.

Es sind mehrere Varianten für die Kalibration in der Gerätesoftware wählbar: die Standardkalibration, Standardaddition oder Additionskalibrierung.

Bei der Standardkalibration werden wässrige Standardlösungen gemessen. Die Bezugsfunktion verläuft durch den Wert der Blindlösung, im idealen Fall durch 0. Bei der Standardkalibration können lineare oder nichtlineare Funktionen als Bezugskurve berechnet werden.

Die Standardaddition ist die aufwendigste der 3 Kalibriermethoden. Neben Blindwert und Probenlösung werden für jede zu untersuchende Probe mindestens 2 durch Standards mit bekannter Konzentration aufgestockte Lösungen der gleichen Probe gemessen (siehe Abb. 4). Ergebnis ist eine Standardadditionskurve, die zwangsweise linear sein muss. Der Schnittpunkt dieser Funktion mit der Konzentrationsachse liegt im negativen Bereich. Der Betrag dieses Schnittpunktes entspricht der Konzentration des zu untersuchenden Elementes in der Probe.

Diese Kalibriermethode wird bei Probenserien mit Proben einer sehr uneinheitlichen Probenmatrix, die die Messung stark beeinflusst und bei denen der Einsatz der Standardkalibration nicht zu richtigen Ergebnissen führt, verwendet.

Bei der Additionskalibrierung werden genau wie bei der Standardaddition matrixhaltige Additionsstandards gemessen (siehe Abb. 4). Die daraus berechnete Funktion wird als Bezugskurve für die Bestimmung weiterer Proben verwendet. Rechenstechnisch wird die gesamte Funktion, die unbedingt linear sein muss, um den Konzentrationswert der Probe verschoben.

Die Additionskalibrierung kann nur für Probenserien mit Proben gleicher oder ähnlicher Zusammensetzung (wie z.B. Blut, Serum oder Plasma) verwendet werden.

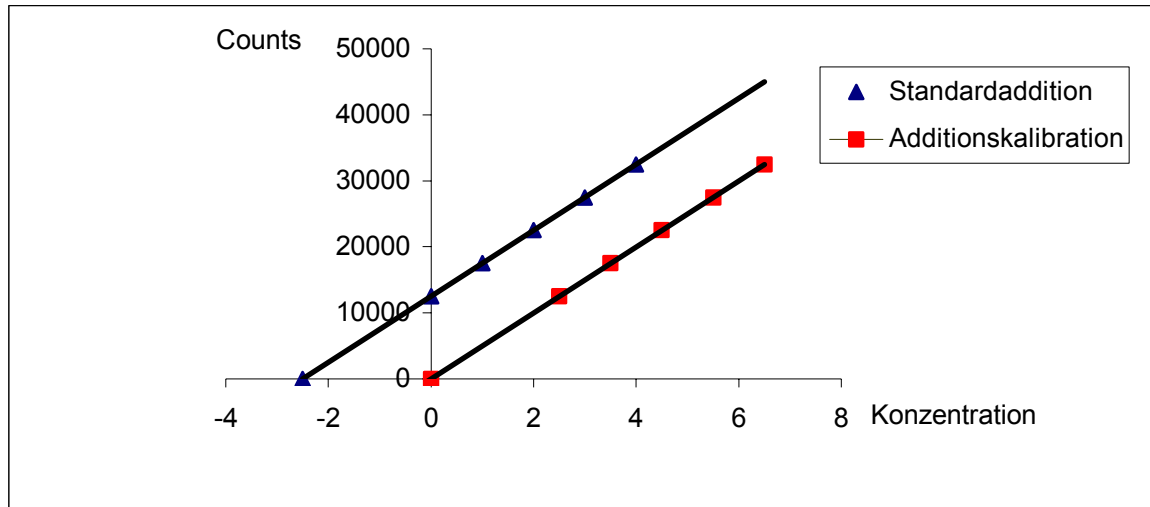


Abb. 4: Schematische Darstellung von Standardaddition und Additionskalibration

Für die Bestimmung von Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelementen im Blutplasma wurden die Standardkalibration und die Additionskalibration validiert. Dabei wurde die Richtigkeit der Messungen durch Qualitätskontrollmaterial überprüft. Die Konzentrationswerte einiger Elemente, die mit beiden Kalibrieremethoden ermittelt wurden, sind in Tabelle 3 zusammengestellt. Unter Verwendung der Standardkalibration werden - verglichen mit der Additionskalibration - wesentlich kleinere Werte (bis zu 18 % geringer) registriert, die z.T. erheblich von den Sollwerten abweichen.

Tab. 3: Konzentration einiger Elemente in Seronorm Qualitätskontrollmaterial bestimmt mit der Standardkalibration und Additionskalibrierung, im Vergleich dazu die Sollwerte, sowie die Differenz der Konzentrationen ermittelt mit Standardkalibration und Additionskalibration, angegeben in %

Element	Standardkalibration	Additionskalibration	Soll	Differenz in %
Al in $\mu\text{mol/l}$	1,95	2,37	2,50	-18
Cu in $\mu\text{mol/l}$	17,5	19,5	20,0	-10
I in $\mu\text{mol/l}$	0,36	0,42		-14
Mg in mmol/l	0,77	0,79	0,82	-3
Ca in mmol/l	2,02	2,17	2,20	-7
Zn in $\mu\text{mol/l}$	20,1	22,8	23,0	-12

Ursache kann eine unterschiedlich feine Zerstäubung oder ein abweichender Transport der verschiedenen Proben aufgrund der Viskositätsunterschiede sein. Die höherviskose Plasmaprobe weist demnach Verluste im Vergleich zur wässrigen Probe auf.

Für die Bestimmung der Mineralstoffe, Spuren- und Ultrapurenelemente im Blutplasma wurde die Additionskalibration als Kalibriermethode eingesetzt. Neben dem Chemikalienblindwert und dem Blutplasmablindwert wurden sieben Additionsstandards gemessen.

Die Messlösungen wurden nach folgendem Schema präpariert:

Blanc	400 µl deion. H ₂ O	400 µl deion. H ₂ O	200 µl Rh-IS	3 ml 0,3 %ige HNO ₃
Sample	400 µl Plasma	400 µl deion. H ₂ O	200 µl Rh-IS	3 ml 0,3 %ige HNO ₃
Add 1	400 µl Plasma	400 µl Standard 1	200 µl Rh-IS	3 ml 0,3 %ige HNO ₃
Add 2	400 µl Plasma	400 µl Standard 2	200 µl Rh-IS	3 ml 0,3 %ige HNO ₃
...				
Add 7	400 µl Plasma	400 µl Standard 7	200 µl Rh-IS	3 ml 0,3 %ige HNO ₃
Patient 1	400 µl Plasma	400 µl deion. H ₂ O	200 µl Rh-IS	3 ml 0,3 %ige HNO ₃
usw.				

Die Standards 1-4 dienten zur Kalibration der Spuren- und Ultrapurenelemente. Sie wurden aus ICP-Einelementstandards der Firma Alpha zusammengestellt. Da es aufgrund der niedrigen Konzentrationen zu Kontaminationen aus Gefäß- oder Pipettenmaterial oder auch aus der Luft kommen kann, wurden zur Sicherheit vier Spurenelementstandards gemessen. Die Standards 5-7 enthielten die Mengenelemente. Aufgrund der Kontaminationsgefahr für die Ultrapurenelemente der in hoher Konzentration vorliegender Mengenelemente, wurden die Standards getrennt gemessen. Da die Kontaminationsgefahr bei hohen Konzentrationen geringer ist, wurde die Kalibration der Mengenelemente auf drei Standards beschränkt.

Die Konzentrationen der Kalibrierstandards der einzelnen Elemente wurden aus den erwarteten Konzentrationswerten in der Literatur für die zu untersuchenden Elemente im Plasma von Normalpersonen und Dialysepatienten abgeschätzt. Der Bereich wurde so gewählt, dass auch bei den Dialysepatienten keine Bereichsüberschreitungen auftreten.

Die verwendeten Standards haben folgende Zusammensetzung (siehe Tabelle 4).

Tab. 4: Zusammensetzung der Kalibrierstandards

Element	Einheit	Std 1	Std 2	Std 3	Std 4	Std 5	Std 6	Std 7
Aluminium	µmol/l	0,37	0,74	1,85	3,7			
Kobalt	nmol/l	1,65	3,3	8,25	16,5			
Chrom	nmol/l	38,5	77	192,5	385			
Cäsium	nmol/l	3,76	7,52	18,8	37,6			
Kupfer	µmol/l	7,87	15,74	39,35	78,7			
Eisen	µmol/l	8,93	17,86	44,65	89,3			
Iod	µmol/l	0,155	0,310	0,775	1,55			
Mangan	nmol/l	18,18	36,36	90,9	181,8			
Nickel	nmol/l	16,95	33,9	84,75	169,5			
Rubidium	µmol/l	1,17	2,34	5,85	11,7			
Selen	µmol/l	0,253	0,506	1,265	2,53			
Silizium	µmol/l	14,3	28,6	71,5	143			
Zinn	nmol/l	2,52	5,04	12,6	25,2			
Zink	µmol/l	7,69	15,38	38,45	76,9			
Natrium	mmol/l					80	120	200
Kalium	mmol/l					2	4	8
Calcium	mmol/l					1	2	4
Magnesium	mmol/l					0,5	1	2

3.6. Störungen und mögliche Korrekturen

Durch die Additionskalibrierung können Störungen durch den Zerstäubungsprozess korrigiert werden, nicht aber die unter 2.3. beschriebenen Störungen durch Cluster oder Molekülonen, die additiver Art sind.

Aufgrund dieser Störungen werden zu hohe Konzentrationen bei den Elementen Kobalt, Eisen, Nickel, Mangan, Selen, Chrom und Silizium gefunden.

Es wurde versucht, diese Störungen zu bestimmen und über Korrekturgleichungen zu berechnen.

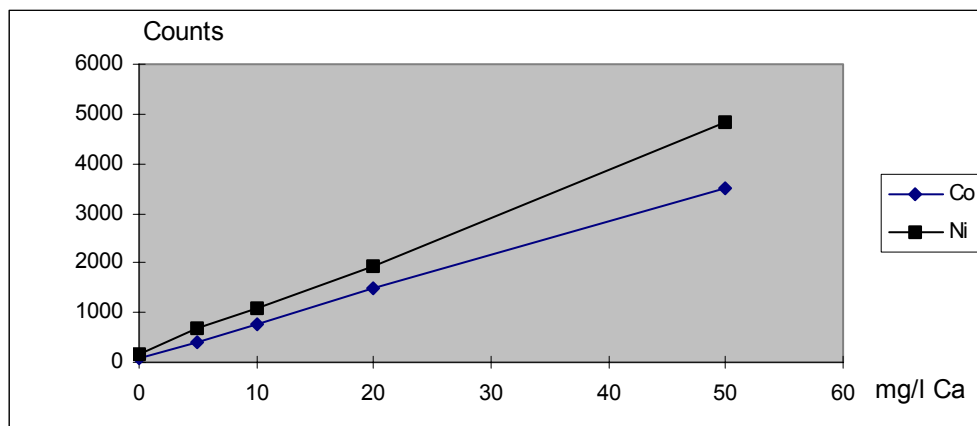
Neben den allgegenwärtigen Störungen durch Plasmagas, Lösungsmittel und Luft treten in Blutplasmaproben weitere Störungen vor allem durch hohe Konzentrationen an Kohlenstoff, Chlorid, Calcium und Schwefel auf.

In Tabelle 5 sind einige gestörte Elemente mit ihren zwei häufigsten Isotopen und den für die organische Matrix zu erwartenden Interferenzen zusammengestellt:

Tab. 5: Die häufigsten Isotope ausgewählter Elemente mit ihren Interferenzen

Element	Isotop	Häufigkeit	Interferenzen
Silizium	28	92%	N ₂ , CO
Silizium	29	5%	N ₂ , CO
Kalium	39	93%	ArH
Kalium	41	7%	ArH, CaH, MgO
Chrom	52	84%	SO, ArO, ArC, ArN, ClO, HClO
Chrom	53	9%	HSO, ArC, HClO, ClO
Mangan	55	100%	HClO, ArN, ClO
Eisen	56	92%	ArO, CaO, HClO
Eisen	54	6%	HClO, ArO, ArH
Kobalt	59	100%	CaO
Nickel	58	68%	Fe, CaO, ArO
Nickel	60	26%	CaO
Kupfer	63	69%	PO ₂
Kupfer	65	31%	PO ₂ , SO ₂ ,
Selen	80	50%	Ar ₂
Selen	78	24%	Ar ₂

Treten bei der Bestimmung eines Elementes Interferenzen auf, so kann man ein anderes nicht so häufiges Isotop für die Messung verwenden. Dadurch wird die Empfindlichkeit aufgrund der geringeren Häufigkeit niedriger. Meist ist jedoch auch dieses Isotop gestört. Es gibt auch Elemente (Co, Mn), die nur ein Isotop besitzen. Die Bestimmung der Elemente Kobalt und Nickel wird vor allem durch den hohen Anteil an Calcium beeinträchtigt. Der Einfluss von Ca kann durch eine Korrekturgleichung kompensiert werden.

**Abb. 5:** Co- und Ni- Intensitäten (Counts) in Abhängigkeit von der Calciumkonzentration

Reine ICP-Calciumstandards werden zu diesem Zweck gemessen und die Intensitäten auf den Massen für Kobalt, Nickel und Calcium ermittelt. Es ergibt sich ein linearer Zusammenhang zwischen Co- und Ni-Intensitäten und der Calciumkonzentration (siehe Abb. 5). Die Quotienten aus Calcium- und Kobalt- bzw. Nickelintensität werden an jedem Messtag zu Beginn der Messreihe ermittelt und in eine Korrekturgleichung übertragen und somit die Calciumstörung berechnet (Formel 8).

$$Co59_{corr.} = Co59 - Korrekturfaktor \cdot Ca43 \quad (\text{Formel 8})$$

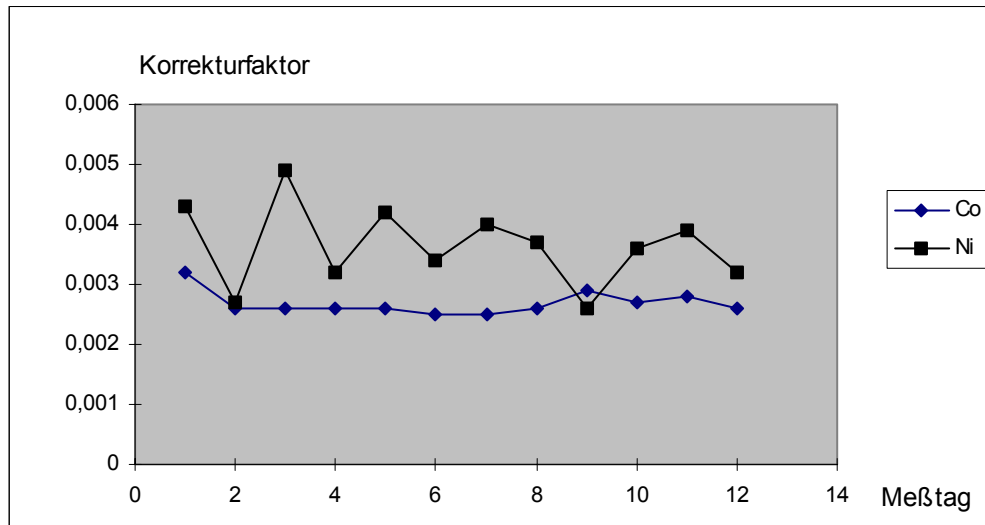


Abb. 6: Korrekturfaktoren für die Störung der Element Ni und Kobalt durch Calcium

Die Korrekturfaktoren (siehe Abb. 6) sind beim Element Kobalt relativ konstant, schwanken jedoch beim Element Nickel erheblich von einem zum anderen Messtag. Eine mögliche Ursache dafür kann die schwankende Oxydbildungsrate sein, die täglich neu auf einen möglichst geringen Wert optimiert wird.

Die durch die Gleichung (Formel 8) vorgenommene Korrektur führt beim Element Kobalt bei Qualitätskontrollproben zu richtigen Ergebnissen (4.1.4.). Bei der Kontrollgruppe werden überwiegend Konzentrationen im Bereich der Nachweisgrenze registriert.

Die **Nickel**bestimmung wird nicht nur durch das Element Calcium gestört. Hier treten auch durch Eisen und Argon Interferenzen auf (siehe Tabelle 5), die zu falschen Analyseergebnissen führen (siehe Richtigkeit 4.1.4.).

Für die Bestimmung von Nickel im Blutplasma ist die ICP-MS unter den vorhandenen Bedingungen nicht geeignet. Die Nickelkonzentrationen der folgenden Untersuchungen wurden mit der Atomabsorptionsspektrometrie bestimmt.

Die **Manganbestimmung** mit der ICP-MS wird hauptsächlich durch den hohen Chloridgehalt im Plasma gestört. Hier ist eine Korrektur mit verdünnter Salzsäure möglich. In den mit dem Element aufgestockten Qualitätskontrollproben sowie in den pathologisch hohen Dialyseplasmen wurden nach der Korrektur ähnliche Konzentrationen wie mit der AAS gemessen.

Neben der Chloridstörung tritt jedoch beim Element Mangan eine Störung durch ^{50}ArN auf, die bei Konzentrationswerten in der Nähe der Nachweisgrenze (bei Normalpersonen) zu deutlich höheren Werten als mit der AAS führt. Da sich die Argonstörung nicht ausreichend korrigieren lässt, ist auch für Mangan die Atomabsorptionsspektrometrie die Methode der Wahl.

Der **Eisengehalt** im Plasma ist mit der beschriebenen Methode der ICP-MS nicht bestimmbar. Aufgrund zahlreicher Interferenzen durch das Plasmagas Argon, durch Chlorid und Calcium im Blutplasma werden stets zu hohe Konzentrationen registriert. Da es sich um Störungen handelt, die auch durch die Standardaddition nicht korrigiert werden können, ist die AAS die Methode der Wahl für dieses Element.

Trägt man die mit der Atomabsorptionsspektrometrie ermittelten Eisenkonzentrationen gegen die mit ICP-MS bestimmten auf (Abb. 7), so ergibt sich folgende Geradengleichung:

$$C_{\text{ICP}} = -0,31 + 1,44 C_{\text{AAS}}$$

Das bedeutet, im Durchschnitt wird mit der ICP-MS fast 50% mehr Eisen gefunden als mit der AAS.

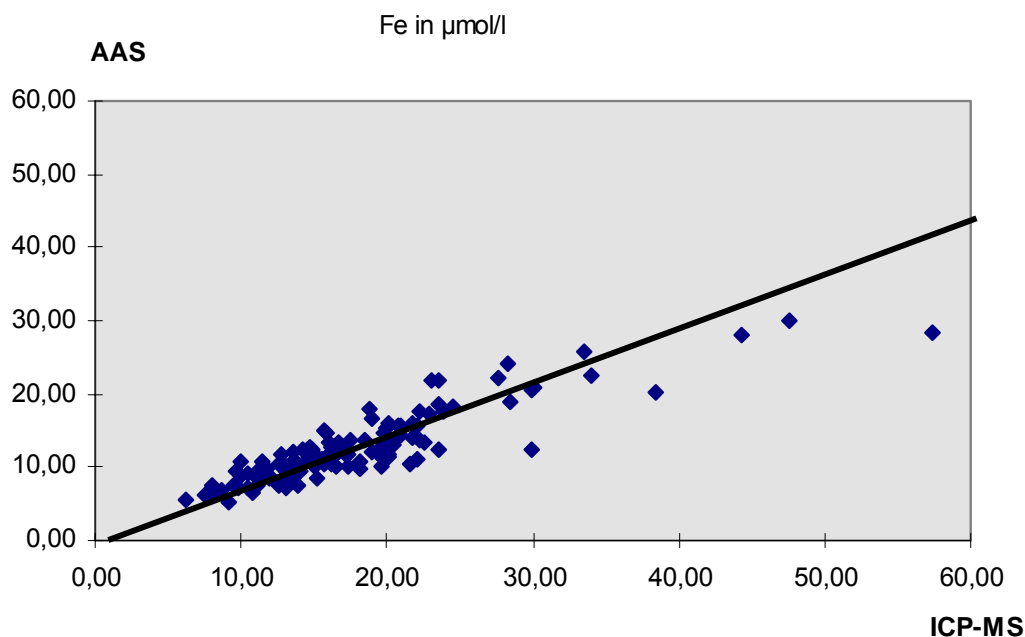


Abb. 7: Vergleich der Eisenkonzentration im Blutplasma bestimmt mit AAS und ICP-MS

Eine ähnliche Störung beobachtet man beim **Selen**. Auch die Selenkonzentrationen sind bei der Untersuchung von Realproben (Plasma) im Durchschnitt ca. 0,2 µmol/l zu hoch. Ungeklärt bleibt, warum die zertifizierten Konzentrationen in den Kontrollproben richtig nachgewiesen wurden. Kontrollmaterialien entsprechen in ihrer Zusammensetzung nicht korrekt den Realproben. Diesen fehlt vermutlich ein bedeutender Störfaktor, der Schwefel, der in Plasmaproben enthalten ist und der mit Sauerstoff das Molekül $^{34}\text{S}^{16}\text{O}_3$ mit der Massenzahl 82 bildet, welches wahrscheinlich Ursache für diesen Messfehler ist (Mestek, 1997). Ein matrixangepasster Blindwert wie 4%ige Essigsäure (Forrer, 1998) oder eine Lösung aus Na, Ca, K, und S, wie sie von Mahalingam (Mahalingam, 1997) beschrieben wurde, kann zur Korrektur der Störungen nicht eingesetzt werden, da durch die zugegebenen Chemikalien die Bestimmung der Ultrapurenelemente (Al, Co, Ni, Mn) durch Kontaminationen beeinträchtigt wird. Auch die Selenbestimmung wird somit mit der AAS durchgeführt.

Neben Eisen und Selen ist auch die Bestimmung von **Kalium** durch das Plasmagas Argon gestört. Trotz der hohen Gehalte an Kalium im Plasma ist die Richtigkeit bei der Analyse dieses Elementes mit dem Elan 6000 unter den gewählten Gerätebedingungen nicht gegeben. Im Kontrollmaterial Seronorm wurden niedrigere Konzentrationen als zertifiziert nachgewiesen (Elan 6000: $3,69 \pm 0,29$ mmol/l, zertifiziert: 4,05 mmol/l). Beim Vergleich von Realproben mit der Methode der ionenselektiven Potentiometrie wurden ebenfalls mit ICP-MS niedrigere Konzentrationen gefunden.

Die Konzentration von **Natrium** im Blutplasma ist so hoch, dass bei einer Verdünnung der Plasmaproben von 1:10 das Natriumsignal immer noch so hoch ist, dass es zu einem „Empfängerüberlauf“ kommt. Da Natrium nur über das eine Isotop ^{23}Na verfügt, ist es nicht möglich, auf ein anderes unempfindlicheres Isotop zu wechseln. Eine Bestimmung in einem anderen Verdünnungsverhältnis nur für das Element Natrium mit der ICP-MS wäre zu aufwendig.

Natrium kann ebenso wie Kalium sehr einfach mit einer ionenselektive Elektrode ohne Verdünnung direkt, schnell und richtig bestimmt werden (siehe auch Punkt 2.2.2.).

Es ist nicht möglich, die Elemente **Chrom** und **Silizium** im Blutplasma mit dem Elan 6000 quantitativ zu messen. Die Konzentrationen beider Elemente sind in den 1:10 verdünnten Plasmaproben bereits im Bereich der vom Gerätehersteller angegebenen Nachweisgrenzen. Desweiteren werden die Chrom- und Siliziumisotope durch Interferenzen (CO und N_2 bei Si und SO , ArC u.a. bei Cr) gestört. Die Intensitäten der Blindwerte für diese Isotope betragen ein Vielfaches der elementspezifischen Signale für die geringen Konzentrationen im Blutplasma von Gesunden.

3.7. Zusammenstellung der verwendeten Analysenparameter für die ICP-MS

Die Bestimmung der Elemente Aluminium, Kobalt, Kupfer, Cäsium, Iod, Rubidium, Zinn, Zink, Magnesium und Calcium in Blutplasma erfolgte für die vorliegenden Untersuchungen mit der Methode der ICP-MS.

Dazu wurden die Plasmaproben im Verhältnis 1:10 mit 0,3%iger HNO₃ verdünnt gegen matrixhaltige Kalibrierstandards mit der Methode der Additionskalibration gemessen. Zwischen den Standards und Proben wurde mit einer 2%igen Ammoniaklösung und 0,3%iger HNO₃ jeweils eine Minute lang gespült.

Die Untersuchungen wurden unter folgenden Gerätebedingungen durchgeführt:

Spektrometer	Elan 6000, Perkin Elmer
Zerstäuber	Cross Flow
Zerstäubergasfluss	0,9 l/min
ICP RF Power	1075
Interface	Nickel-Conen
Messmode	Peak hopping
Dwell Time	50 ms
Wiederholmessungen	2
Spülzeit	2 min

Als interner Standard wird zu jeder Probenlösung eine Rhodiumlösung pipettiert und das Isotop ¹⁰³Rh mitgemessen.

Die Konzentrationen wurden über die Programmsoftware des Elan 6000 automatisch berechnet und in Form einer Excel-Tabelle gespeichert.

4. Ergebnisse

4.1. Vergleich der verwendeten Analysemethoden AAS, ISE, ICP-MS

4.1.1. Nachweisgrenzen im Vergleich zu Referenzwerten im Blutplasma

In Tabelle 6 sind die Nachweisgrenzen (NWG) für die Bestimmung der Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelemente mit AAS und ICP-MS, sowie die Normalbereiche der Elemente im Plasma aus dieser Studie zusammengestellt. Die Nachweisgrenzen wurden nach der Blindwertmethode ermittelt. Der Einfluss der organischen Matrix (Additionskalibration) und die Verdünnungsfaktoren für die Plasmaproben sind bereits berücksichtigt. Die Elemente Fe, Cu, Zn, K, Ca, Mg wurden mit der Flammen-AAS bestimmt, Al, Cr, Mn, Ni, Se und Si mit der Graphitrohr-AAS.

Tab. 6: Nachweisgrenzen der mit ICP-MS und AAS bestimmten Elemente, im Vergleich zu den gemessenen Normalbereichen im Plasma

Element	NWG ICP-MS	NWG AAS	gemessene Normalbereiche
Al	0,009 µmol/l	0,09 µmol/l	0,02 – 0,60 µmol/l
Co	1,32 nmol/l	-	< NWG - 16,73 nmol/l
Cr	-	2,8 nmol/l	< NWG – 9,0 nmol/l
Cs	0,04 nmol/l	-	3,93 – 10,11 nmol/l
Cu	0,003 µmol/l	0,29 µmol/l	11,34 – 31,33 µmol/l
Fe	0,04 µmol/l	0,75 µmol/l	7,5 – 30,7 µmol/l
I	0,003 µmol/l	-	0,28 – 0,73 µmol/l
Mn	0,43 nmol/l	0,98 nmol/l	3,8 – 17,0 nmol/l
Ni	0,66 nmol/l	7 nmol/l	< NWG – 29,2 nmol/l
Rb	0,0003 µmol/l	-	1,24 – 2,87 µmol/l
Se	0,01 µmol/l	0,03 µmol/l	0,78 – 1,34 µmol/l
Si	-	0,54 µmol/l	4,39 – 15,82 µmol/l
Sn	0,61 nmol/l	-	0,31 – 14,34 nmol/l
Zn	0,005 µmol/l	0,37 µmol/l	11,31 – 18,57 µmol/l
Ca	0,0015 mmol/l	5 µmol/l	2,16 – 2,59 mmol/l
Mg	0,02 µmol/l	4 µmol/l	0,74 – 0,98 mmol/l

Die Nachweisgrenzen der in den vorliegenden Untersuchungen verwendeten Analyseverfahren sind „fett“ hervorgehoben.

Obwohl die Nachweisgrenze der ICP-MS zum Teil deutlich niedriger ist als die der AAS, sagt diese nichts über die Höhe der Störungen aus, die bei dieser Methode eine Analyse im biologischen Probenmaterial nicht gestattet (z.B. Eisen, Nickel). Ein Vergleich der

Nachweisgrenzen mit den gemessenen Normalbereichen für die o.g. Elemente zeigt jedoch, dass das Nachweisvermögen der AAS für diese Untersuchungen ausreichend ist.

Die Blindwertmethode zur Bestimmung der Nachweisgrenzen ist für die Untersuchung einer großen Anzahl von Analyseparametern im Vergleich zur Kalibriergeradenmethode einfacher zu handhaben (siehe Punkt 2.3.2.).

Ein Vergleich beider Methoden (siehe Tabelle 7) mit einer Auswahl von 3 Elementen gemessen mit der ICP-MS ergab, dass sich die ermittelten Nachweisgrenzen nicht signifikant voneinander unterscheiden.

Tab. 7: Nachweisgrenzen für die Cs-, Cu- und Rb- Bestimmung mit ICP-MS - ermittelt mit der Blindwertmethode und der Kalibriergeradenmethode

Element	NWG-Blindwertmethode	NWG-Kalibriergeradenmethode
Cs	0,043 nmol/l	0,050 nmol/l
Cu	2,77 nmol/l	3,20 nmol/l
Rb	0,32 nmol/l	0,29 nmol/l

4.1.2. Serielle Präzision

Zur Ermittlung der seriellen Präzision wurden die Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelemente 21 mal nacheinander bestimmt und die Präzision in % nach den Formeln 3 und 6 berechnet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 8 zusammengefasst:

4.1.3. Tag-zu-Tag-Präzision

Zur Berechnung der Tag-zu-Tag-Präzision wurde eine bestimmte Plasmaprobe (Hauskontrolle) in jeder Messserie analysiert und die relative Standardabweichung der Einzeldaten errechnet (Tabelle 9).

Da in den Fehler auch die täglichen Abweichungen durch die Analysenbedingungen (Geräteoptimierung, Kalibrierung, manuelle Fehler) eingehen, ist die Tag-zu-Tag-Präzision meist niedriger als die serielle Präzision.

Tab. 8: Serielle Präzision für die Bestimmung von Mengen-, Spuren- und Ultrapurenelementen im Plasma, angegeben als relative Standardabweichung

Element	Serielle Präzision in %
Al 28 (ICP-MS)	10,5
Cr (AAS)	3,9
Cs 133 (ICP-MS)	6,2
Cu 65 (ICP-MS)	1,7
Fe (AAS)	4,5
I 127 (ICP-MS)	6,3
Mn (AAS)	10,0
Ni (AAS)	5,0
Rb 85 (ICP-MS)	4,0
Se (AAS)	4,8
Si (AAS)	2,6
Sn 118 (ICP-MS)	9,7
Zn 65 (ICP-MS)	6,7
Ca 44 (ICP-MS)	1,2
Mg 24 (ICP-MS)	1,0
Na (ISE)	0,5
K (ISE)	0,7

Aufgrund der niedrigen Elementkonzentrationen im verwendeten Plasma eines Blutspenders ist die Präzision bei einigen Elementen (Aluminium, Iod, Zinn, Silizium) relativ hoch.

Da die Kobaltkonzentration in dem verwendeten Plasma unterhalb der Nachweisgrenze liegt, können bei diesem Element keine Angaben über die Präzision gemacht werden.

Tab. 9: Tag-zu-Tag-Präzision für die Bestimmung von Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelementen im Plasma, angegeben als relative Standardabweichung

Element	Tag-zu-Tag Präzision in %
Al 28 (ICP-MS)	13,5
Cr (AAS)	4,4
Cs 133 (ICP-MS)	5,2
Cu 65 (ICP-MS)	3,5
Fe (AAS)	4,6
I 127 (ICP-MS)	9,5
Mn (AAS)	5,3
Ni (AAS)	5,3
Rb 85 (ICP-MS)	7,0
Se (AAS)	4,1
Si (AAS)	10,0
Sn 118 (ICP-MS)	12,0
Zn 65 (ICP-MS)	7,9
Ca 44 (ICP-MS)	5,8
Mg 24 (ICP-MS)	4,7
Na (ISE)	1,3
K (ISE)	1,2

4.1.4. Richtigkeit

Die Richtigkeit der Analysen wurde anhand von zertifiziertem Kontrollmaterial und Ringversuchsproben bestimmt.

Es stehen nicht für alle der untersuchten Elemente Kontrollmaterialien zur Verfügung. Für die Elemente Silizium und Iod konnte nur die Präzision getestet werden. Die Iodkonzentration in der verwendeten Hauskontrolle wurde in einem anderen Labor parallel gemessen. Beide Ergebnisse waren vergleichbar.

In den Tabellen 10 bis 12 sind die Ergebnisse der Richtigkeitsbestimmung zusammengetragen.

Die mit dem Elan 6000 ermittelte Nickelkonzentration in der Ringversuchsprobe 22 (in Tab. 11 „fett“ hervorgehoben) ist höher als der obere Grenzwert und erfüllt somit nicht die geforderte Richtigkeit.

Tab. 10: Richtigkeit, untersucht an Seronorm Trace Elements Serum
(**) Sollwerte ermittelt durch das Forschungszentrum Jülich

Element	Zertifiziert	Elan 6000	Wiederfindung
Aluminium	2,5 µmol/l	2,37 ± 0,2 µmol/l	94,8 %
Calcium	2,2 mmol/l	2,17 ± 0,17 mmol/l	98,6%
Kupfer	20,0 µmol/l	19,5 ± 0,4 µmol/l	97,5 %
Magnesium	0,82 mmol/l	0,79 ± 0,05 mmol/l	96,3 %
Zink	23 µmol/l	22,8 ± 0,9 µmol/l	99,1 %
Cs(**)	0,28 - 0,38 nmol/l	0,15 ± 0,10 nmol/l	
Rb(**)	56 - 58 nmol/l	54 ± 3,3 nmol/l	

Tab.11: Ringversuch 1/2000 (Serum, INSTAND)

Zielwert, unterer und oberer Grenzwert, Konzentrationen mit Elan 6000 und AAS 5 ermittelt, Wiederfindung in %

Probe 21	Zielwert	untere Grenze	obere Grenze	ELAN 6000	Wiederfindung %	AAS 5	Wiederfindung %
Al µmol/l	2,67	1,71	3,63	2,68	100,4	2,97	111,2
Co nmol/l	50,5	32,2	68,8	51,5	102,0		
Cu µmol/l	13,8	8,83	18,8	13,4	97,1	14	101,4
Mn nmol/l	98,9	63,3	134,5	103,8	105,0	98,9	100,0
Ni nmol/l	100	63,9	136,1	69,1	69,1	82,7	82,7
Se µmol/l	1,94	1,24	2,65	1,88	96,9	1,81	93,3
Sn nmol/l	184	117	279	175,2	95,2		
Zn µmol/l	14	8,9	19,1	14,3	102,1	14,3	102,1
Fe µmol/l	29	18,5	39,4	30,7	105,9	27,3	94,1
Probe 22	Zielwert	untere Grenze	obere Grenze	ELAN 6000	Wiederfindung %	AAS 5	Wiederfindung %
Al µmol/l	1,59	1,02	2,17	1,6	100,6	1,36	85,5
Co nmol/l	23,7	15,1	32,4	20,9	88,2		
Cu µmol/l	25,1	16	35	25,7	102,4	25,2	100,4
Mn nmol/l	55,5	35,5	75,5	52,5	94,6	56	100,9
Ni nmol/l	156	100	214	223,6 f	143,3	127	81,4
Se µmol/l	0,97	0,62	1,33	1,04	107,2	0,92	94,8
Sn nmol/l	696	445	950	711	102,2		
Zn µmol/l	25,2	16	34,5	27,8	110,3	25,5	101,2
Fe µmol/l	45,5	29	61,9	47,6	104,6	36,2	79,6

Tab. 12: Richtigkeit der Bestimmung der Elemente Natrium und Kalium mit ionenselektiven Elektroden mit dem Kontrollmaterial Kontrolllogen L und LP der Firma Dade Behring

Element	zertifiziert	gemessen	Wiederfindung
Natrium (L)	139,0 mmol/l	140,6 ± 1,2 mmol/l	101,2 %
Natrium (LP)	162,0 mmol/l	161,3 ± 1,8 mmol/l	99,6 %
Kalium (L)	3,93 mmol/l	4,05 ± 0,03 mmol/l	103,0 %
Kalium (LP)	6,51 mmol/l	5,99 ± 0,06 mmol/l	92,0 %

4.1.5. Analysenzeit

Die Analysenzeit ist bei den drei verwendeten Analysemethoden sehr unterschiedlich. Bei der Atomabsorption muss man zudem zwischen der Flammen- und Graphitrohr-AAS unterscheiden.

In die Analysenzeit gehen neben der reinen Messzeit auch Spülzeiten und Justierzeiten ein.

Die Zeiten, die für die Probenvorbereitung und Probenverdünnung benötigt werden, sind in der folgenden Aufstellung nicht berücksichtigt.

Ein Messtag am Elan 6000 beginnt mit dem Zünden der Fackel und ca. 15 minütigem „Einbrennen“ des Argonplasmas. Es folgen ca. 30 min Justage und Spülen, danach die Standardaddition mit Blindwert, sieben Standards und der Kalibrierprobe. Nach 10 min Spülen können im Abstand von jeweils 4 min die vier Kontrollen und anschließend die Proben gemessen werden. Nach jeweils 10 Proben empfiehlt sich ein Spülen von 10 min mit 5%iger Salpetersäure, nach 20 Proben eine Richtigkeitskontrolle. Nach Beendigung der Messreihe muss nochmals mindestens 30 min lang gespült werden.

Innerhalb von sechs Stunden können etwa 40 Plasmaproben analysiert werden. In diesen Proben werden 10 Elemente bestimmt.

Bezieht man die Gesamtzeit auf die Summe der Messergebnisse, so berechnet sich eine Analysenzeit von 0,9 Minuten pro Messwert.

Das Flammen-AAS muss vor dem Messstart nach Zünden der Flamme ca. 10 min gespült werden. Es werden der Blindwert und je nach Element 4-5 Kalibrierstandards durch Doppelbestimmung gemessen. Nachdem die Kalibrierkurve berechnet wurde, können vier Richtigkeitskontrollen sowie die Plasmaproben analysiert werden. Jeweils nach 20 Proben erfolgt eine 2-Punktreakalibrierung (Blindwert und Rekalibrierstandard). Eine Messung mit anschließender Spülung des Brenner-Zerstäuber-Systems dauert etwa 30 s. Mit dem AAS kann zur Zeit jeweils nur ein Element analysiert werden.

Bei einer Serie von 40 Proben ergibt sich eine Gesamtzeit von 42 min und eine Analysenzeit von ca. 1 min pro Messwert. Diese Zeit verringert sich bei noch größeren Probenreihen und beträgt bei einer Serie von 60 Proben nur noch 0,9 min.

Die Graphitrohr-AAS ist die zeitaufwendigste Analysenmethode. Ein Messzyklus dauert durch die langsame Trocknung und Vorbehandlung der Proben im Graphitrohr etwa 2,5 min. Da die Ultraspurenbestimmung sehr empfindlich gegen Kontaminationen ist, ist eine Doppelbestimmung unbedingt erforderlich.

Die Messreihe wird durch den Probengeber limitiert. Nach der Analyse der Kontrollproben können nur noch 30 Proben gemessen werden.

Nachdem das Graphitrohr formiert wurde, werden die Standardadditionskurve (Blindwert, Plasma und vier Zugaben), vier Kontrollen und 30 Proben gemessen. Der gesamte Zyklus dauert 200 Minuten. Pro Einzelergebnis werden demnach 6,7 Minuten benötigt.

Die Methode der ionenselektiven Potentiometrie ist sehr einfach zu handhaben.

Die Kalibration erfolgt automatisch mit fertigen Standardlösungen. Sie dauert ca. 15 min. Die Zuführung von Kontrollen und Plasmaproben lässt sich jedoch mit dem „Microlyte“ nicht automatisieren und erfolgt somit manuell.

Nachdem zwei Kontrollproben gemessen wurden, können die Plasmaproben analysiert werden. Ein Analysenzyklus dauert zwei Minuten. Die Konzentrationen der gewünschten Ionen (Natrium und Kalium) werden parallel gemessen und gleichzeitig über den Drucker ausgegeben. Auch hier sind große Messserien anzustreben. Bei einer Serie von 40 Proben errechnet sich eine Messzeit von 1,2 min pro ausgegebener Konzentration.

4.1.6. Analysenkosten

Die Analysenkosten lassen sich sehr schwer kalkulieren. In diese Kosten gehen die Anschaffungskosten der Geräte, die Kosten für Wartung und Reparaturen, Personalkosten sowie die laufenden Kosten für das Verbrauchsmaterial (Chemikalien, Gas, Graphitrohre) ein.

Die Kosten für die Gerätebeschaffung sowie Reparaturen sind für das ICP-MS am höchsten, für die ISE am geringsten.

An dieser Stelle sollen nur die laufenden Kosten betrachtet werden, die ins Gewicht fallen. Das sind bei der ICP-MS die Kosten für das Schutzgas Argon, bei der Flammen-AAS das Brenngas Acetylen, bei der Graphitrohr-AAS das Schutzgas Argon sowie Graphitrohre und bei der ISE die Kosten für die Reagenzien. Die Reagenzienkosten sind für die AAS und ICP-MS geringfügig.

Der Argonverbrauch ist bei der ICP-MS hoch. Eine 40 l Druckgasflasche (56 €) wird pro Messtag benötigt. Das entspräche laufenden Kosten von 14 Cent pro Messwert.

Bei der Graphitrohr-AAS ergeben sich laufende Kosten durch den Verbrauch der Graphitrohre. Bei einer mittleren Lebensdauer von 500 Aufheizzyklen eines 50 € teuren Rohres ergeben sich unter Berücksichtigung der Doppelbestimmung für jede Probe, Kalibration und Richtigkeitskontrollen Kosten von 27 Cent pro Messwert. Hinzu kommen geringfügige Kosten für den Argonverbrauch.

Die laufenden Kosten für die Flammen-AAS sind am geringsten und ergeben sich aus dem Acetylen-Verbrauch für die Flamme. Mit einer Druckgasflasche Acetylen (ca. 100 €) kann etwa 100 h gemessen werden. Damit entstehen Kosten von ca. 2 Cent pro Messung.

Die höchsten Analysenkosten bei geringsten Anschaffungskosten hat die ISE durch den Chemikalienverbrauch. Ein Satz Kalibrier- und Spüllösung zu 450 € reicht für etwa 300 Messzyklen. Das entsprechen 75 Cent pro gemessenem Element.

4.1.7. Probenverbrauch

Bei der Analyse von Blutproben ist das Probenvolumen eingeschränkt. Für die Untersuchung der 18 Elemente stand ein Volumen von 4 ml Plasma zur Verfügung.

Die Probenverdünnung für die Messung der 10 Elemente am ICP-MS erfolgte mit 400 µl Plasma.

Für die Eisenbestimmung mit der Flammen-AAS werden 500 µl Plasma, für die Bestimmung von Chrom, Mangan, Nickel, Selen und Silizium mit der Graphitrohr-AAS je 200 µl benötigt.

Der Probenbedarf für die Parallelbestimmung von Natrium und Kalium mit der ISE beläuft sich auf 200 µl. In der Summe werden für alle Untersuchungen nur 2,1 ml Probenmaterial benötigt.

Tab. 13: Zusammenfassung von Analysenzeit, Analysenkosten und Probenverbrauch der verwendeten Analysenmethoden

Methode	Zeit/Messwert	laufende Kosten/Messwert	Probenverbrauch
ICP-MS	0,9 min	14 Cent	40 µl / Element
Flammen-AAS	1,0 min	1,7 Cent	500 µl / Element
Graphitrohr-AAS	6,7 min	27 Cent	200 µl / Element
ISE	1,2 min	75 Cent	100 µl / Element

Vergleicht man Analysenzeit, laufende Analysenkosten und Probenverbrauch der verwendeten Analysenmethode untereinander (siehe Tabelle 13), so zeigt sich die ICP-MS abgesehen von ihren hohen Anschaffungskosten als schnellste Analysenmethode mit dem geringstem Probenverbrauch bei vertretbaren laufenden Analysenkosten.

Sehr zeitaufwendig ist dagegen die Graphitrohr-AAS, auf die aber wegen des guten Nachweisvermögens und der geringen Störanfälligkeit der Messung nicht verzichtet werden kann.

Die laufenden Kosten sind bei der ISE aufgrund der Kosten für die Chemikalien am höchsten.

4.1.8. Mittelwerte und Standardabweichungen für die untersuchten Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelemente im Blutplasma der 4 Probandengruppen

Die Darstellung der Messergebnisse erfolgt übersichtlich mit Hilfe der „Box-Whisker-Plots“ (Abb. 8a-e) für jeweils ein Element gemessen in den Plasmaproben der einzelnen Probandengruppen. Die Messwerte für die Blutabnahme vor und nach der Dialyse wurden getrennt untersucht.

Zur Datenauswertung wurde die Mittelwertdarstellung gewählt, da die Konzentrationen für die meisten Elemente normalverteilt sind.

Das kleine Quadrat im Zentrum der „Box“ gibt den Mittelwert an. Die Größe der „Box“ ergibt sich aus dem Standardfehler, d.h. dem Fehler des Mittelwertes. Der „Whisker“ (Linie mit oberer und unterer Begrenzung) zeigt die Standardabweichung. Ausreißer sind durch Punkte außerhalb des „Whiskers“ gekennzeichnet (Statistika, Handbuch).

In dieser Darstellung sind Konzentrationsunterschiede der Gruppen untereinander durch Lage des Mittelwertes sowie die Größe der Streubreite der Konzentrationen innerhalb der einzelnen Gruppen anhand der Größe des „Whiskers“ schnell überschaubar.

So ist beispielsweise für das Spurenelement Kupfer in Abb. 8b eine relativ geringe Abweichung der fünf Mittelwerte und eine ähnliche Streubreite der Werte für alle Probandengruppe zu beobachten.

Andere Ergebnisse sind in der Abb. 8d und 8e für die Ultraspurenelemente zu erkennen. Sowohl die Mittelwerte als auch die Streubreiten für die Elemente Chrom, Kobalt, Nickel und Zinn sind bei den Dialysepatienten deutlich höher als bei den übrigen Probandengruppen.

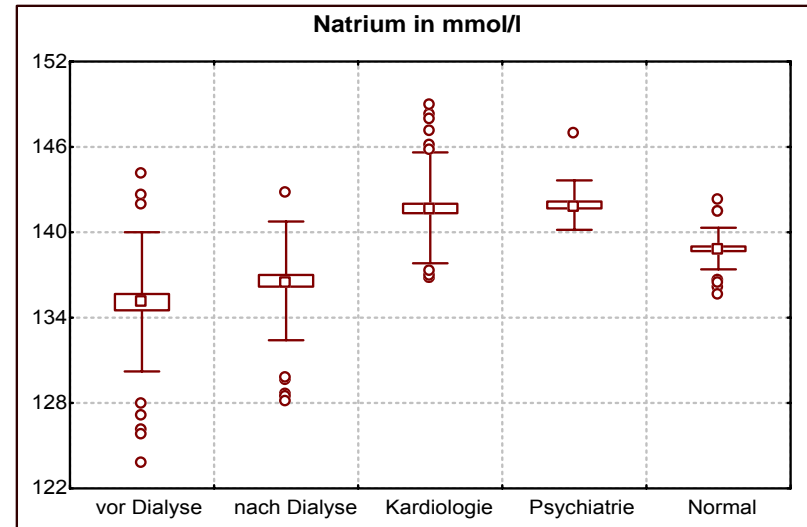
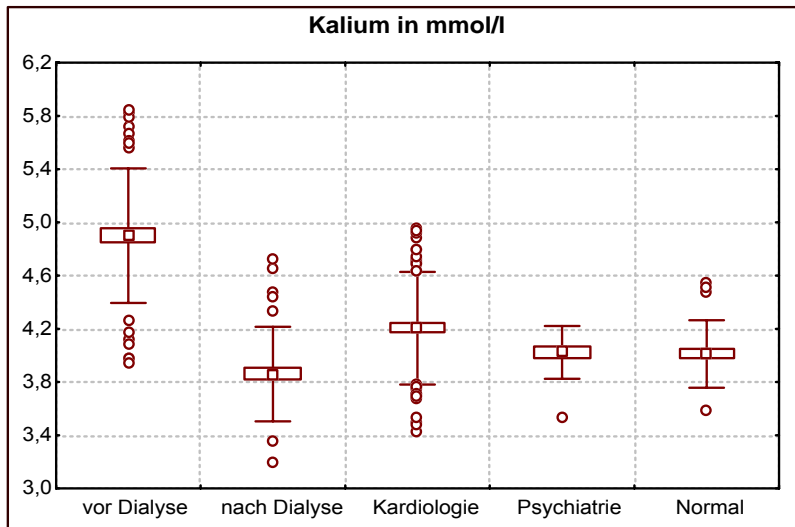
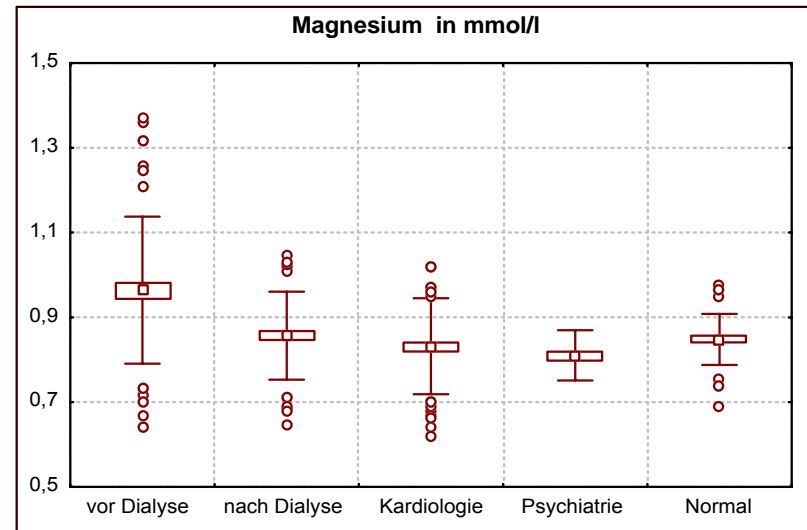
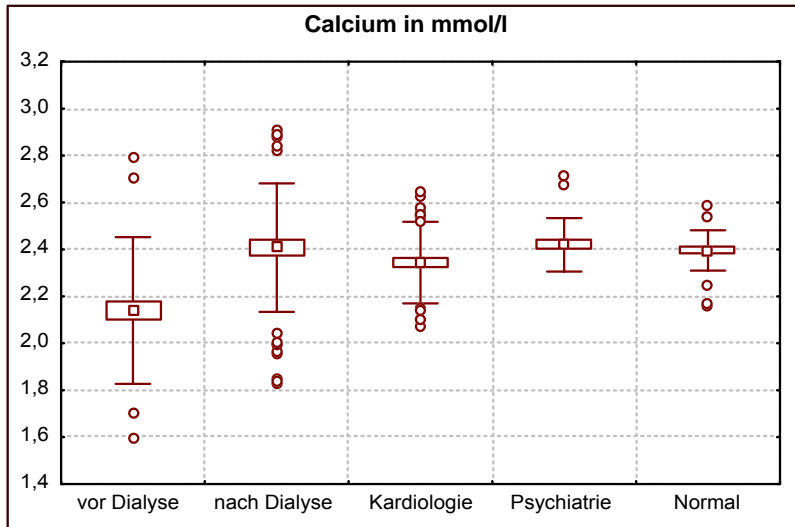


Abb. 8a: Box-Whisker-Plots für die Konzentrationen der Mengenelemente Ca, Mg, K und Na im Plasma der einzelnen Probandengruppen

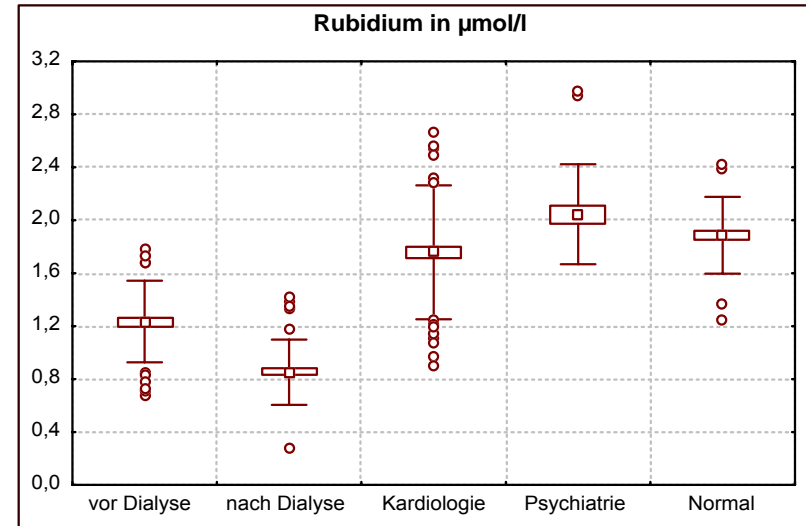
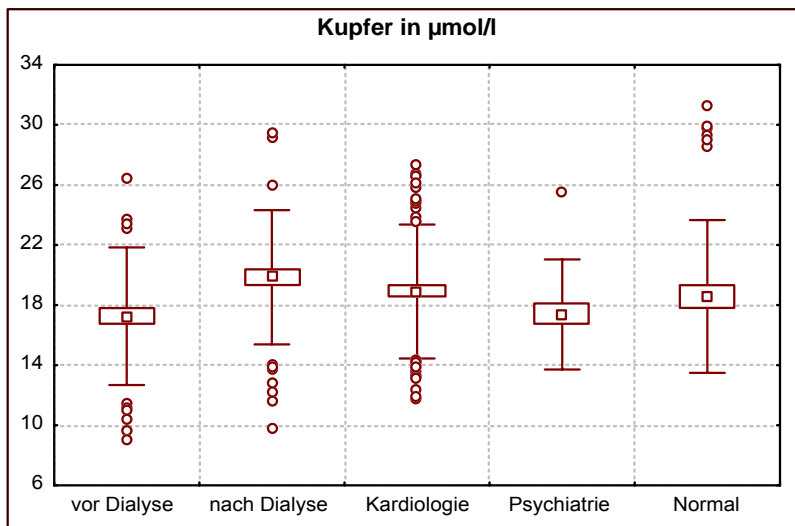
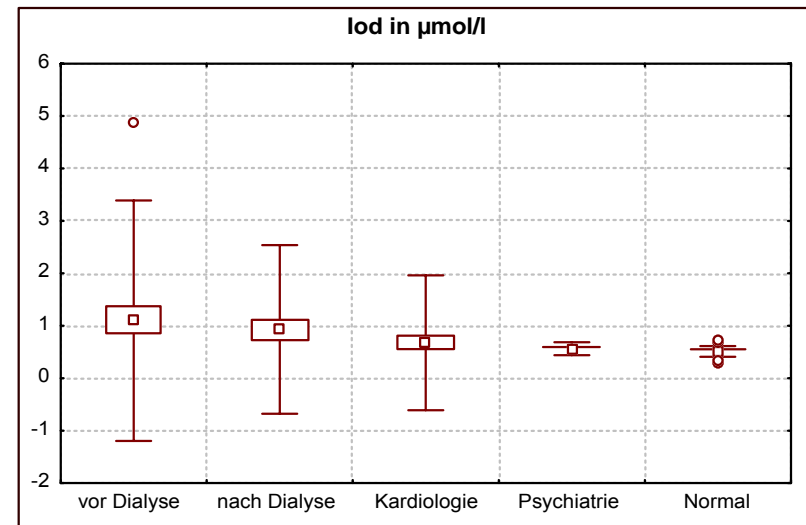
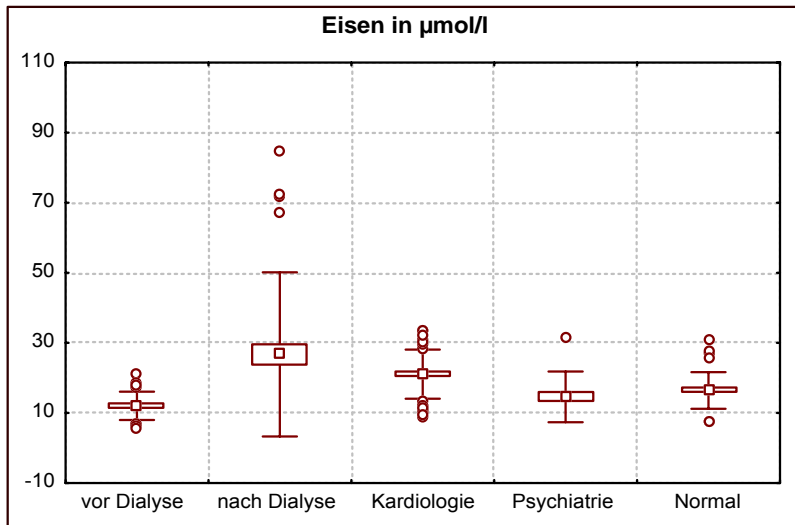


Abb. 8b: Box-Whisker-Plots für die Konzentrationen der Spurenelemente Fe, I, Cu, Rb im Plasma der einzelnen Probandengruppen

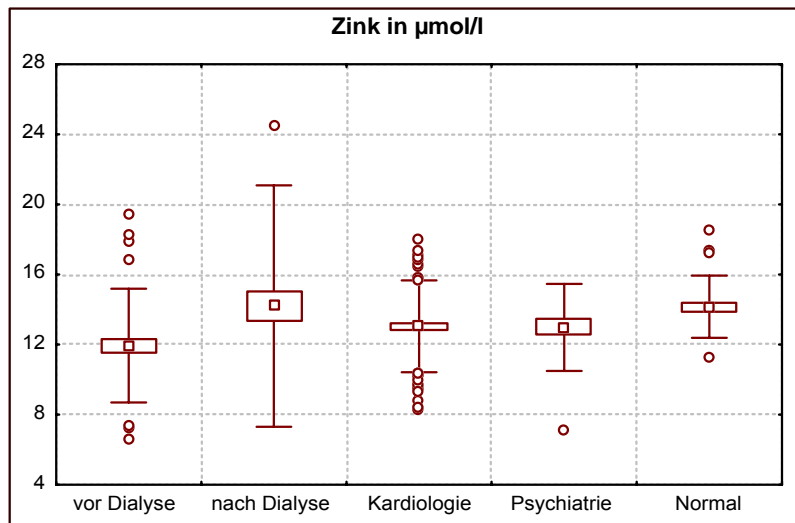
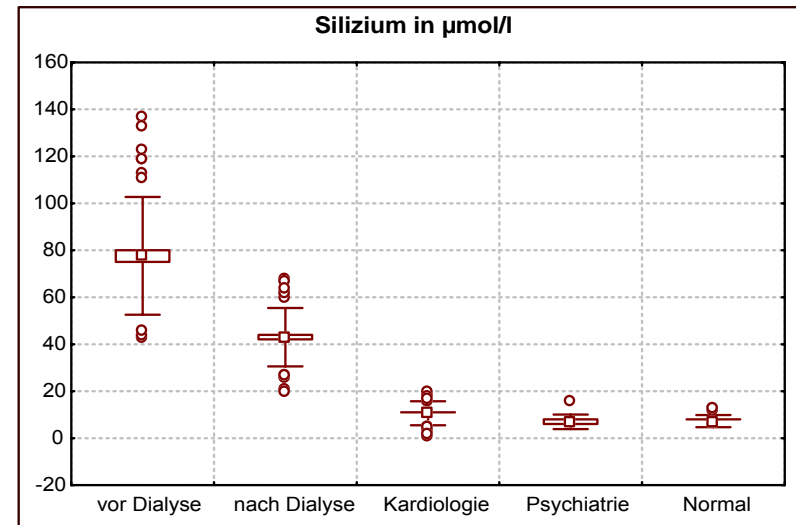
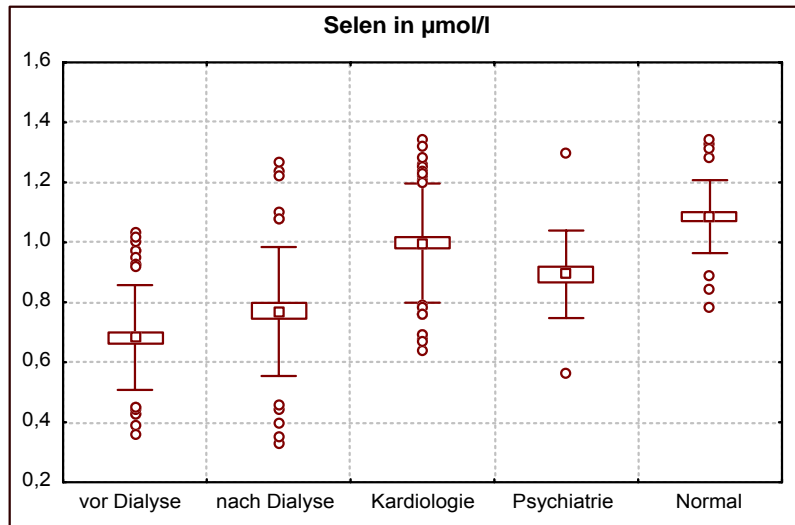


Abb. 8c: Box-Whisker-Plots für die Konzentrationen der Spurenelemente Se, Si und Zn im Plasma der einzelnen Probandengruppen

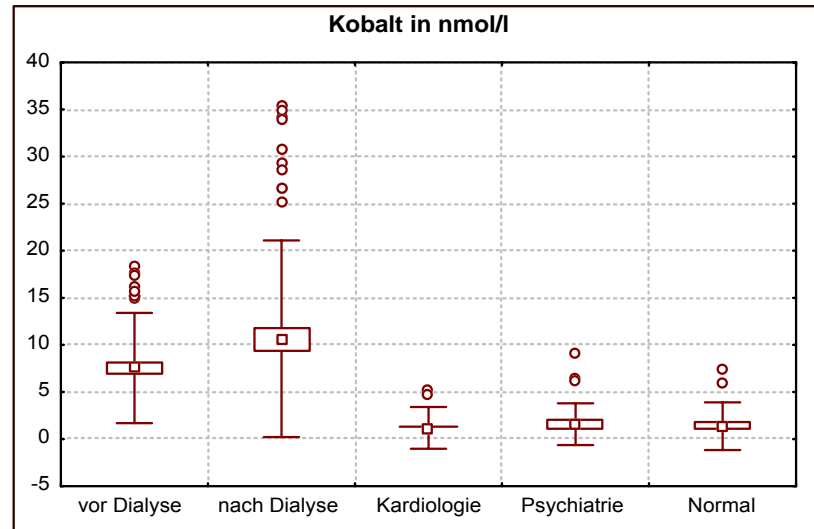
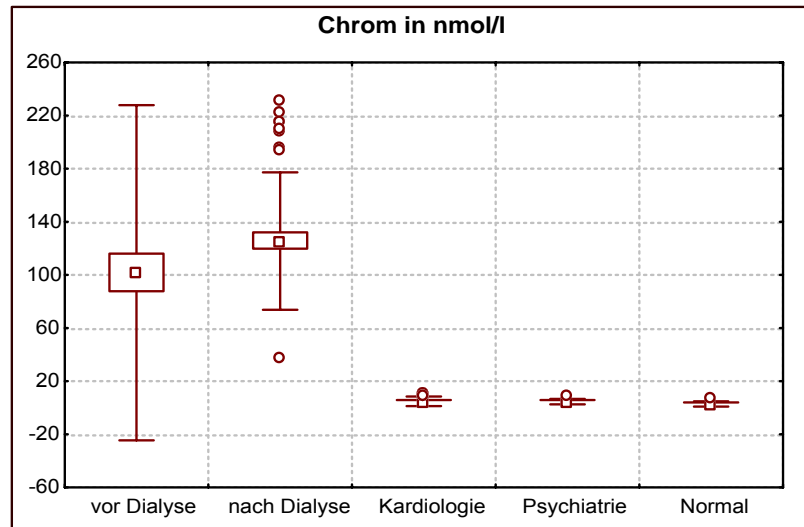
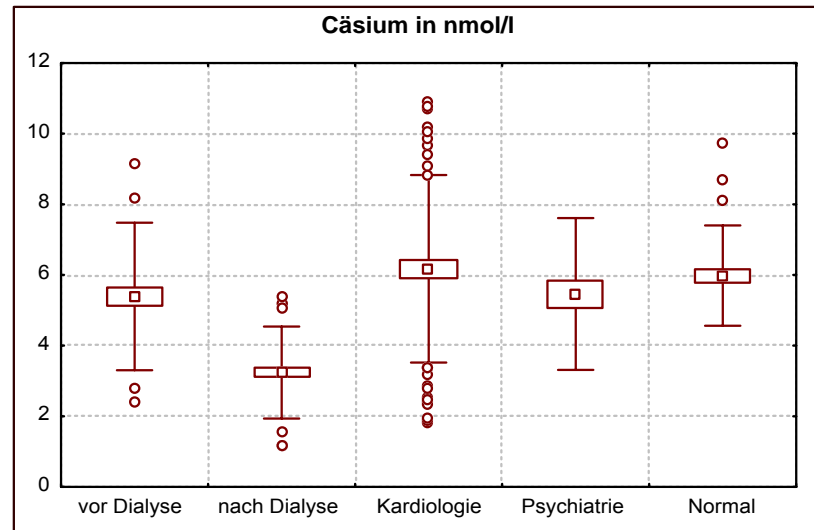
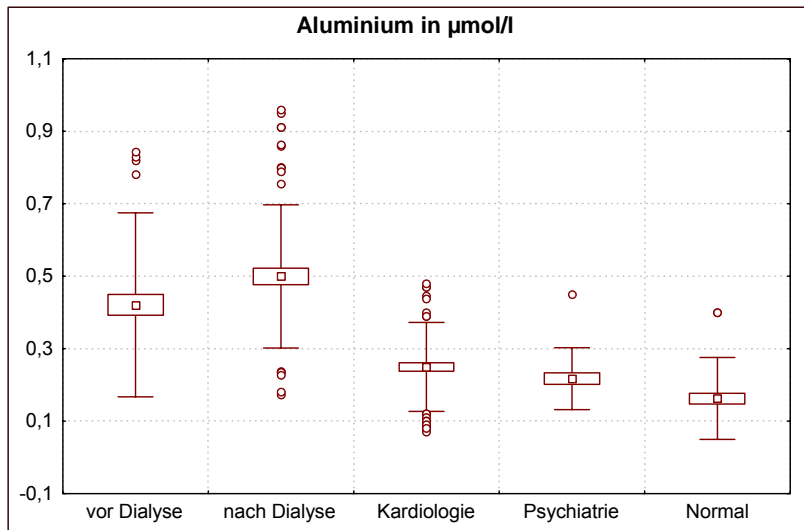


Abb. 8d: Box-Whisker-Plots für die Konzentrationen der Ultraspurenelemente Al, Cs, Cr und Co im Plasma der einzelnen Probandengruppen

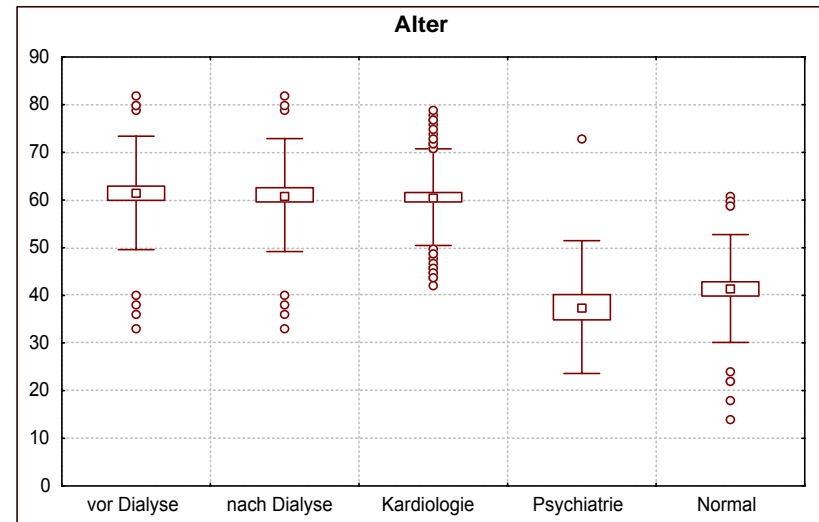
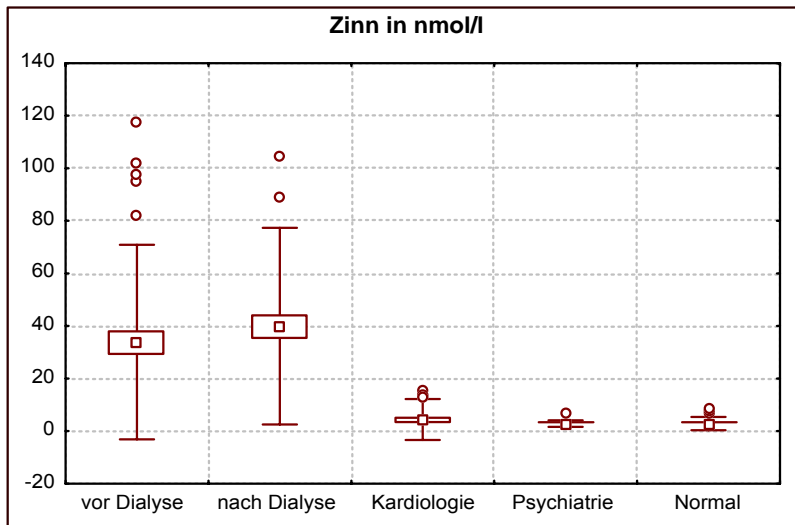
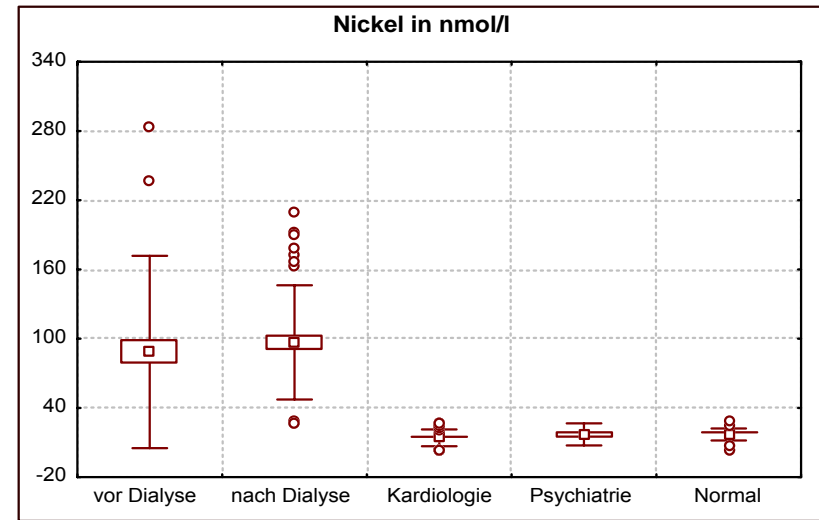
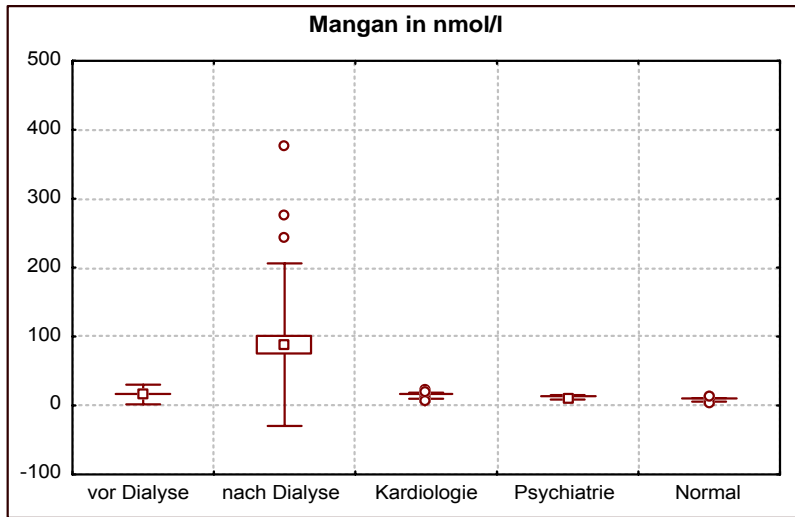


Abb. 8e: Box-Whisker-Plots für die Konzentrationen der Ultraspurenelemente Mn, Ni und Sn im Plasma sowie für das Alter der einzelnen Probandengruppen

In Tabelle 14 sind die Angaben zu Mittelwert und Standardabweichung nochmals numerisch zusammengestellt:

Tab. 14: Mittelwerte \pm Standardabweichung für das Alter, die Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelemente im Plasma von Patienten und Kontrollpersonen (Normal) sowie die Anzahl der Probanden pro Gruppe (n)

	vor Dialyse	nach Dialyse	Kardiologie	Psychiatrie	Normal
Alter	61,5 \pm 11,3	61,5 \pm 11,3	60,6 \pm 10,1	37,5 \pm 13,9	41,4 \pm 11,3
Ca in mmol/l	2,14 \pm 0,31	2,41 \pm 0,27	2,34 \pm 0,17	2,42 \pm 0,11	2,40 \pm 0,09
K in mmol/l	4,90 \pm 0,51	3,86 \pm 0,36	4,20 \pm 0,42	4,02 \pm 0,20	4,01 \pm 0,25
Mg in mmol/l	0,96 \pm 0,17	0,86 \pm 0,10	0,83 \pm 0,11	0,81 \pm 0,06	0,85 \pm 0,06
Na in mmol/l	135,1 \pm 4,9	136,6 \pm 4,17	141,7 \pm 3,9	141,9 \pm 1,7	138,9 \pm 1,5
Fe in μ mol/l	12,0 \pm 4,0	26,7 \pm 23,4	21,1 \pm 7,0	14,6 \pm 7,2	16,4 \pm 5,2
I in μ mol/l	1,10 \pm 2,29	0,93 \pm 1,61	0,68 \pm 1,29	0,56 \pm 0,12	0,51 \pm 0,10
Cu in μ mol/l	17,3 \pm 4,6	19,9 \pm 4,5	18,9 \pm 4,5	17,4 \pm 3,7	18,6 \pm 5,1
Rb in μ mol/l	1,23 \pm 0,31	0,85 \pm 0,25	1,76 \pm 0,51	2,04 \pm 0,38	1,89 \pm 0,29
Se in μ mol/l	0,68 \pm 0,17	0,77 \pm 0,22	1,00 \pm 0,20	0,89 \pm 0,15	1,09 \pm 0,12
Si in μ mol/l	77,6 \pm 25,1	43,0 \pm 12,4	10,6 \pm 5,1	7,0 \pm 3,1	7,3 \pm 2,6
Zn in μ mol/l	11,9 \pm 3,2	14,2 \pm 6,9	13,0 \pm 2,6	13,0 \pm 2,5	14,2 \pm 1,8
Al in μ mol/l	0,42 \pm 0,25	0,50 \pm 0,20	0,25 \pm 0,12	0,22 \pm 0,09	0,16 \pm 0,11
Cs in nmol/l	5,39 \pm 2,09	3,24 \pm 1,30	6,17 \pm 2,65	5,46 \pm 2,15	5,98 \pm 1,42
Cr in nmol/l	101,6 \pm 126,2	125,5 \pm 51,7	4,9 \pm 3,6	4,58 \pm 2,01	2,87 \pm 1,99
Co in nmol/l	7,54 \pm 5,86	10,7 \pm 10,4	1,20 \pm 2,22	1,59 \pm 2,22	1,37 \pm 2,53
Mn in nmol/l	15,9 \pm 14,3	88,2 \pm 118,0	14,1 \pm 4,4	11,8 \pm 3,2	8,2 \pm 2,6
Ni in nmol/l	88,5 \pm 83,3	96,9 \pm 49,5	14,1 \pm 7,2	17,1 \pm 9,5	17,0 \pm 5,2
Sn in nmol/l	33,8 \pm 37,0	39,9 \pm 37,4	4,42 \pm 7,79	2,83 \pm 1,25	2,85 \pm 2,51
n	77	74	121	28	54

4.2. Signifikante Unterschiede beim Vergleich der Gruppen untereinander

Signifikante Veränderungen von Laborparametern bei Patienten können Hinweise zu deren Behandlung und den Verlauf der Erkrankung geben.

In den vorliegenden Untersuchungen soll getestet werden, inwieweit sich die einzelnen Elementkonzentrationen bei den Patientengruppen von denen der Kontrollgruppe unterscheiden.

Unterschiede in den Mittelwerten lassen sich bereits bei der Auswertung in Form der Box-Whisker-Plots visuell erkennen.

Statistisch gesicherte Unterschiede von Datenreihen lassen sich jedoch auch exakt berechnen.

Dazu wurde der Signifikanztest für unabhängige Stichproben des Programms „Statistika“ verwendet. Berechnet wird der Wert für p, der umso kleiner wird, je stärker Unterschiede in den Mittelwerten der Messreihen auftreten.

In der Tabelle 15 sind die Werte für das Signifikanzniveau p nach einem Vergleich der Mittelwerte der Elemente (siehe auch Tabelle 14) im Plasma der Patienten mit denen der Kontrollgruppe zusammengetragen.

Hochsignifikante Unterschiede ($p < 0,005$) sind „fett“ hervorgehoben.

Tab. 15: Signifikanzniveau beim Vergleich der Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelemente der Patientengruppen mit denen der Kontrollgruppe

	vor Dialyse	nach Dialyse	Kardiologie	Psychiatrie
Alter	<0,000001	<0,000001	<0,000001	0,17
Ca	<0,000001	0,76	0,039	0,29
K	<0,000001	0,0093	0,0024	0,84
Mg	0,000006	0,58	0,33	0,009
Na	<0,000001	0,00023	0,000001	<0,000001
Fe	<0,000001	0,0023	0,000030	0,20
I	0,063	0,058	0,35	0,038
Cu	0,12	0,13	0,67	0,27
Rb	<0,000001	<0,000001	0,083	0,038
Se	<0,000001	<0,000001	0,0028	<0,000001
Si	<0,000001	<0,000001	0,000010	0,64
Zn	0,000012	0,97	0,0049	0,015
Al	<0,000001	<0,000001	0,000019	0,027
Cs	0,074	<0,000001	0,62	0,19
Cr	<0,000001	<0,000001	0,00021	0,00045
Co	<0,000001	<0,000001	0,65	0,69
Mn	0,00015	0,000002	<0,000001	<0,000001
Ni	<0,000001	<0,000001	0,01	0,95
Sn	<0,000001	<0,000001	0,15	0,98

Um den Einfluss des Dialysevorganges einzuschätzen, wurde untersucht, ob signifikante Veränderungen der Elementkonzentrationen vor und nach der Dialyse auftreten (Tabelle 16).

Tab. 16: Signifikanzniveau p beim Vergleich der Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelemente bei Patienten vor und nach der Dialyse

Element	Signifikanzniveau p
Ca	<0,000001
K	<0,000001
Mg	0,000010
Na	0,052
Fe	<0,000001
I	0,61
Cu	0,00057
Rb	<0,000001
Se	0,0072
Si	<0,000001
Zn	0,011
Al	0,036
Cs	<0,000001
Cr	0,14
Co	0,025
Mn	<0,000001
Ni	0,46
Sn	0,32

4.3. Korrelation der Elemente untereinander

Der Vergleich der einzelnen Elemente untereinander kann Aussagen über bestimmte Wechselwirkungen sowie Verdrängungsreaktionen der Elemente untereinander treffen. Zu diesem Zweck wurde die Korrelation der Elemente untereinander und das dazugehörige Signifikanzniveau als Maß für die statistische Sicherheit der Aussagen berechnet.

Die Korrelationskoeffizienten r und das Signifikanzniveau p für die hochsignifikanten Korrelationen ($p < 0,005$) sind in den Tabellen 17 bis 21 getrennt nach Probandengruppen zusammengetragen.

Tab. 17: Korrelationskoeffizienten r und deren Signifikanzniveau p für hochsignifikante Korrelationen der Elemente im Plasma von Patienten vor der Dialyse

Elemente	r	p	Elemente	r	p
Al/Sn	0,47	<0,001	Cs/Rb	0,41	0,001
Co/Cr	0,41	0,001	Mg/K	0,41	0,001
Co/I	0,37	0,003	Ni/Zn	0,41	0,001
Co/Ni	0,40	0,001	Rb/K	0,47	<0,001
Cr/Ni	0,80	<0,001			

Tab. 18: Korrelationskoeffizienten r für hochsignifikante Korrelationen ($p \leq 0,001$) der Elemente im Plasma von Patienten nach der Dialyse

	Al	Ca	Co	Cs	Cu	Fe	I	K	Mg	Mn	Na	Rb	Se	Si	Zn
Al	*	1,00	0,80	1,00	0,91	0,43	0,99	1,00	1,00		-0,76	1,00	1,00	0,58	0,83
Ca		*	0,79	1,00	0,91	0,42	0,99	1,00	1,00		-0,75	1,00	1,00	0,53	0,82
Co			*	0,79	0,72	0,77	0,81	0,79	0,79	0,51	-0,78	0,79	0,79		0,72
Cs				*	0,91	0,43	0,99	1,00	1,00		-0,76	1,00	1,00	0,53	0,83
Cu					*		0,92	0,91	0,91		-0,69	0,91	0,91	0,41	0,76
Fe						*	0,44	0,42	0,43	0,82	-0,57	0,43	0,43		0,42
I							*	0,99	0,99		-0,74	0,99	0,99	0,50	0,81
K								*	1,00		-0,75	1,00	1,00	0,53	0,82
Mg									*		-0,75	1,00	1,00	0,53	0,82
Mn										*					
Na											*	-0,75	-0,75		-0,66
Rb												*	1,00	0,53	0,83
Se													*	0,53	0,82
Si														*	0,42
Zn															*

Tab. 19: Korrelationskoeffizienten r und deren Signifikanzniveau p für hochsignifikante Korrelationen der Elemente im Plasma von Patienten mit kardiologischer Erkrankung

Elemente	r	p	Elemente	r	p
Cs/Rb	0,53	<0,001	Zn/Fe	0,29	0,002
Rb/Se	0,27	0,004	Rb/K	0,37	<0,001
Co/Fe	- 0,27	0,003			

Tab. 20: Korrelationskoeffizienten r und deren Signifikanzniveau p für hochsignifikante Korrelationen der Elemente im Plasma von Patienten mit einer Schizophrenie

Elemente	r	p	Elemente	r	p
Al/Cs	0,56	0,002	Cs/I	- 0,53	0,003
Al/I	- 0,62	<0,001	Cs/Rb	0,61	0,001
Co/Cu	0,57	0,002	Si/K	- 0,65	<0,001

Tab. 21: Korrelationskoeffizienten r und deren Signifikanzniveau für hochsignifikante Korrelationen der Elemente im Plasma der Kontrollpersonen

Elemente	r	p	Elemente	r	p
Cs/Rb	0,68	<0,001	Mn/Mg	0,40	0,003
Cu/I	0,38	0,005	Ni/Fe	0,63	<0,001
Cu/K	0,42	0,002	Rb/Ca	0,42	0,002
I/Mn	0,47	<0,001	Rb/K	0,43	0,002

Bei Dialysepatienten vor der Dialyse, Patienten mit einer kardiologischen Erkrankung, einer Schizophrenie sowie bei der Kontrollgruppe werden nur wenige Beziehungen zwischen den einzelnen Elementen gefunden, bei denen meist Korrelationskoeffizienten berechnet wurden, deren Betrag wesentlich kleiner als 1 ist.

Anders sieht es bei den Proben nach der Dialyse aus. Der Dialysevorgang hat einen starken Einfluss auf die Elementkonzentrationen im Plasma. Die Elementverteilung ist bei diesen Patienten so einheitlich, dass Korrelationskoeffizienten größer 0,99 bei einer Vielzahl der untersuchten Elemente auftreten.

Auffällig für alle 5 Gruppen ist ein überall auftretender Zusammenhang zwischen den „vergessenen Elementen“, den beiden Alkalimetallen Cäsium und Rubidium.

4.4. Alters- und Geschlechtsabhängigkeiten der Elementkonzentrationen

Alters- und geschlechtsabhängige Elementverschiebungen können auf spezifische Ernährungsgewohnheiten, medikamentöse Einflüsse sowie den Einfluss der Dauer der Erkrankung auf den Elementstoffwechsel hinweisen.

Die Alters- und Geschlechtsverteilungen (siehe 9 und 10) sind krankheitsbedingt in den 4 Probandengruppen nicht einheitlich.

Die Patienten mit einer terminalen Niereninsuffizienz (Dialyse) und mit einer kardiologischen Erkrankung sind mit einem Mittelwert von 62 bzw. 63 Jahren älter als die Blutspender, die im Durchschnitt 42 Jahre alt sind.

Die Patienten, die wegen einer Schizophrenie in stationärer Behandlung waren, sind jünger, im Mittel 36 Jahre.

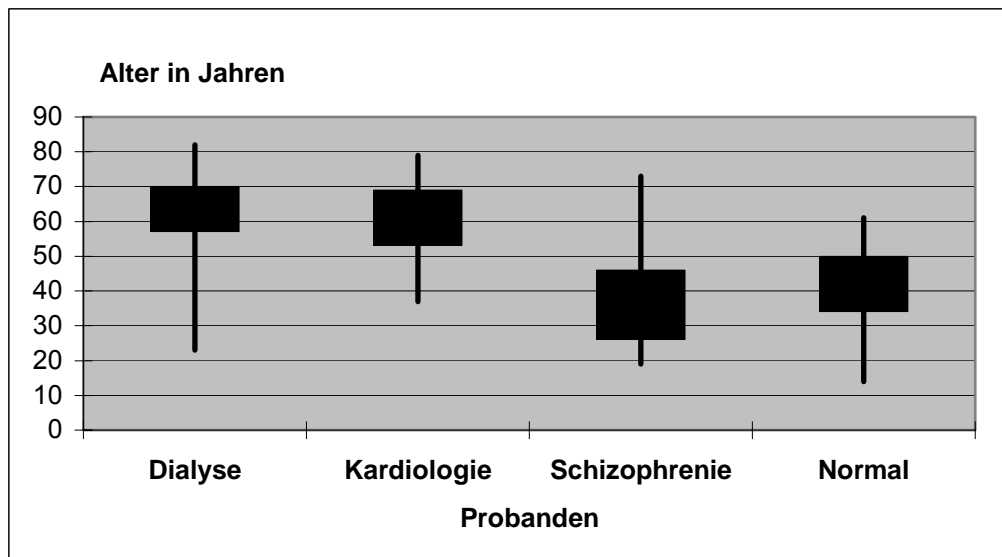


Abb. 9: Altersverteilung der 4 Probandengruppen

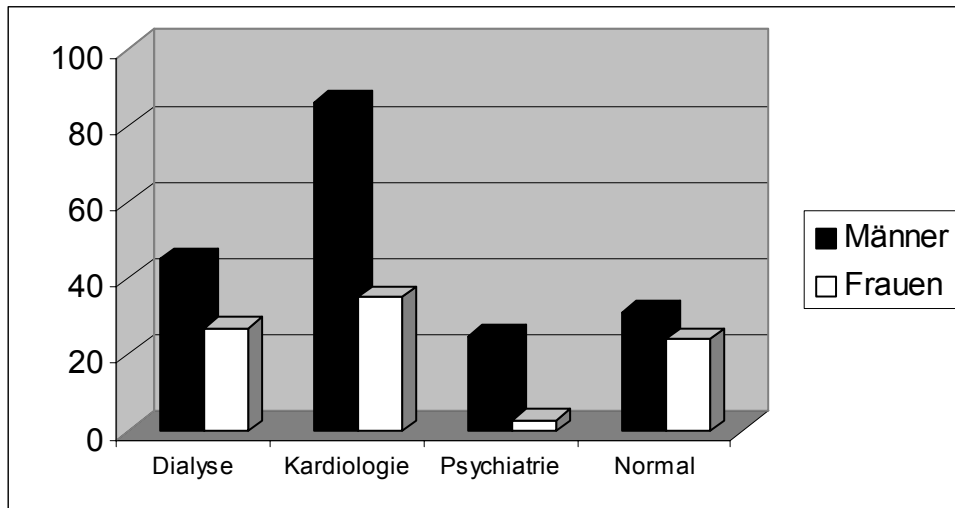


Abb. 10: Anzahl der untersuchten Männer und Frauen in den einzelnen Probandengruppen

Die Geschlechtsverteilung (Abb. 10) zeigt einen geringeren Anteil an Frauen in allen Gruppen.

Der Anteil der erkrankten Männer ist bei den Dialysepatienten und den Patienten mit einer kardiologischen Erkrankung höher als der der Frauen.

Probleme gab es bei der Bereitschaft zur Blutentnahme bei den psychiatrischen Patienten. Diese Patientengruppe ist vergleichsweise klein. Nur 3 Frauen gaben ihre Einwilligung zur Blutabnahme.

Es wurden nur wenige Abhängigkeiten der Elementkonzentrationen von Alter und Geschlecht beobachtet (siehe Tabelle 22 und 23).

Tab. 22: Korrelationskoeffizienten r und deren Signifikanzniveau p für hochsignifikante Korrelationen der Elemente in Abhängigkeit vom Alter der Probanden

Gruppe	Element	r	p
nach Dialyse	Al	0,40	0,002
	I	0,39	0,002
	Rb	0,40	0,002
	Se	0,40	0,002
	Mg	0,40	0,002
	Ca	0,40	0,002
	K	0,40	0,002
Psychiatrie	Cu	0,57	0,001

Bei der Patientengruppe vor der Dialyse sind weder alters- noch geschlechtsbedingte Abhängigkeiten der Elemente nachzuweisen. Die Konzentrationen der Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelemente sind bei der Kontrollgruppe und Patienten mit kardiologischer Erkrankung ebenso nicht vom Alter abhängig.

Tab. 23: Korrelationskoeffizienten r und deren Signifikanzniveau p für hochsignifikante Korrelationen der Elemente in Abhängigkeit vom Geschlecht der Probanden

Gruppe	Element	r	p
nach Dialyse	Si	- 0,44	< 0,001
Kardiologie	Ni	- 0,28	0,003
Normal	Cu	0,62	< 0,001
	I	0,39	0,004
	K	0,44	0,001

Aufgrund der geringen Anzahl der untersuchten Frauen ist eine Geschlechtsabhängigkeit für die Patienten mit einer Schizophrenie nicht verfügbar. Ein negativer Korrelationskoeffizient in Tabelle 23 bedeutet, dass höhere Elementkonzentrationen bei den männlichen Probanden nachgewiesen wurden.

4.5. Klassifikationsanalyse (Gibt es sogenannte Patientenklassen?)

Durch die Klassifikationsanalyse soll untersucht werden, ob Objekte (hier Patienten) auf Grund ihrer Merkmale (Elementgehalte im Plasma) in mehrere Klassen eingeordnet werden können.

Da eine direkte Darstellung von 18 Elementen im 3-dimensionalen Raum nicht möglich ist, wurden die Klassifikationsversuche mit der Hauptkomponentenanalyse vorgenommen.

Das Ziel der Hauptkomponentenanalyse ist eine Datenreduzierung bei möglichst geringem Informationsverlust. Das bedeutet, die Daten der 18 Elemente werden durch eine geringere Zahl von Hauptkomponenten dargestellt. Das Ziel ist die 2- oder 3-dimensionale Darstellung der Datensätze (siehe 2.4.).

Zunächst wurde die Hauptkomponentenanalyse für die 18 untersuchten Elemente im Blutplasma aller 5 Probandengruppen vorgenommen.

Fehlende Daten wurden fallweise ausgeschlossen und jeweils 5 Faktoren ermittelt und die Eigenwerte (siehe 2.4.) berechnet.

Für den kompletten Datensatz ergeben sich folgende Eigenwerte und Varianzen (Tab. 24, Abb. 11).

Tab. 24: Eigenwerte der Hauptkomponentenanalyse für 18 Variablen (Elemente) und 340 gültige Fälle

Faktor	Eigenwert	Varianz in %	kumulierte Varianz in %
1	5,25	29,2	29,2
2	2,38	13,2	42,4
3	1,59	8,8	51,2
4	1,23	6,8	58,0
5	1,15	6,4	64,4

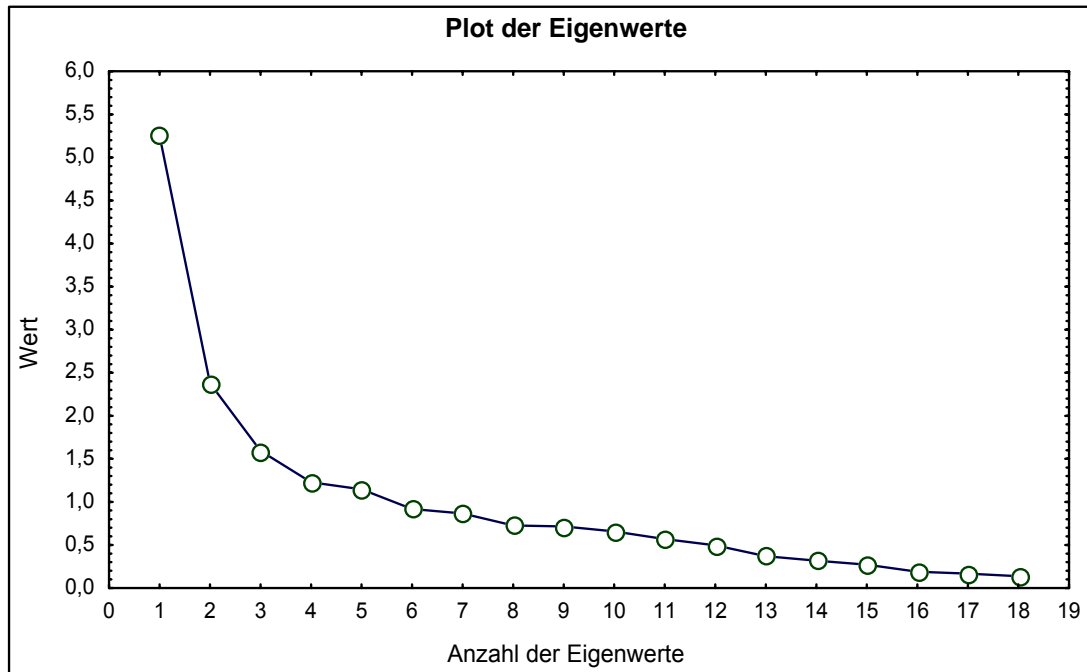


Abb. 11: Eigenwertplot für Hauptkomponentenanalyse der 18 Elemente in allen Probandengruppen

Die Varianz (Tabelle 24) gibt den Anteil der einzelnen Faktoren an der Gesamtvarianz an. So bestimmt der Faktor 1 29,2 % der Gesamtvarianz, Faktor 2 13,2 %. Die Faktoren 1 und 2 bestimmen 42,4% (siehe kumulierte Varianz in Tabelle 24) der Gesamtvarianz und entscheiden damit wesentlich über die Lage der Vektoren. Anhand dieser beiden Faktoren können alle Analyseergebnisse in einer 2-dimensionalen Graphik dargestellt werden. Da der Faktor 3 nur 8,8% zur Gesamtvarianz beiträgt, gewinnt eine 3-dimensionale Darstellung der Ergebnisse keine zusätzliche Aussagekraft.

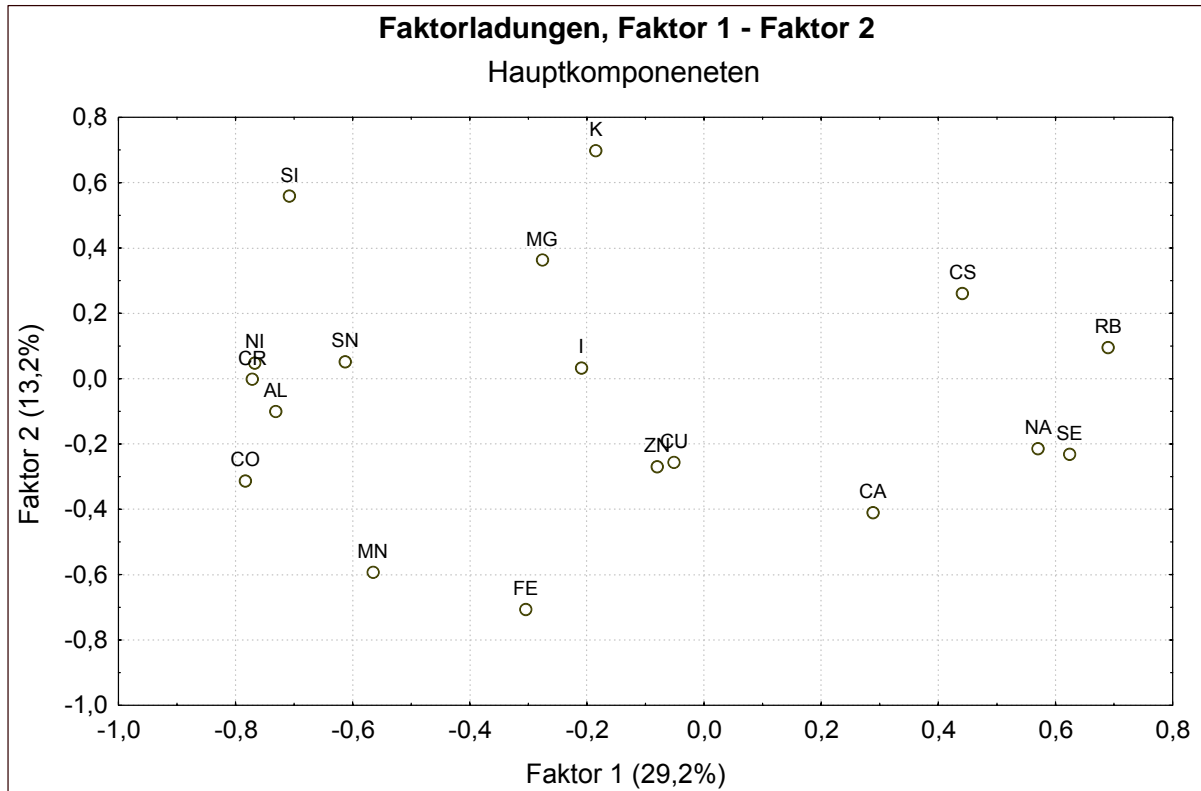


Abb. 12: Faktorladungen der einzelnen Elemente bezogen auf die Faktoren 1 und 2

Der Einfluss der einzelnen Elemente auf die Faktoren 1 und 2 werden in Abb. 12 als Faktorladung dargestellt. Je höher die Beträge der Faktorladungen sind, umso stärker ist der Einfluss des Elementes auf den Faktor. Die Elemente Kupfer, Zink und Iod sind dem Ursprung der Darstellung (0;0) am nächsten und haben damit nur geringe Auswirkung auf die Faktoren. Chrom und Nickel wirken sich nur auf Faktor 1, K nur auf Faktor 2 aus.

Mangan und Silizium bestimmen beide Faktoren wesentlich, da sie am weitesten vom Koordinatenursprung entfernt sind.

Die für jeden Fall (Proband) berechneten neuen Faktoren können in einem 2- oder 3-dimensionalen Koordinatensystem dargestellt werden.

Aufgrund des geringeren Einflusses von Faktor 3 ist eine 2-dimensionale Darstellung ausreichend. Die 3-dimensionale Darstellung liefert keine zusätzlichen Aussagen für eine Klassifikation.

Abbildung 13 zeigt die Lage der berechneten Faktoren für die 340 Fälle in einem sogenannten Screeplot (Scree = Geröll). Die einzelnen Probandengruppen sind mit unterschiedlichen Farben dargestellt. In der Abbildung ist eine Einordnung der Objekte in verschiedene Klassen zu erkennen. Es findet eine eindeutige lineare Trennung der Patienten vor und nach der Dialyse und der übrigen 3 Probandengruppen statt. Ein Unterschied zwischen der Gruppe der Patienten mit einer Schizophrenie (Psychiatrie)

und der Kontrollgruppe (Normal) ist nicht zu erkennen. Diese beiden Gruppen werden von der Gruppe der Patienten mit kardiologischer Erkrankung umgeben. Diese Lage wird auch als asymmetrischer Fall bezeichnet. (Danzer, 2001).

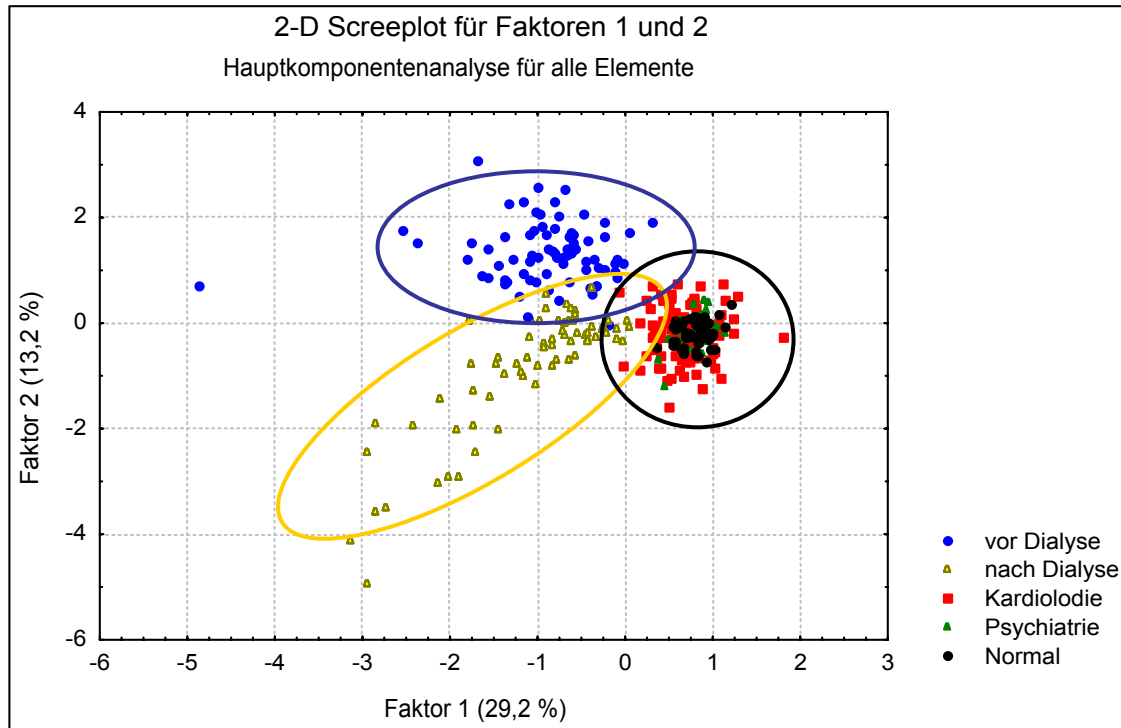


Abb. 13: 2-dimensionaler Screeplot für die Hauptkomponentenanalyse der gesamten Datenmatrix

Um die Klassifikation der 3 linear nicht getrennten Probandengruppen (Kardiologie, Psychiatrie, Normal) weiter zu untersuchen, wurden eine Hauptkomponentenanalyse nur mit diesen 3 Gruppen durchgeführt.

Unter Einbeziehung aller 18 Elemente bestimmen die Faktoren 1 und 2 nur 22,5 % der Gesamtvarianz. Eine lineare Trennung der 3 Gruppen untereinander kann vermutet werden (siehe Abb. 14).

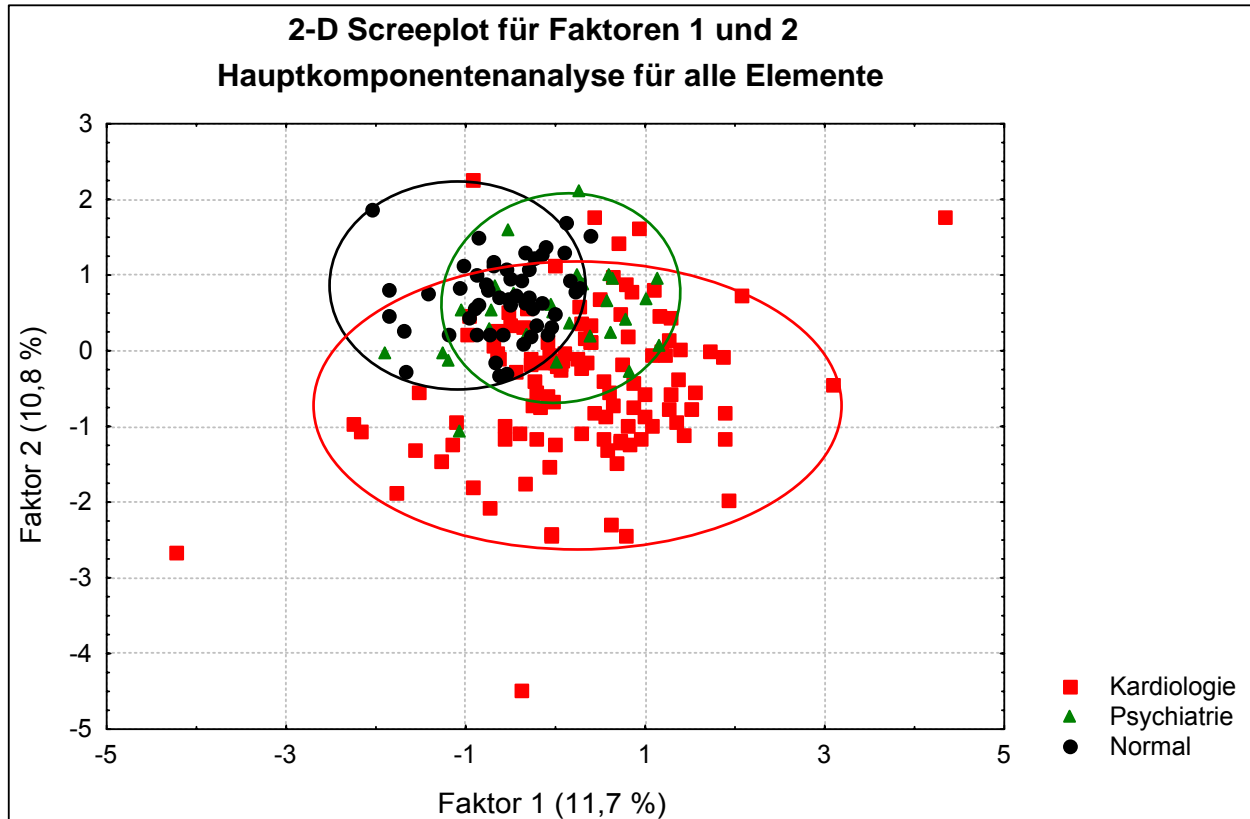


Abb. 14: 2-dimensionaler Screeplot für die Hauptkomponentenanalyse der 18 Elemente im Plasma von Patienten mit kardiologischer Erkrankung (Kardiologie), Schizophrenie (Psychiatrie) und Kontrollpersonen (Normal)

Zur Optimierung der statistischen Auswertung wurden die Elemente, bei denen keine signifikanten Unterschiede zwischen der Kontrollgruppe und den Patienten mit Schizophrenie und kardiologischen Erkrankungen auftraten, unberücksichtigt gelassen, da diese nur einen geringen Anteil für die Berechnung der Faktoren beitragen (siehe Tab. 15).

Die Klassifikationsanalyse wurde nur mit den Elementen K, Na, Fe, Se, Si, Zn, Al, Cr, Mn durchgeführt.

Der somit berechnete Faktorladungsplot (Abb. 15) zeigt keines der genannten Elemente im Ursprung (0;0).

Der Screeplot für diese reduzierte Datenanalyse (Abb. 16) lässt eine Klassifikation der 3 Probandengruppen erkennen. Es ist eine eindeutige lineare Trennung zwischen der Kontrollgruppe (Normal) und den Patienten mit einer Schizophrenie (Psychiatrie) zu erkennen. Bei der Klasse der Patienten mit einer kardiologischen Erkrankung gibt es Überschneidungen mit den anderen beiden Klassen, wobei der Klassenschwerpunkt sichtbar verschoben ist.

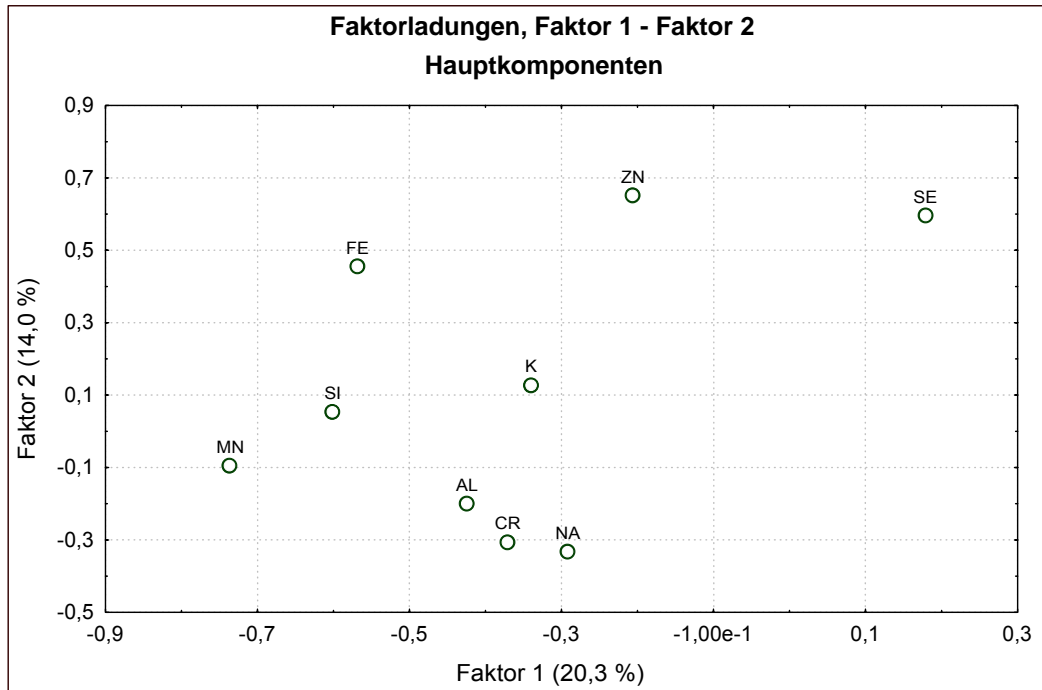


Abb. 15: Faktorladungen ausgewählter Elemente im Plasma von Patienten mit kardiologischer Erkrankung (Kardiologie), Schizophrenie (Psychiatrie) und der Kontrollgruppe (Normal) bezogen auf die Faktoren 1 und 2

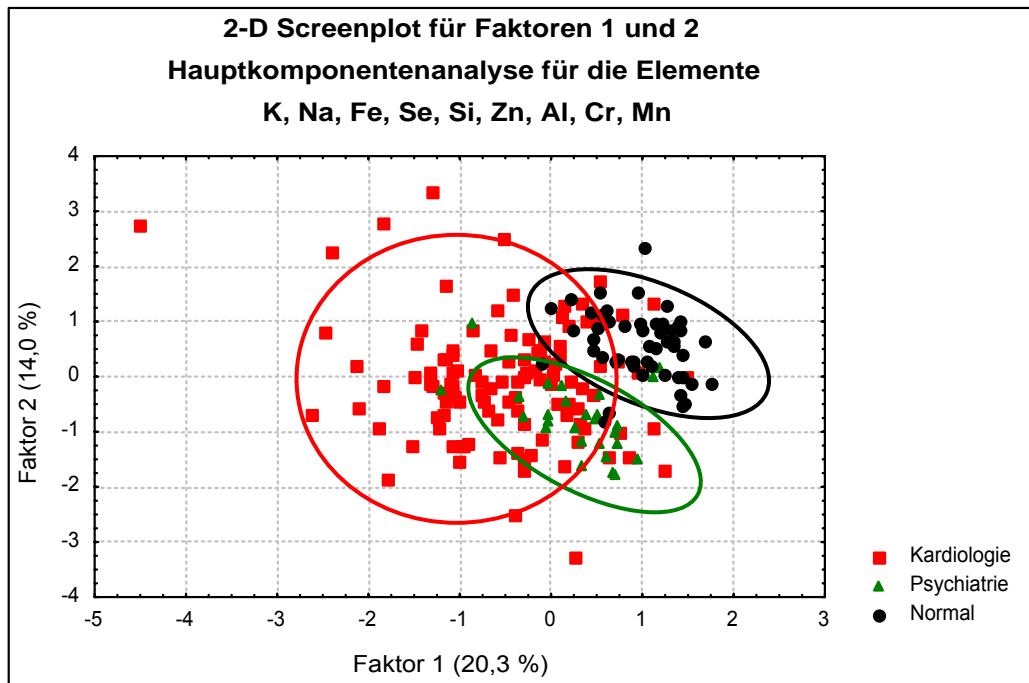


Abb. 16: 2-dimensionaler Screeplot für die Hauptkomponentenanalyse ausgewählter Elemente im Plasma von Patienten mit kardiologischer Erkrankung (Kardiologie), Schizophrenie (Psychiatrie) und der Kontrollgruppe (Normal)

Wird die Hauptkomponentenanalyse für die ausgewählten Elemente mit allen Fällen (Probanden) vorgenommen, so beschreiben die Faktoren 1 und 2 mehr als die Hälfte, 56,2 % der Gesamtvarianz. Der entsprechende Screeplot (Abb. 17) unterscheidet sich jedoch nicht wesentlich von Abb. 13, der Analyse der Gesamtdaten. Auch hier ist eine gute Trennung der Gruppen vor und nach der Dialyse und den übrigen Patienten zu erkennen. Eine Unterscheidung der Patienten mit kardiologischer Erkrankung, mit Schizophrenie und der Kontrollgruppe ist aufgrund des großen Einflusses der Daten der Dialysepatienten nicht möglich.

Diese 3 Gruppen können nur anhand ausgewählter Elemente untereinander verglichen werden (siehe Abb. 16).

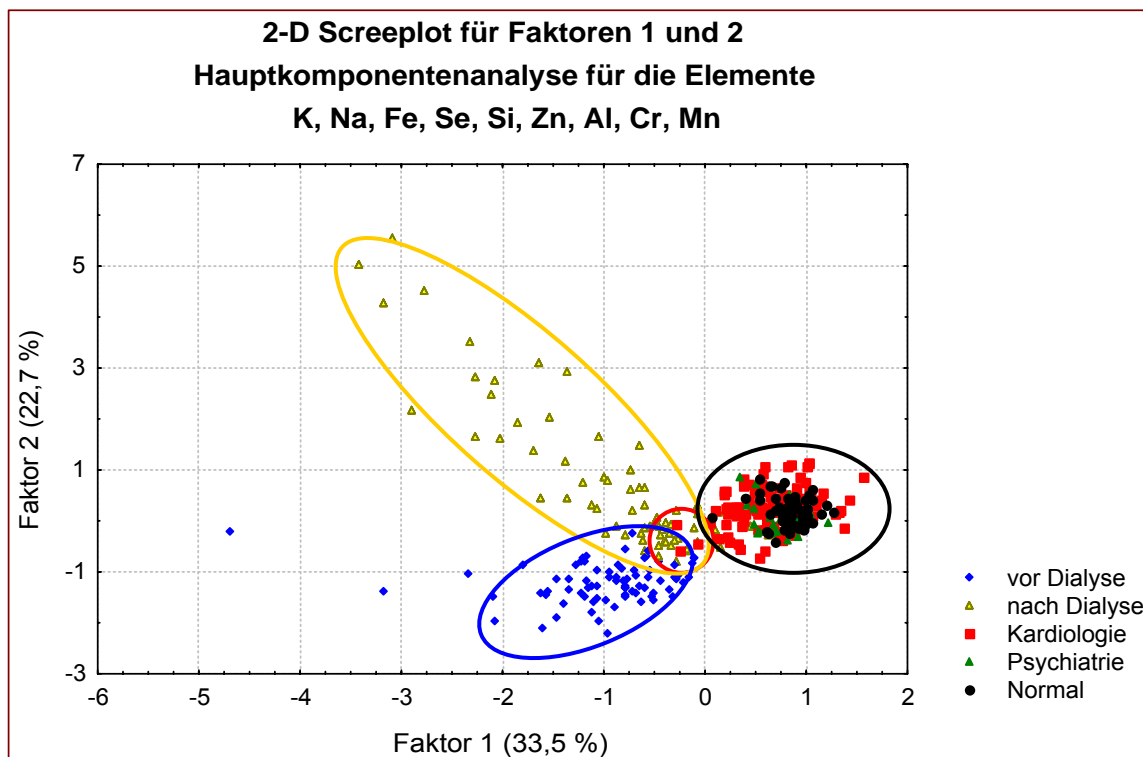


Abb. 17: 2-dimensionaler Screeplot für die Hauptkomponentenanalyse ausgewählter Elemente im Plasma aller untersuchter Probandengruppen

Die Daten von 3 Patienten mit einer kardiologischen Erkrankung (roter Kreis) finden sich außerhalb des klassenspezifischen Raumes (schwarze Ellipse) im Bereich der Dialysepatienten. Bei diesen Patienten kann neben der kardiologischen Erkrankung auch eine Nierenerkrankung vermutet werden. Bei einem der Patienten konnte eine gestörte Nierenfunktion nachgewiesen werden. Bei den anderen beiden Patienten liegen keine Informationen darüber vor.

4.6. Vergleich der Ergebnisse mit anderen Studien

Tab. 25: Vergleich der ermittelten Konzentrationen der Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelemente im Plasma der Kontrollgruppe mit Referenzbereichen aus der Literatur

Element	eigene Ergebnisse	Muniz, 2001* Nordio, 1998**	Zima, 1999	Woittiez, 1988	Caroli, 1994	Krachler, 1999* Forrer, 2001**
Ca in mmol/l	2,40 ± 0,09	1,98 - 2,60*		2,3 - 4,04		
K in mmol/l	4,01 ± 0,25					3,5 - 4,6*
Mg in mmol/l	0,85 ± 0,06	0,77 - 0,92**				
Na in mmol/l	138,9 ± 1,5					135 - 145*
Fe in µmol/l	16,4 ± 5,2	15,4 - 40,1*	13,4 - 31,3	13,4 - 26,8	19,6 - 23,2	14,7 - 37,3**
I in µmol/l	0,51 ± 0,10		0,47 - 0,55	0,46 - 0,57		
Cu in µmol/l	18,6 ± 5,1	9,9 - 17,6*	12,6 - 22,0	12,6 - 27,6	9,4 - 22,0	10,8 - 28,4**
Rb in µmol/l	1,89 ± 0,29	0,97 - 2,28*	0,94 - 3,76	2,35	1,76 - 6,59	0,78 - 3,17* 1,46 - 2,87**
Se in µmol/l	1,09 ± 0,12		0,76 - 2,15	0,58 - 1,81	0,38 - 1,33	1,11 - 1,82**
Si in µmol/l	7,3 ± 2,6		18,5			
Zn in µmol/l	14,2 ± 1,8	10,2 - 15,7*	10,8 - 18,5	10,8 - 18,5	9,2 - 18,5	9,8 - 15,4**
Al in µmol/l	0,16 ± 0,11	< 0,01*	0,01 - 0,3	0,04 - 0,19	0,02 - 0,30	0,21 - 0,69**
Cs in nmol/l	5,98 ± 1,42			7,52	0,83 - 39,1	0,1 - 5,2*
Cr in nmol/l	2,87 ± 1,99	< 8,0*	3,8 - 9,6			
Co in nmol/l	1,37 ± 2,53		1,7 - 6,8	1,86 - 7,63	1,36 - 7,63	< 1,7 - 2,63**
Mn in nmol/l	8,2 ± 2,6	< 6,7*	9,0 - 32,7	9,8 - 32,0	1,8 - 52,7	< 0,2 - 26,9**
Ni in nmol/l	17,0 ± 5,2		3,4 - 34	44,1 - 127,1	0,8 - 22,0	50,5 - 124,4**
Sn in nmol/l	2,85 ± 2,51		16,8 - 168		16,8	

Die in den vorliegenden Untersuchungen ermittelten Referenzbereiche für

Mengen-, Spuren und Ultraspurenelemente lassen sich weitestgehend mit in der Literatur beschriebenen Angaben vergleichen (Tab. 25). Abweichungen, die bei den Elementen Silizium und Zinn vorliegen, sind aufgrund der relativ geringen Anzahl der untersuchten Kontrollpersonen (54) sowie durch regional bedingte Unterschiede möglich.

5. Schlussfolgerungen für den Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelementhaushalt bei Dialyse-, Kardiologie- und Schizophreniepatienten

5.1. Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz

Die Ergebnisse dieser (siehe Pkt. 4.3. Tab. 25) und anderer Studien (Krachler, 1997; Krachler, 1999; Keller, 1998; Schmitt; D'Haese, 1996, D'Haese, 1999, Miura, 1999) zeigen, dass der Spurenelementstatus bei Patienten mit einer terminalen Niereninsuffizienz im Vergleich zu Probanden mit normaler Nierenfunktion erheblich verändert ist. Signifikante Anreicherungen wurden für die Elemente Aluminium, Kobalt, Mangan, Nickel, Zinn, Magnesium, Chrom, Silizium und Kalium, ein Mangel für Rubidium, Selen, Zink, Calcium und Eisen nachgewiesen. Während der Dialyse kommt es zu weiteren Veränderungen.

Die vier untersuchten Mengenelemente Natrium, Kalium, Calcium und Magnesium weisen signifikante Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe auf.

Die niedrigen **Natrium**konzentrationen sind diätetisch bedingt. Vor der Dialyse hat fast jeder 2. Dialysepatient geringere Werte als Normalpersonen. Während der Dialyse findet eine geringfügige Natriumerhöhung im Plasma durch höhere Natriumkonzentrationen im Dialysat statt.

Der Natriumbestand des Menschen beträgt 1,42 g/kg Körpergewicht.

95% davon liegen extrazellulär im Serum vor. Ein geringer Anteil ist im Skelett gebunden und kann daraus mobilisiert werden.

Natrium ist der wichtigste extrazelluläre Elektrolyt, welcher für den osmotischen Ausgleich zwischen extra- und intrazellulärem Raum verantwortlich ist.

Es wird eine tägliche Aufnahme von 4,8 g Natrium bei normaler Nierenfunktion empfohlen. Natrium wird fast vollständig resorbiert und eine Mehrausscheidung erfolgt über die Nieren.

Ein Natriummangel kann Antriebsschwäche, Müdigkeit sowie die Tendenz zu Hypotonie zur Folge haben (Brätter, 1992).

Zur Verringerung einer Reihe von Beschwerden der Dialysepatienten wie Übelkeit, Erbrechen, Kopfschmerzen wird der Einsatz von Dialysat mit einer hohen Natriumkonzentration von 141 mmol/l empfohlen, die den Natriummangel bei Dialysepatienten ausgleicht (Flanigan, 2000).

Die **Kalium**konzentration im Plasma von Dialysepatienten steigt aufgrund der gestörten Nierenfunktion über normal an. Während der Dialyse sinkt die Kaliumkonzentration aufgrund niedriger Kaliumgehalte in der Dialyseflüssigkeit. Es wurden hier Werte registriert, die signifikant niedriger als bei Normalpersonen sind. Diese Verringerung bis minimal 3 mmol/l ist bewusst gewollt, um die Kaliumkonzentration zu jeder Zeit auf einem physiologischen Level zu halten.

Der Kaliumbestand beträgt bei einer erwachsenen Frau ca. 100 g, bei einem Mann ca. 150 g (Brätter, 1992). 97% davon befinden sich intrazellulär, wobei das Hauptdepot die Muskulatur ist.

Der empfohlene Tagesbedarf beträgt für Jugendliche und Erwachsene 2 g. Pflanzenkost ist besonders kaliumreich. Nicht benötigtes Kalium wird über die Nieren ausgeschieden, bei gestörter Nierenfunktion reichert es sich jedoch im Plasma an.

Kaliumkonzentrationen über 7 mmol/l, die zu lebensbedrohlichen Zuständen wie Herzversagen aufgrund von Blutdruckerniedrigung führen können, wurden in den vorliegenden Untersuchungen jedoch nicht beobachtet.

Konzentrationen unter 3 mmol/l führen zu ventrikulären Arrhythmien, neuromuskulären Dysfunktionen, Ödemen und Blutdruckschwankungen (Krachler, 1999).

Die **Magnesium**konzentration im Plasma von Dialysepatienten ist vor der Dialyse nur gering erhöht. Sie sinkt durch niedrigere Konzentrationen in der Dialyseflüssigkeit auf Normalwerte.

Beim Element **Calcium** werden erniedrigte Konzentrationen vor der Dialyse festgestellt. Der Calciummangel wird bei diesen Patienten durch die Dialyse ausgeglichen.

Der Körper eines Erwachsenen enthält ca. 1 kg Calcium. 99% des Körpercalciums sind im Skelett deponiert.

Der Tagesbedarf an Calcium beträgt für einen Erwachsenen nach Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung 0,8 bis 1,2 g. Calcium wird vor allem aus Milch und Milchprodukten, Gemüse und dem Trinkwasser aufgenommen. Davon werden jedoch nur etwa 12 % aus dem Darm resorbiert. Der größte Anteil geht über den Stuhl verloren.

Das Calcium im Blutplasma liegt etwa zur Hälfte an Proteine gebunden, der Rest in freier Ionenform sowie komplex gebunden vor.

Das Element Calcium wird im Organismus für den Knochenaufbau und für die Durchlässigkeit der Zellmembranen benötigt. Calciumionen spielen bei vielen enzymatischen Reaktionen eine Rolle, üben eine wichtige Funktion bei der Gerinnung und der Erregbarkeit von Nerven und Muskeln aus (Brätter, 1992).

Der hohe Calciumbestand des Körpers und die Mobilisierung aus den Knochen führt dazu, dass ein Calciummangel über Jahre unentdeckt bleibt (Deuber, 2002).

Ein Calciummangel führt zu gesteigerter Erregbarkeit bis hin zur Tetanie und kann zur „Entkalkung“ der Knochen führen. Ein Ca-Mangel im Knochen bei zusätzlichem Vitamin-D-Mangel führt zur Rachitis.

In der Gruppe der Spurenelemente sind signifikante Unterschiede für die Elemente Eisen, Zink, Selen, Rubidium und Silizium berechnet worden.

Der **Eisenmangel** bei Dialysepatienten kann ernährungsbedingt sowie durch Blutverluste durch die Dialyseprozedur und einen dadurch erhöhten Eisenbedarf verursacht sein.

Eine Erhöhung der Eisenkonzentration im Plasma während der Dialyse ist durch Eisenaufnahme aus der Dialyseflüssigkeit denkbar (Bothwell, 1979).

Eisen ist das am längsten bekannte und am häufigsten untersuchte Spurenelement im menschlichen Organismus. Es erfüllt wichtige Funktionen im sauerstofftransportierenden Hämoglobin, Myoglobin und im Enzymsystem (Brätter, 1992).

Der Körperbestand wird mit 4 bis 5 g angegeben (Deuber, 2002).

Etwa 70% davon befinden sich im Hämoglobin, 12% ist Funktionseisen (Myoglobin und am Eisentransport beteiligte eisenhaltige Enzyme). Das Transportprotein Transferrin enthält nur 0,1% des Körpereisens. Der Rest entfällt auf Körperdepots.

Der Eisenbedarf ist von Alter und Geschlecht abhängig und beträgt 12-15 mg pro Tag.

Dieser wird über die Nahrung gedeckt. Eisen kommt vor allem in Leber, Fleisch und Fleischprodukten, dunklem Gemüse, Vollkorn, Eigelb und Hülsenfrüchten vor. Das Eisen aus pflanzlicher Nahrung ist aufgrund hoher Phosphatgehalte nicht besonders gut bioverfügbar. Durch zusätzliche Gabe von Vitamin C kann die Aufnahme verbessert werden. Das Eisen aus fleischlicher Nahrung kann aufgrund des hohen Anteils an Häm-Eisen gut absorbiert werden.

Ca. 1 mg Eisen werden täglich über Stuhl und Urin ausgeschieden, während der Menstruation gehen zusätzlich 15-30 mg verloren.

Ein Eisenmangel kann zu Anämie, erhöhter Infektanfälligkeit, Müdigkeit und Blutarmut führen (Brätter, 1992).

Für einen **Zinkmangel** bei Dialysepatienten können Zinkverluste während der Dialyse, Störungen des Gastrointestinaltraktes sowie Verschiebungen zwischen Serum- und Organzinkspiegeln und Störungen des Wasserhaushaltes die Ursachen sein.

Der Zinkgehalt im Plasma steigt durch Erhöhung des Plasmaproteinspiegels während der Dialyse auf Normalwerte an.

Der Zinkbestand wird beim Menschen mit etwa 1,3 bis 2 g angegeben.

Der tägliche Zinkbedarf eines Erwachsenen beträgt 10 bis 20 mg. Ein erhöhter Zinkbedarf wird in Stresssituationen, bei chirurgischen Eingriffen, parasitären Erkrankungen, bei Infektionen sowie während der Schwangerschaft und der Stillperiode beobachtet. Zink kann vor allem aus Fleisch, Fisch, Innereien, Milchprodukten und Schalentieren aufgenommen werden. Knollen- und Wurzelgemüse, pflanzliche und tierische Fette, Zucker und Mehlprodukte weisen nur einen niedrigen Zinkgehalt auf.

Mehr als 200 Enzyme sind Zinkmetalloenzyme (Carboanhydrase, Carboxypeptidasen, alkalische Phosphatase, Glutamatdehydrogenase, Nukleosidphosphorylase, Superoxiddismutase). 80% des Blutzinks sind in der Carbonhydrase enthalten. Zink spielt eine Rolle bei der Stabilisierung von biologischen Membranen und Makromolekülen sowie in der Hämoglobinbiosynthese. Zink ist ebenso am Aufbau des Insulins, sowie bei der Synthese von Proteinen und Nukleinsäuren beteiligt. Es ist

erforderlich für ein funktionierendes Immunsystem und für Wachstum und Fortpflanzung.

Mangelsituationen werden bei Akrodermatitis enteropathica, Malabsorption, Lebererkrankungen, Verbrennungen und anderen Gewebedefekten, bei Chelattherapie und parenteraler Ernährung beobachtet.

Zn-Defizit führt zur Anämie.

Symptome eines Zinkmangels sind u.a. Anorexie, gestörter Geschmacks- und Geruchssinn, Wachstumsstörungen, Impotenz, mentale Lethargie, Appetitlosigkeit, Hauterkrankungen, Wundheilungsstörungen, Depressionen, Verringerung der Immunfunktion und Anämie. (Zima, 1999)

Selen ist ein essentielles Spurenelement (Schwarz, 1957).

Aufgrund der Proteinrestriktion und Verlusten während der Dialyse liegt bei einem Großteil der untersuchten Patienten ein ständiger Selenmangel vor. 70 % der Patienten haben vor und noch 51 % nach der Dialyse eine Selenkonzentration unter 0,78 µmol/l im Plasma. Ursachen für den Selenmangel sind die niedrige Selenaufnahme durch die Diät, eine geringere Absorption durch den Dünndarm und Verluste über die Dialysemembran. Der schwache Konzentrationsanstieg während der Dialyse ist auf das Ansteigen des Proteingehaltes im Plasma zurückzuführen.

Der Gesamtkörperbestand eines Erwachsenen beträgt 10 bis 15 mg Selen. Es wird eine tägliche Aufnahme von 20 bis 100 µg Selen empfohlen.

Die Aufnahme des Selens erfolgt größtenteils über die Nahrung, wobei Selen aus tierischen Eiweißen (Eier, Fisch, Fleisch) die größte Bedeutung zukommt (Brätter, 1992).

Im menschlichen Körper soll das Duodenum Hauptort der Selenabsorption sein.

Selen wird schnell und ausreichend aus den Nahrungsmitteln bzw. löslichen Salzen resorbiert.

Die Ausscheidung von überschüssigem Selen erfolgt über die Nieren (Zumkley, 1990).

Selen ist Bestandteil der Glutathionperoxidase, des Schilddrüsenhormons Iodthyronin-5'-Deiodase sowie weiterer selenhaltiger Proteine bzw. Proteinuntereinheiten, deren Funktion bis jetzt erst zum Teil aufgeklärt ist.

Die Glutathionperoxidase ist ein antioxidativ wirkendes Enzym, welches reaktionsfreudige Sauerstoffspezies (z.B. Radikale) im Organismus abbaut.

Der Selenmangel führt unter anderem zu kardiovaskulären Erkrankungen, Myopathien, Anämie, Arthritis, erhöhtem Krebsrisiko, Unfruchtbarkeit, Beeinträchtigung des Immunsystems (Zima, 1998; Keller, 1998; Bogye, 2000) und wird u.a. auch bei Phenylketonurie, akuter Pankreatitis, Polytrauma, Aids, multipler Sklerose und totaler parenteraler Ernährung beobachtet (Kauf, 1994; Oster, 1992; Winnefeld, 1994; Zumkley, 1990).

Die **Rubidium**konzentration in den Dialyseplasmen ist vor der Dialyse niedriger als normal und sinkt während der Dialyse weiter ab, da Rb dialysabel ist und in der

Dialyseflüssigkeit nur etwa 1/50 der normalen Plasmakonzentration enthalten ist. Gleichzeitig steigt die Rubidiumkonzentration während der Dialyse in der Dialyseflüssigkeit an.

Der Körperbestand eines Erwachsenen beträgt 400 bis 900 mg. Über die Nahrung werden pro Woche ca. 15-25 mg Rubidium aufgenommen und etwa 20 mg ausgeschieden. Besonders hohe Rb-Konzentrationen sind im Rindermuskel enthalten. Aufgenommenes Rubidium wird rasch im Mund absorbiert.

Überschüssiges Rubidium wird zu 68 % über den Urin und 32 % über den Stuhl ausgeschieden (Krachler, 1998).

Die Essentialität dieses Elementes wird vermutet, konnte jedoch noch nicht nachgewiesen werden.

Rubidium ist physiologisch aufgrund des annähernd gleichen Ionenradius dem Kalium sehr ähnlich. Es verteilt sich im Körper auf die gleiche Weise und kann das Kalium im Körper ersetzen.

Ein Zusammenhang zwischen Rubidium und Zentralnervensystem wurde schon vor mehr als 100 Jahren gefunden. Der Kardiologe Bottkin entdeckte 1891, dass bei Herzpatienten, die mit RbCl behandelt wurden, das Wohlbefinden stieg. (Zumkley, 1990) Heute ist bekannt, dass Rb die Noradrenalin- und Dopaminübertragung im Zentralnervensystem durch Steigerung der Konzentration synaptischer Neurotransmitter verbessert. Rubidiumhaltige Medikamente werden zur Behandlung verschiedener Depressionen eingesetzt. Sie wirken mit der gleichen Effizienz wie tricyclische Mittel, haben aber weniger Nebenwirkungen (Canavese, 2001).

In einer Studie (Saito, 1993) wurde festgestellt, dass die Rubidiumkonzentration im menschlichen Gehirn signifikant mit steigendem Alter sinkt. Dieses Ergebnis weist darauf hin, dass Rubidium eine wichtige Rolle im Zentralnervensystem einnimmt und die fallende Rubidiumkonzentration im Gehirn mit dem neuralen Alterungsprozess in Verbindung gebracht werden kann.

Eine Kontrolle und Regulierung der Rubidiumkonzentration erfolgt bei Dialysepatienten nicht. Ein dauerhafter Rubidiummangel kann mit Störungen des Nervensystems und neurologischen Abnormalitäten bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz in Beziehung gebracht werden (Krachler, 2000).

Die **Silizium**konzentration im Plasma steigt bei Dialysepatienten im Durchschnitt um den Faktor 10 im Vergleich zu Probanden mit normaler Nierenfunktion an. Da die Hauptaufnahmekategorie das Silizium aus dem Trinkwasser ist, ist die Konzentration im Plasma von Dialysepatienten starken regionalen Schwankungen unterworfen. Silizium ist dialysabel. Während der Dialyse sinkt der Gehalt im Plasma um etwa die Hälfte.

Die Frage der Essentialität von Silizium wird gegenwärtig noch diskutiert, viele Autoren sprechen sich dafür aus.

Silizium ist eine der Serumkomponenten, die nicht proteingebunden in Form der Orthokieselsäure vorliegt.

Bei der Ausscheidung des Siliziums aus dem Organismus spielen die Nieren die Hauptrolle. Silizium wird in Form von Orthokieselsäureanionen, die meist an Magnesium gebunden sind, ausgeschieden (Najda, 1992).

Silizium nimmt Einfluss auf das Knochen- und Knorpelwachstum. In der Mineralisationszone des Knochens findet man es angereichert. Auch die Eigenschaften von Kollagen, Keratin und Elastin unterliegen dem Einfluss dieses Elementes. Die Risikofaktoren für Herz-Kreislaufkrankungen - Cholesterol und Triglycide - sollen durch Silizium günstig beeinflusst werden. Silizium hat ebenfalls eine Funktion als biologisches „cross-linking“- Reagenz für Membransysteme und Bindegewebe (Bercowy, 1994).

Über Konsequenzen eines Siliziumüberschusses und Vergiftungserscheinungen ist wenig bekannt.

Das überschüssige Silizium lagert sich bei diesen Patienten im Gewebe an, wobei die gefundenen Siliziumgehalte in folgender Reihenfolge zunehmen:

Lunge < Muskeln < Darm < Leber < Niere < Fettgewebe < Milz.

Eine massive Siliziumakkumulation kann zu Knochenerkrankungen und Nervenkrankheiten führen, aber auch Nierenerkrankungen und die Bildung von Nierensteinen können dadurch begünstigt werden (Hosowaka, 1990).

Der Mittelwert für die **Iod**konzentration im Plasma von Dialysepatienten ist im Vergleich zu den Kontrollpersonen nichtsignifikant erhöht. Aufgrund der Behandlung mit Kontrastmitteln wurden bei einigen wenigen Probanden bis um die 30 fache erhöhte aber unbedenkliche Iodkonzentration gefunden.

Iod ist ein essentielles Spurenelement, welches am Aufbau lebenswichtiger Hormone wie z.B. Triiodthyronin (T₃) und Thyroxin (T₄) beteiligt ist. Sein Körperbestand beträgt etwa 10 bis 20 mg, wovon sich ca. 80 % in der Schilddrüse befinden.

Iodmangelerkrankungen wurden schon sehr zeitig erkannt und behandelt. Bereits ca. 2700 v. Chr. wurde in China das iodhaltige Sargassum (Seegras) zur Behandlung des Kropfes empfohlen (Hehrmann, 1998; Michalke, 2000).

Schon wenige Jahre nach der Entdeckung des Elementes Iod 1813 durch Courtois wurde Kaliumiodidlösung 1820 erfolgreich zur Kropfbehandlung eingesetzt.

Neben der Kropfbildung wird auch eine Minderentwicklung des Zentralnervensystems (Kretinismus) bei Iodmangel beobachtet (Brätter, 1992).

Die Bundesrepublik Deutschland ist aufgrund der Iodverarmung der Böden und der Süßwasserressourcen im Zusammenhang mit der letzten Eiszeit ein Iodmangelgebiet.

Die Iodaufnahme erfolgt über die Nahrung (Seefisch, Milch, Eier, iodiertes Speisesalz) und das Trinkwasser. Dabei sind starke regionale Unterschiede zu erkennen. Der Iodgehalt des Trinkwassers sinkt mit zunehmender Entfernung zum Meer (Anke, 1995).

Die Deutsche Gesellschaft für Ernährung empfiehlt eine tägliche Iodzufuhr für Erwachsene und Jugendliche von 200 µg (Manz, 1997)

Das über die Nahrung meist als Iodid aufgenommene Iod wird schnell und fast vollständig absorbiert.

Die Ausscheidung überschüssigen Iods erfolgt über die Nieren.

Eine Überdosierung kann Iodakne, die Auslösung von Allergien sowie ähnliche Symptome wie bei einem Iodmangel (Iod-Basedow) zur Folge haben.

Die Konzentrationen des Spurenelementes **Kupfer** im Plasma weisen bei keiner der drei Patientengruppen signifikante Unterschiede im Vergleich zur Kontrollgruppe auf.

Der Gesamtkörperbestand eines Erwachsenen an Kupfer beträgt 100 bis 120 mg. (Deuber, 2002).

Der tägliche Kupferbedarf wurde mit 2 bis 4 mg ermittelt und wird bei normaler Ernährung ausreichend gedeckt. Hohe Kupfergehalte sind in Leber, Fischen, Meeresfrüchten, Nüssen, Kakao und grünem Gemüse enthalten. Kupferarm sind dagegen Fleisch, Milch und Milchprodukte, Knollen- und Wurzelgemüse, Zucker, Back- und Teigwaren.

Die Ausscheidung findet zu 80% über die Galle statt.

Kupfer ist Bestandteil von mindestens 16 Metalloenzymen z.B. Ferrooxidase, Cytochromoxidase, Lysosyloxidase, Ascorbinsäureoxidase, Superoxiddismutase und wirkt im menschlichen Organismus bei der Bildung von Bindegewebe, bei der Funktion des Zentralnervensystems und bei der Hämatopoese mit.

Ein länger anhaltender Kupfermangel führt zu:

- einer defekten Kollagen- und Elastinbildung (Aktivitätsminderung der kupferabhängigen Lysyloxidasen)
- Beeinflussung der Katecholamine (Cytochromoxidase)
- Störung des Zentralnervensystems (Dopamin- β -Hydroxylase)
- Wachstums- und Pigmentationsstörung der Haare (Hydroxyloxidase, Thyrosinase)
- Osteoporose.

Eine genetisch bedingte Kupfermangelerkrankung ist das Menke-Syndrom (Menke's Kinky Hair disease). Aufgrund verminderter oder fehlender Ferrooxidase-Aktivität und den dadurch gestörten Kupfertransport kommt es zu stark reduzierten Kupfergehalten in Serum, Urin, Leber und Haaren. Folge ist neben den oben genannten Krankheitserscheinungen das weiße struppige Haar, das der Erkrankung den Namen gegeben hat (Meißner, 1993, Brätter, 1992).

Anorganische Kupfersalze können in hohen Dosen toxisch und sogar tödlich wirken. So sind Säuglinge verstorben, deren Nahrung über Wochen mit Wasser aus kupferhaltigen Durchlauferhitzern bereitet wurde.

Eine dauerhafte tägliche Aufnahme von mehr als 200 mg kann zu Übelkeit, Durchfall, Krämpfen, Störung der Gallenexkretion, Leberzirrhose und hämolytischer Anämie führen.

Eine Dosis von 4-8 g kann sogar tödlich wirken.

Eine angeborene kombinierte Transport- und Ausscheidungsstörung des Kupfers liegt beim Morbus Wilson vor. Dabei kommt es zu einer Kupferanreicherung in der Leber bis auf das Zwanzigfache als normal, Ablagerungen in Gehirn, auf der Linse und in der Niere. Klinisch relevant sind vor allem die Leberschädigung bis zur Nekrose, sowie neurologische und psychiatrische Störungen.

Durch Behandlung mit D-Penicillamin wird das Kupfer komplex gebunden und erfolgreich über die Nieren ausgeschieden (Meißner, 1993).

Die Ultrapurenelemente sind mit Ausnahme des Cäsium bei fast allen Dialysepatienten erhöht bis massiv erhöht.

Ursache dafür sind neben der geringeren Ausscheidung durch gestörte Nierenfunktion die Anreicherung während des Dialysevorganges aus der Dialyseflüssigkeit.

Die **Aluminium**überladung bei Dialysepatienten ist heute durch ständige Kontrollen bzw. durch den Ersatz der aluminiumhaltigen durch andere Phosphatbinder nicht mehr vorrangig problematisch (Stein,1991; Winnefeld, 1984). Eine leichte aber signifikante Erhöhung der Aluminiumkonzentration im Plasma und ein weiterer Anstieg während der Dialyse sind dennoch zu beobachten.

Aluminium ist kein essentielles Spurenelement. Es gibt bisher keinen Hinweis darauf, dass Aluminium für den normalen Ablauf von Stoffwechselprozessen im menschlichen Organismus notwendig ist.

Aluminiumquellen für den Menschen sind Nahrungsmittel, Stäube aber auch Kosmetika und Medikamente. Teepflanzen akkumulieren Aluminium. Es ist in Käse, Backpulvern, Tiefkühlkost, mariniertem Gemüse, in allen Getränken z. B. in mit Tonerde geklärten Weinen und Bieren enthalten.

Die Aluminiumaufnahme ist über Gegenstände zur Nahrungszubereitung ebenfalls möglich (Henning, 1989).

Der gesunde, erwachsene Mensch enthält wahrscheinlich weniger als 35 mg Aluminium. Das Element gelangt auf unterschiedlichen Wegen in den menschlichen Organismus, in erster Linie über die Atemwege (Staub) und die Nahrung (3-5 mg/d). Beim Gesunden werden die zugeführten Aluminiummengen mit dem Stuhl in schwerlöslicher Form, z.B. als Aluminiumphosphat wieder ausgeschieden. Die Aluminiumsausscheidung über den Urin dagegen ist gering (ca. 0,4%).

Der normale Aluminiumgehalt im Serum beträgt durchschnittlich etwa 0,3 µmol/l. Der größte Teil des Serumaluminiums (80-95%) ist an Proteine, vorwiegend Transferrin, gebunden. Eine durch Aluminiummangel verursachte Krankheit ist bisher nicht beschrieben worden.

Schwere Krankheitsbilder entstehen jedoch bei chronisch erhöhter Aluminiumaufnahme oder Aluminiumspeicherung (z.B. bei Dialysepatienten). Von dieser Intoxikation sind drei Organsysteme betroffen: Das Gehirn (Enzephalopathie), das Skelett (Osteomalazie) und das hämatopoetische System (mikrozytäre hypochrome Anämie).

Der gesunde Mensch vermag etwa 5 mg/d Aluminium auszuscheiden, sodass es zu keiner nennenswerten Aluminiumakkumulation kommt (Lote, 1991; Bia, 1989; Rovelli, 1988).

Eine Nierenschädigung bzw. eine gestörte Nierenfunktion kann zu einem Ansteigen der Serumaluminiumkonzentration und damit zur Aluminiumintoxikation führen.

Die **Kobalt**konzentration im Plasma der Dialysepatienten ist im Vergleich zu den Kontrollpersonen um den Faktor 5 vor und um den Faktor 8 nach der Dialyse erhöht.

Es wurden Kobaltgehalte, bis zu einem 100 fachen der normalen Plasmakonzentration in der Dialyseflüssigkeit beobachtet (Krachler, 2000). Der Körperbestand eines Erwachsenen beträgt für Kobalt ca. 1,1 mg.

Es ist ein essentielles Ultraspurenelement, dessen täglicher Bedarf zwischen 200 und 400 ng beträgt.

Kobalt wird in Form von Vitamin B12 vor allem aus Leber, Niere, Geflügel, Meeresfrüchten und Milch aufgenommen. Es bildet das Zentralatom im Vitamin B12, dem Cobalamin, welches vom menschlichen Organismus nicht selbst synthetisiert werden kann. Der Mensch ist auf die Zufuhr dieses Vitamins angewiesen, eine Substitution von Kobalt selbst wäre deshalb nicht sinnvoll.

Neben seiner Wirkung als Zentralatom des Cobalamins aktiviert Kobalt die Wirkung der Glukokinase.

Kobalt kann in der Leber und im Knochenmark gespeichert werden. Seine Ausscheidung erfolgt hauptsächlich über die Nieren.

Ein Kobaltmangel ist selten. Er tritt bei extrem einseitiger Ernährung (z.B. bei vegetarischer Kost oder bei Säuglingen) auf und führt zu perniziöser Anämie, hämatopoetischen und neurologischen Störungen.

Vitamin B12 ist selbst in Grammdosen ungiftig für den Säugetierorganismus. Es wird zur Behandlung bei Cyanidvergiftungen eingesetzt. Anorganische Kobaltsalze dagegen können in hohen Dosen toxisch oder sogar tödlich wirken. In der Vergangenheit wurde Kobaltchlorid zur Herstellung stabiler Schäume bei der Bierbrauerei eingesetzt. Diese Anwendung wurde unterbunden, da es zu Todesfällen kam (Brätter 1992).

Vergiftungserscheinungen sind Kardiomyopathien, Hyperthyreose, gastrointestinale Reizerscheinungen, Polyzythämie sowie Hemmung der Eisenaufnahme (Keller, 1998).

Eine erhöhte Kobaltaufnahme kann auch die Ursache einer Kropfbildung sein.

Bei den Elementen Mangan, Nickel, Chrom und Zinn wurde ebenfalls eine Akkumulation während der Dialyse nachgewiesen, die durch unzureichende Ausscheidung auch zwischen den Dialysezyklen nicht ausgeglichen wird. Als Ursache für diese erhöhten Konzentrationen, die bei Mangan bis auf das 11fache, bei Chrom sogar um das 40 fache des Normalbereiches ansteigen, ist eine erhöhte Konzentration in der Dialyseflüssigkeit zu sehen.

Mangan ist ein essentielles Spurenelement. Der menschliche Organismus enthält ca. 10 bis 20 mg. Es befindet sich zu 40% im Knochenmark sowie in Leber, Nieren, Pankreas und Muskulatur. Mangan ist Cofaktor für wichtige Enzyme wie alkalische Phosphatase, Mevalonatkinase, Arginase, Hyaluronidase, Pyruvatcarboxylase, Glycosyltransferasen und Superoxiddismutase. Diese manganhaltigen Metalloenzyme beeinflussen Stoffwechselfunktionen wie die Glukogenese aus Laktat, die Triglyceridsynthese (Pyruvatcarboxylase) oder die Cholesterinsynthese (Brätter 1992).

Die täglich empfohlene Aufnahmemenge beträgt 2 – 5 mg. Mangan wird überwiegend über feste Nahrung, weniger über das Trinkwasser aufgenommen. Höhere Konzentrationen an Mangan enthalten rote Rüben, Vollkorn. Früchte, Blaubeeren, Hülsenfrüchte und Tee. Nur 3% der löslichen Manganverbindungen werden gastrointestinal resorbiert. Die Ausscheidung von nichtabsorbiertem Mangan erfolgt fast vollständig über den Stuhl. (Sandström, 1986).

Ein Manganmangel ist selten, da das Element in ausreichender Menge in der Nahrung vorhanden ist. Selbst bei totaler parenteraler Ernährung sind keine zusätzlichen Mangangaben erforderlich. Ein Manganmangel wurde im Zusammenhang mit der postmenopausalen Osteoporose beschrieben.

Manganmangelsymptome sind Knochen- und Knorpeldeformationen, Gerinnungsstörungen, verminderte Prothrombin-Synthese, Hypcholesterinämie.

Manganintoxikationen haben lediglich arbeitsmedizinische Bedeutung. Eine Manganvergiftung über die Nahrung ist nicht bekannt. Manganvergiftungen betreffen z.B. Industriearbeiter in Manganerzmühlen, Hüttenbetrieben und Bergwerken. Durch das Einatmen von Stäuben mit sehr hoher Mangankonzentration kommt es zur Manganpneumonie. Der dadurch folgende Manganismus ist eine schwere neuropsychiatrische Erkrankung, die sich als Parkinson-Syndrom äußert.

Weitere Symptome eines Manganüberschusses sind Störungen des Intermediärstoffwechsels und der Hämoglobinbildung (Brätter 1992).

Obwohl über die spezifische biologische Funktion des **Nickels** im Stoffwechsel noch kaum etwas bekannt ist, scheint gesichert zu sein, dass es ein essentielles Spurenelement ist .

Nickel spielt vermutlich eine Rolle im Metabolismus von Membranen und bei der Stabilisierung von Nukleinsäuren. Es wird als Bestandteil verschiedener mitochondrialer Enzyme diskutiert (Feeser, 1995).

Im Serum ist Nickel hauptsächlich an Albumin gebunden, es gibt eine ultrafiltrierbare, eine albumingebundene und eine an Nickeloplasmin gebundene Form. Der Nickelstoffwechsel, die Nickelresorption und die Nickelwirkung hängen stark von der Art der aufgenommenen Nickelverbindungen ab (Anke, 1984).

Nickel und seine Verbindungen werden schlecht im Magen-Darmtrakt resorbiert, die geschätzte orale Aufnahme liegt bei 500 µg/d. Die Ausscheidung erfolgt in erster Linie über die Faezes.

Mangellerscheinungen konnten beim Menschen bisher noch nicht festgestellt werden.

Nickel gelangt hauptsächlich über den Bergbau, Reinigungsverfahren und industrielle Arbeitsvorgänge in die Umwelt. In Stäuben und Hüttenrauch enthaltene Nickelverbindungen können erhebliche gesundheitliche Gefährdungen auslösen. Dabei erfordern die kanzerogenen Eigenschaften einiger Nickelverbindungen eine strenge Überwachung der exponierten Personen (Geldmacher-v.Mallinckrodt, 1984).

Bei Arbeitern galvanischer Nickelraffinerien erzeugte die Einatmung lösliche nickelsalzhaltiger Aerosole chronischen Schnupfen und Nasennebenhöhlenentzündungen. Nickeldermatitis entsteht normalerweise durch direkten Hautkontakt mit Nickellegierungen oder -salzen, kann aber bei Allergikern auch durch orale Aufnahme ausgelöst werden.

Dialysepatienten haben gegenüber Normalpersonen höhere Nickelkonzentrationen im Serum. Dabei hat jedoch die Nিকেlexposition durch die Umwelt keinen Einfluss auf die Nickelakkumulation unter der Dialyse.

Die toxischen Wirkungen von Nickelsalzen führen bei Tieren zu reduziertem Wachstum, erhöhter Sterblichkeit (auch intrauterin) und zu erhöhter Missbildungsrate.

Kanzerogene Wirkungen werden vorrangig Nickeloxid, Nickelmonosulfid, Nickelsubsulfid, Nickel-tetracarbonyl und dem metallischen Nickel zugeschrieben.

Als Ursache für die Kanzerogenität werden genetische Veränderungen diskutiert (Edelmann, 1989).

Die **Chrom**konzentration im Plasma der Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz ist vor der Dialyse etwa um den Faktor 50 höher als normal. Durch Kontamination während des Dialysevorganges steigt sie weiter an.

Chrom liegt in biologischen Systemen in unterschiedlichen Oxidationsstufen vor. Für den menschlichen Organismus sind die Cr-(III) und die Cr-(VI)- Verbindungen wesentlich. Chrom wird hauptsächlich mit der Nahrung aufgenommen. Die Resorption im Gastrointestinaltrakt ist abhängig von verschiedenen Faktoren (z.B. Löslichkeit und Wertigkeit der Verbindungen) und beträgt ca. 1-5 %. Neben der Aufnahme über die Nahrung wird ebenfalls von einer Chromabsorption durch Inhalation und die Aufnahme über die Haut berichtet.

Die empfohlene tägliche Aufnahmemenge für Chrom beträgt 0,05 bis 0,2 mg .

Chrom wird in breitem Umfang in der Metallindustrie bei der Herstellung von Legierungen bzw. zum Verchromen von anderen Metallen als wirksamer Schutz gegen oxidativen Angriff, aber auch in der Farben- und Glasproduktion verwendet .

Chrom-(III) ist ein essentielles Spurenelement und wird im normalen Kohlehydrat- und Lipidstoffwechsel (Wirkungsmechanismus des Insulins) benötigt (Granadillo, 1995).

Während sogar relativ hohe Dosen oral verabreichten Cr-(III) keine schädigende Wirkung auf den menschlichen Organismus haben, kann das hexavalente Chrom dagegen akute und chronische Vergiftungen auslösen.

Der Unterschied in der Toxizität der beiden Chromionen lässt sich damit erklären, dass Cr⁶⁺ schnell in die Zelle transportiert wird, während Cr³⁺ nicht in der Lage ist, die Zellmembran zu durchdringen.

Die Exposition mit Chrom-(VI) kann zu irritativen Läsionen der Haut, des Gastrointestinal- oder Respirationstraktes führen.

Patienten mit akuten Vergiftungen zeigen Lebernekrosen, tubuläre Nekrosen und cerebrale Ödeme. In höheren Dosen aufgenommenes Cr-(VI) wirkt kanzerogen (Schmitt, 1988).

Untersuchungen an Lungengewebe deuten darauf hin, dass die Chromakkumulation bei Rauchern höher ist als bei Nichtrauchern. Der Emphysemgrad und die Anreicherung des Chroms aus dem Tabak in der Lunge können als Indikator für die Stärke des Rauchens dienen (Anttila, 1989).

Bei Dialysepatienten lässt sich ein positiver Zusammenhang zwischen Chromkonzentration und dem Gesamtcholesterol im Serum und der Glucose im Blut nachweisen (Wallaeys, 1987).

Die bei den Dialysepatienten beobachtete **Zinnerhöhung** im Plasma ist in dieser Größenordnung unbedenklich.

Zinn hat wahrscheinlich essentielle Bedeutung. Es findet sich sowohl im Gewebe von Menschen und Tieren als auch in Pflanzen.

Seine Konzentration im menschlichen Organismus ist stark von geographischen Faktoren, Alter und Eßgewohnheiten abhängig.

Der genaue Wirkmechanismus im Organismus ist weitgehend unbekannt. Wahrscheinlich wirkt es als Katalysator von Oxidations- und Reduktionsprozessen.

Zinn soll für Wachstum und Zahnentwicklung von Bedeutung sein.

Es ist möglicherweise auslösender Faktor für spezielle enzymatische Reaktionen der Proteinsynthese nach der Geburt (Zumkley, 1990).

Es wurde eine mögliche Essentialität als Bestandteil des Magenenzym Gastrin vermutet (Keller, 1998).

Zinn wird aufgrund seiner geringen Aufnahme über die tierische und pflanzliche Nahrung und schnellen Ausscheidung über Urin und Stuhl als relativ harmloses Element eingeschätzt. Zinn-Vergiftungen sind durch zinnhaltige Nahrungsmittelverpackungen, Stabilisatoren, Fungizide und Lötmetalle möglich (Chiba, 1990).

Zinn ist in fester Form relativ ungefährlich. Organische und anorganische Zinnverbindungen können jedoch Vergiftungserscheinungen hervorrufen. Ihnen werden ähnliche toxische Eigenschaften wie dem Quecksilber zugeschrieben.

Im Jahre 1954 kam es in Frankreich zu Sn-Vergiftungen mit 110 Todesfällen durch ein Medikament mit zinnhaltigen Verbindungen (Moeschlin, 1980).

Zinnintoxikationen können zu schweren Kopfschmerzen, Erbrechen, Gewichtsverlust, Verdauungsstörungen, Bewusstseinseinschränkungen, visuellen Störungen, psychischen Veränderungen und Atemlähmung führen (Keller, 1998).

Im Tierversuch wurden Skelettschäden und Entwicklungsverzögerung bei Ratten mit erhöhter Zinnaufnahme beobachtet (Chiba, 1990).

Die **Cäsium**konzentration sinkt aufgrund niedriger Gehalte in der Dialyseflüssigkeit während der Dialyse auf Werte unter normal. Durch die Aufnahme über die Nahrung wird die Cäsiumkonzentration im Plasma zwischen den Dialysezyklen allmählich wieder angehoben.

Cs wird vorrangig über Fleisch, Milch und Milchprodukte aufgenommen und aus dem Magen-Darm-Trakt vollständig resorbiert (Welz, 1997). Bei Schwangeren wurde eine beschleunigte Cs-Aufnahme beobachtet. Normalerweise wird das Cäsium im Körpergewebe, hauptsächlich in den Muskeln und Nieren verteilt. Geringere Konzentrationen werden in der Haut, dem Gehirn und im Blut gefunden (Krachler, 1998).

Obwohl es in Blut und Gewebe des Säugetierorganismus vorkommt, gilt es nicht als essentielles Spurenelement.

Die physiologische Wirkung von Cäsium ist ähnlich der des Kalium, obwohl es quantitative Unterschiede gibt. Cäsium kann Kalium aus Muskeln und Erythrozyten verdrängen. Es übt einen aktiven Ionentransport-Effekt durch Blockierung der Kaliumkanäle und Wechselwirkung mit Membranlipoproteinen aus.

Cäsium zeigt markante Wirkung auf das periphere und das Zentralnervensystem. Wegen seiner Wirkung auf postsynaptische Aktivitäten kann es als Auslöser für epileptiformes Zittern in Verbindung gebracht werden.

Da Cäsium in Ionenform im Blut vorliegt, ist es dialysabel und wird während der Dialyse teilweise aus dem Serum entfernt. Obwohl die niedrigen Dialysatkonzentrationen gut dokumentiert sind, ist nichts über die klinische Bedeutung bei Dialysepatienten bekannt (Krachler, 1998; Krachler, 1999).

5.2. Patienten mit einer kardiologischen Erkrankung

Auch bei Patienten mit einer kardiologischen Erkrankung sind Abweichungen im Elementhaushalt zu beobachten. Die Mengenelemente Natrium und Kalium sind im Plasma der Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht. Eine Ursache dafür ist nicht bekannt. **Natrium** ist eine wichtige Kenngröße bei der Blutdruckkontrolle. Deshalb sollten die Na- Plasmakonzentrationen im Bereich von 135-145 mmol/l liegen. Hohe Natriumgehalte führen zu erhöhtem Blutdruck und über einen längeren Zeitraum zu kardiovaskulären Erkrankungen.

Erhöhte **Kalium**konzentrationen im Plasma können zu Herzstörungen und Blutdruckabfall führen.

Der Mittelwert der **Magnesium**konzentration im Plasma der Patienten mit einer kardiologischen Erkrankung ist im Vergleich zu den Kontrollpersonen leicht erniedrigt. Bei 16 Patienten konnte ein Magnesiummangel festgestellt werden.

Der Magnesiumgehalt des Körpers eines erwachsenen Menschen beträgt 21 bis

28 g. Der größte Magnesiumspeicher ist der Knochen mit ca. 50 bis 60 % des Gesamtkörpermagnesiums. 60 bis 80 % davon sind rasch verfügbar. Weitere 40 % des Magnesiums finden sich in anderen Organen, vor allem in der Skelett- und Herzmuskulatur, sowie in der Leber. Nur ca. 1% des Magnesiums findet sich im Plasma (Antoni, 1989).

Der normale Tagesbedarf eines Erwachsenen liegt zwischen 300 bis 400 mg. Nicht benötigtes Magnesium wird fast vollständig über die Nieren ausgeschieden. Etwa 2-3 % des Magnesiums gehen durch Magensaft, Galle, Pankreassaft und Faeces verloren.

Magnesium ist Bestandteil des Magnesium-Adenosin-Triphosphates und essentieller Kofaktor der Na/K-ATPase sowie vieler anderer Enzyme (ca. 300) .

Mg ist u.a. an der Phosphorylierung der Kohlenhydrate und an der Knochenbildung beteiligt. Durch seine enzymaktivierende Rolle im Phosphorylierungssystem beeinflusst es auch die Lipidsynthese und die Cholesterolveresterung. Ferner hemmt es die Blutgerinnung und fördert die Fibrinolyse.

Der Einfluss des Magnesiums auf die neuromuskuläre Erregbarkeit lässt bei Mangelzuständen unter Umständen tetanische Zustände entstehen (Fehlinger, 1991).

Ein Magnesiummangel ist weit verbreitet, aber schwierig nachweisbar. In ca. 50% der Fälle besteht ein zellulärer Mangel, der sich im Blutserum nicht manifestiert.

Ein Magnesiummangel tritt gehäuft bei Patienten mit Diabetes mellitus, Hypertonie, koronarer Herzerkrankung, Herzklappenfehler, Herzinsuffizienz aber auch bei einseitiger Ernährung und bei Alkoholismus auf.

Ein Magnesiummangel kann nervale Symptome sowie Auswirkungen im Bereich des Gastrointestinaltraktes und des Herz-Kreislauf-Systems hervorrufen (Kisters, 1996).

Klinisch bedeutsam für Patienten mit einer kardiologischen Erkrankung ist der Mangel an Selen und Zink. Beide Elemente sind am Aufbau antioxidativ wirkender Enzyme beteiligt.

Ein **Selenmangel** kann kardiovaskuläre Erkrankungen, Störungen des Knochenwachstums sowie ein erhöhtes Krebsrisiko zur Folge haben.

Die Keshan- Krankheit wurde benannt nach deren Vorkommen in Keshan in China, einem ländlichen Gebiet mit sehr niedrigem Selengehalt des Bodens.

Durch die geringe Selenaufnahme wurde bei den Menschen dieser Region extrem niedrige Selengehalte in Vollblut und Haar gefunden (Zumkley, 1988). Ca. 1% der Bevölkerung dieser Region erkrankt an dieser Krankheit.

Neben deutlicher Vergrößerung des Herzens tritt akute Herzinsuffizienz auf, 50% der Betroffenen sterben an dieser Krankheit.

Durch Behandlung mit Natriumselenit erkrankten weniger Personen.

Da sich der Selenmangel bei diesen Patienten auch im Urin manifestiert, kann geschlussfolgert werden, dass der Organismus versucht, den antioxidativen Status zu verbessern. Dazu wird vermehrt Selen in den Zellen benötigt und aus dem Plasma verstärkt aufgenommen (Luoma, 1984; Köhler, 1985; Krachler, 1998).

Ein **Zink**mangel im Plasma wird bei verschiedenen Infektionskrankheiten beobachtet. Dieser Mangel ist das Ergebnis einer Zinkanreicherung in der Leber, wo das Element für die Synthese von Akut-Phase-Proteinen benötigt wird. Ein ähnlicher Effekt wird auch bei Patienten mit kardiovaskulärer Erkrankung beobachtet. Die Zinkkonzentration im Herzklappengewebe ist bei diesen Patienten im Durchschnitt um das 10 fache erhöht. Zink wird zur Regulation der Immunfunktion aus dem Blut in das Gewebe transportiert (Nyström-Rosander, 2002), was zu erniedrigten Konzentrationen im Plasma führt.

Die erhöhten Konzentrationen von **Eisen, Mangan, Aluminium, Chrom und Silizium** wurden teilweise schon von anderen Arbeitsgruppen beobachtet. Sie können auf Kontamination der Elemente bei Eingriffen am Herzen bzw. aus Medikamenten zurückgeführt werden. So ist beispielweise bekannt, dass höhere Konzentrationen an Mangan im Heparin enthalten sind (Krachler, 1995). Die Konzentrationserhöhungen sind in dieser Größenordnung unbedenklich.

Eisen fördert kardiovaskuläre Erkrankungen durch seine starke oxidative Wirkung und seine katalytische Wirkung auf die Lipidperoxidation (Kletzmayr, 2002; Brätter, 1992).

Es wird mit einer Erhöhung des Infarkttrisikos in Verbindung gebracht. Neben erhöhten Eisenkonzentrationen im Plasma ist auch der Eisengehalt im Herzklappengewebe erhöht (Nyström-Rosander, 2002).

Die Eisenkonzentration im Serum oder Plasma unterliegt starken tageszeitlichen Schwankungen und ist stark abhängig von der aufgenommenen Nahrung. Für die Einschätzung des Eisenstatus ist dieser Wert demnach nur bedingt aussagekräftig (Bothwell, 1979).

Eine Ursache für die signifikant niedrigeren **Nickel**konzentrationen ist nicht bekannt.

5.3. Patienten mit einer Schizophrenie

Der Mengen-, Spuren- und Ultrapurenelementstatus bei Patienten mit einer Schizophrenie ist zur Zeit noch wenig untersucht. Aufgrund der geringen Zahl der Probanden ist die Auswertung schwierig.

Die erhöhten Konzentrationen von **Natrium** und **Chrom** sind wahrscheinlich durch Kontamination, Medikamente oder diätetisch bedingt.

Der durch andere Arbeitsgruppen festgestellte **Rubidium**mangel bei psychiatrischen Erkrankungen kann durch diese Untersuchungen nicht bestätigt werden. Es wurde ein signifikanter leichter Anstieg der Rubidiumkonzentration im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt (Corrigan, 1991).

Beachtung schenken und weiter untersuchen sollte man jedoch die hochsignifikant niedrigeren Konzentrationen von **Selen**. Es konnte festgestellt werden, dass die Schizophrenie in Selenmangelgebieten gehäuft auftritt (Brown, 1994).

Auch die Elemente Zink und Magnesium im Plasma der Patienten mit einer Schizophrenie sind signifikant erniedrigt. Ähnliche Ergebnisse wurden auch von anderen Arbeitsgruppen berichtet (Brown, 1994; Johnson, 2001; Kirov, 1990).

Aufgrund der hohen Stressanfälligkeit der psychisch erkrankten Personen ist bei Patienten mit einer Schizophrenie ein **Magnesiummangel** zu beobachten (Kirov, 1990). Ein manifestierter Magnesiummangel kann nervale Symptome (Muskelkrämpfe, Konzentrationsstörungen, depressive Verstimmungen, psychische Erschöpftheit) hervorrufen (Kisters, 1996).

Untersuchungen ergaben, dass Kinder, deren Mütter in der Schwangerschaft niedrige **Zink** und hohe Kupferkonzentrationen aufwiesen, häufiger an Schizophrenie, Autismus oder Epilepsie erkrankten. Das bedeutet, dass Zink schon in der Frühentwicklung des Gehirns benötigt wird (Johnson, 2001). Zink ist an der Synthese von Serotonin und Melatonin beteiligt. Ein Zinkmangel führt zu einem Mangel beider für die Hirntätigkeit wichtiger Enzyme.

5.4. Allgemeine Schlussfolgerungen

Die Elemente Rubidium und Cäsium sind die einzigen Elemente, die bei allen Patientengruppen und der Kontrollgruppe miteinander korrelieren. Diese Korrelation wurde bisher in der Literatur nicht beschrieben, da diese Elemente sehr wenig untersucht wurden.

Beide Alkalimetalle gehören zu den lithophilen Elementen, die hauptsächlich in Form von Silikaten und Mineralen in der Erdkruste enthalten sind und über den Wasserkreislauf in den menschlichen Organismus gelangen. Bei einem Vergleich von 42 Elementen (Haraguchi, 1999) wurde festgestellt, dass sowohl Rubidium als auch Cäsium in Blutserum und Meerwasser in gleichen Konzentrationsbereichen enthalten sind. Ein ernährungsbedingter Zusammenhang kann demnach vermutet werden. Ebenso könnte eine individuell verschiedene Elementresorption und der Transport in das Plasma für die Korrelation beider Elemente verantwortlich sein.

Bei allen drei untersuchten Patientengruppen wurde ein Selen- und Zinkmangel festgestellt, als Zeichen der Reaktion des Körpers auf die Erkrankung. Dieser Elementmangel kann Ursache oder Folge der Erkrankung sein.

Eine kontrollierte Substitution von Selen und Zink wäre bei allen Patienten zu überdenken.

6. Zusammenfassung

In der medizinischen Diagnostik werden besondere Anforderungen an die verwendeten Analysenverfahren gestellt. Verfahren mit einem hohen Automatisierungsgrad, die kostengünstig und schnell mit wenig Probenmaterial eine Vielzahl von analytischen Informationen liefern, werden zunehmend eingesetzt.

Aufgrund der Analysenkosten, Analysendauer und des geringen verfügbaren Probenvolumens ist für die Bestimmung von Mengen-, Spuren- und Ultrapurenelementen eine Multielementanalyse von Vorteil. Die hochempfindliche Methode der Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma (ICP-MS) wurde dazu getestet.

In den vorliegenden Untersuchungen wurde das ICP-MS Elan 6000 von der Firma Perkin Elmer Instruments verwendet. 18 ausgewählte Mengen-, Spuren und Ultrapurenelemente (Aluminium, Calcium, Cäsium, Chrom, Eisen, Iod, Kalium, Kobalt, Kupfer, Magnesium, Mangan, Natrium, Nickel, Rubidium, Selen, Silizium, Zink und Zinn) wurden im Blutplasma von Patienten mit einer terminalen Niereninsuffizienz (Dialysepatienten), von Patienten mit kardiologischen Erkrankungen (Bluthochdruck oder Patienten nach einem Eingriff am Herzen) sowie von Patienten mit einer Schizophrenie analysiert und mit einer Kontrollgruppe („scheinbar gesunde“ Blutspender) verglichen.

Eine Bestimmung aller interessierender Elemente in einem Probenansatz während eines Messzyklus mit dem Elan 6000 war unter den gegebenen gerätetechnischen Voraussetzungen nicht möglich.

Ursachen waren die extremen Konzentrationsunterschiede der Elemente (Natrium: $138,9 \pm 1,5$ mmol/l; Kobalt: < NWG – 3,9 nmol/l) sowie spektrale Interferenzen durch Proben- und Lösungsmittelbestandteile und das Plasmagas Argon.

Die ICP-MS sowie die in der klinisch-chemischen Routine verwendeten Methoden der AAS und ISE wurden bezüglich Nachweisgrenze, Störanfälligkeit, Richtigkeit, Probenverbrauch und Analysenkosten verglichen. Für jedes der 18 untersuchten Elemente wurde die optimale Methode ermittelt, mit der die nachfolgenden Untersuchungen durchgeführt wurden.

Die Elemente Aluminium, Kobalt, Calcium, Cäsium, Kupfer, Iod, Magnesium, Rubidium, Zinn, Zink wurden mit der ICP-MS, Chrom, Eisen, Mangan, Nickel, Selen, Silizium mit der Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) und Natrium und Kalium mit der ionenselektiven Potentiometrie (ISE) analysiert.

Aufgrund der bei einigen Elementen auftretenden und nicht mathematisch korrigierbaren Interferenzen ist das Elan 6000 nur bedingt in der klinischen Diagnostik einsetzbar.

Eine Minimierung der beschriebenen Interferenzeffekte bei der ICP-MS ist durch den Einsatz der hochauflösenden Sektorfeld-ICP-MS möglich. Mit Hilfe dieser Technik kann

das Auflösungsvermögen, d.h. die Trennung zweier Signale (Analyt- und Interferenzsignal) im Vergleich zur Quadrupol-ICP-MS wesentlich verbessert werden. Neben der Verringerung von Störungen durch die Proben- und Lösungsmittelmatrix werden mit dieser Technik kleinere Nachweisgrenzen erzielt (Paul, 2003; Townsend, 1999).

Die hochauflösende Sektorfeld-ICP-MS, die für die vorliegenden Untersuchungen nicht zur Verfügung stand, ist sehr kostenintensiv (hohe Anschaffungskosten) und keine Routinemethode in der klinischen Chemie.

Die vorliegenden Untersuchungen haben gezeigt, dass bei Patienten mit chronisch dialysepflichtigen, kardiologischen und psychiatrischen Erkrankungen signifikante Abweichungen von Elementkonzentrationen verglichen mit der Kontrollgruppe auftreten. Die Korrelation der Elemente untereinander ist bei der Kontrollgruppe, den Patienten vor der Dialyse, mit kardiologischer Erkrankung und Schizophrenie nur selten, während nach der Dialyse ein statistischer Zusammenhang bei fast allen Elementen zu beobachten ist.

Die Elemente Rubidium und Cäsium sind die einzigen Elemente, die bei allen Patientengruppen und der Kontrollgruppe miteinander korrelieren. Da diese „vergessenen Elemente“ bisher nur unzureichend untersucht wurden, gibt es keine genaue Erklärung für diese Beobachtung. Nur wenige Elemente korrelieren mit Alter und Geschlecht.

Durch die Auswertung der Messdaten mit dem Programm „Statistika“ konnte mit der Hauptkomponentenanalyse eine zum Teil sehr gute lineare Trennung der Patienten in verschiedene Klassen ermittelt werden. Die Patienten innerhalb jeder Gruppe der drei untersuchten Erkrankungen weisen ähnliche Elementverschiebungen auf. Diese vergleichbaren Veränderungen könnten für Therapieansätze bei den Patientengruppen genutzt werden. Von der Kontrollgruppe signifikant abweichende Elemente sollten kontrolliert und bei einem Mangel substituiert werden.

Umgekehrt können anhand der Lage der Messpunkte im Screeplot bei Auswertung weniger Elemente Hinweise über mögliche vorliegende Krankheitsbilder gegeben werden.

Es ist vorstellbar, dass sich die Methode der Hauptkomponentenanalyse in der Diagnostik allgemein zur automatischen Auswertung einer unübersichtlich hohen Anzahl von Laborparametern einsetzen lässt.

Der Spurenelementstatus ist bei Patienten mit einer terminalen Niereninsuffizienz im Vergleich zu Probanden mit normaler Nierenfunktion erheblich verändert. Signifikante Anreicherungen wurden für die Elemente Aluminium, Kobalt, Mangan, Nickel, Zinn, Magnesium, Chrom, Silizium und Kalium, ein Mangel für Rubidium, Selen, Zink, Calcium und Eisen bei diesen Patienten nachgewiesen.

Die Anreicherung der Elemente wird durch eine reduzierte Ausscheidung auf Grund der gestörten Nierenfunktion und durch die Aufnahme aus der Dialyseflüssigkeit während der Dialyse verursacht.

Der Mangel ist der proteinarmer Ernährung und der damit reduzierten Aufnahme vorrangig proteingebundener Elemente wie Selen und Zink sowie Verlusten von Rubidium und Eisen während der Dialyse zuzuschreiben.

Während der Dialyse kommt es zu weiteren Veränderungen. Durch die Erhöhung des Proteingehaltes im Plasma kommt es zu einem leichten Anstieg der Konzentrationen proteingebundener Elemente (z.B. Calcium, Selen, Eisen, Kupfer, Zink). Eine Kontamination aus der Dialyseflüssigkeit führt zu steigenden Konzentrationen der Elemente Aluminium, Chrom, Mangan, Nickel und Zinn nach der Dialyse.

Die Elemente Kalium, Natrium, Rubidium, Cäsium, Silizium sind dialysabel. Eine Konzentrationsregulierung erfolgt durch definierte Gehalte der Elemente Natrium und Kalium in der Dialyseflüssigkeit. Trotz Reduzierung des Siliziums im Plasma um durchschnittlich 45% durch die Dialyse bleiben die Konzentrationen weit über dem Normalbereich. Durch Konzentrationsverminderung von Rubidium und Cäsium im Plasma wird bei den Dialysepatienten ein Mangel an diesen Elementen hervorgerufen. Eine Einstellung der Konzentration dieser Alkalimetalle im Blutplasma über die Dialyseflüssigkeit, wie sie bei den Mengenelementen vorgenommen wird, wäre denkbar.

Bei den Patienten mit einer kardiologischen Erkrankung wurden erhöhte Konzentrationen der Mengenelemente Natrium und Kalium nachgewiesen, die Herzfunktion und Blutdruck beeinflussen können.

Spuren- und Ultraspurenelementerhöhungen bei Eisen, Aluminium, Silizium, Chrom und Mangan können auf Kontamination der Elemente bei Eingriffen am Herzen bzw. auf Medikamente zurückgeführt werden.

Klinisch bedeutsam ist bei dieser Patientengruppe der Mangel an Selen und Zink, der kardiovaskuläre Erkrankungen zur Folge haben kann.

Die untersuchten Patienten mit einer Schizophrenie wiesen im Vergleich zu den Kontrollpersonen hoch signifikant niedrigere Konzentrationen an Magnesium, Selen und Zink im Plasma auf. Alle drei Elemente sind am Aufbau von Enzymen beteiligt, die u.a. auch für die Hirntätigkeit verantwortlich sind.

Aufgrund der geringen Anzahl an Probanden sind weitere Untersuchungen des Elementstatus bei Patienten mit psychiatrischer Erkrankung nötig, um die vorliegenden Ergebnisse zu bestätigen.

Anhand der drei untersuchten Patientengruppen wurde gezeigt, dass die Bestimmung von Mengen-, Spuren- und Ultraspurenelementen in der klinischen Chemie von Bedeutung ist, wobei nicht alle 18 Elemente praxisrelevant sind. Bei allen drei Patientengruppen wurde beispielsweise ein Selen- und Zinkmangel festgestellt, als Zeichen der Reaktion des Körpers auf die Erkrankung. Dieser Elementmangel kann

Ursache oder Folge der Erkrankung sein. Eine kontrollierte Therapie mit Selen und Zink wäre bei diesen Patienten zu überdenken.

Bei den Dialysepatienten können umfangreichere Elementuntersuchungen und eine Regulierung des entgleisten Elementhaushaltes empfohlen werden.

7. Literaturverzeichnis

Alimonti, A., Petrucci, F., Fioravanti, S., Laurenti, F., Caroli, S.: *Assesment of the content of selected trace elements in serum of term and pre-term newborns by ICP-MS*, 1997, Anal. Chim. Acta, **342** , 75-81

Alfassi, Z.B.: *Determination of Trace Elements*, 1994, Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim

Anke, M., Groppe, B., Angelow, L., Scholz, E.: *Der Transport des Iods in der Nahrungskette*, 1995, 9. Jahrestagung der Gesellschaft für Mineralstoffe und Spurenelemente, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 1-19

Anke, M., Groppe, B., Kronemann, H., Grün, M., *Nickel - an essentiell element*, 1984, IARC Scientific publications No. **53**, Eds. F.W. Sundermann et al. , Lyon

Antoni, D.: *Magnesium in der Therapie kardialer Erkrankungen*, 1989, in „Was gibt es Neues in der Medizin?“, Dr. Peter Müller Verlag Wien

Anttila, S., Kokkonen, P., Pääkkä, P., Rainio, P. : *High concentration of chromium in lung tissue from lung cancer patients*, 1989, Cancer, **63**, 467-473

Barany, E., Bergdahl, I.A., Schütz, A., Skerving S., Oskarsson, A.: *ICP-MS for Direct Multi-Element Analysis of Diluted Human Blood and Serum*, 1997, J. Anal. Atom. Spectrom., **12**, 1005 – 1009

Bercowy, G. M., Hop Vo, Rieders, F.: *Silicon analysis in biological specimens by direct-current Plasma-Atomic Emission-Spectroscopy*, 1994, J. Anal. Toxicol., **18**, 46-48

Bia, M.J., Cooper, K., Schal, S.: *Aluminium induced anemia - Pathogenesis and treatment in patients with cronic hemodialysis*, 1989, Kidney Int., **36**, 852-58

Bogy, G., Tompos, G., Alfrthan, G.: *Selenium Depletion in Hemodialysis Patients Treated with Polysulfone Membranes*, 2000, Nephron, **84**, 119-123

Bothwell, T.H., Charlton, R.W., Cook, J.D., Finch, C.A.: *Iron Metabolism in Man*, 1979, Blackwell Scientific Publications

Brätter, P. et al.: *Mineralstoffe und Spurenelemente, Leitfaden für die ärztliche Praxis*, 1992, Verlag Bertelsmann Stiftung

Broeckardt, J.A.C.: *ICP-Massenspektrometrie*, 1990, Analytikertaschenbuch Bd.9, Akademie Verlag Berlin

Brown, J.S.: *Role of Selenium and other Trace Elements in the Geography of Schizophrenia*, 1994, Schizophrenia Bull., **20**, 387-398

Canavese, C. et al.: *Rubidium deficiency in dialysis patients*, 2001, J. Nephrol., **14**, 169-175

Caroli, S., Alimonti, A., Coni, E., Petrucci, F., Senofonte, O., Violante, N.: *The assessment of reference values for elements in human biological tissues and fluids*, 1994, Crit. Rev. Anal. Chem., **24**, 363-398

Chan, S., Gerson, B., Reitz, R.E., Sadjadi, S.A.: *Technical and Clinical Aspects of Spectrometric Analysis of Trace Elements in clinical Samples*, 1998, Clin. Lab. Med., **18**, 615-629

Chiba, M., Kikuch, M., Tohyama, C., Nishikawa, M.: *Concentrations of Essential Elements After Repeated Administrations of Tin and Selenium*, 1990, Biol. Trace Elem. Res., **25**, 137-147

Corrigan, F.M., Vanrhijn, A.G., Horrobin, D.F., Skinner, E.R., Ward, N.I.: *Element Lipid Correlations in Schizophrenia*, 1991, Trace Elem. Med., **8**, 101-105

D`Haese, P.C., DeBroe, M.E.: *Trace metals in chronic renal failure patients treated by dialysis*, 1999, Trace Elem. Electroly., **16**, 163-174

D`Haese, P.C., DeBroe, M.E.: *Adequacy of dialysis; Trace elements in dialysis fluids*, 1996, Nephrol. Dial. Transpl., **11**, 92-97

Dams, R.: *RNAA as Compared to ICP-MS for the Analysis of Normal Human Serum*, 1994, Biol. Trace. Elem. Res., **43-45**, 539-48

Danzer, K., Hobert, H., Fischbacher, C., Jagemann, K.-U.: *Chemometrik; Grundlagen und Anwendung*, 2001, Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York

Delves, H.T., Sieniawska, A.E.: *Simple Method for the Accurate Determination of Selenium in Serum by Using ICP-MS*, 1997, J. Anal. Atom. Spectrom., **12**, 387-89

Deuber, H.J.: *Spurenelemente bei Dialyse*, 2002, Osteologie-Forum, **8**, 29-42

DIN 32 645, *Nachweis- Erfassungs- und Bestimmungsgrenze*

Doerffel, K.: *Statistik in der analytischen Chemie*, 1987, VEB Deutscher Verlag für Grundstoffindustrie Leipzig

Edelman, D.A., Roggli, V.L.: *The accumulation of nickel in human lungs*, 1989, Environ. Health Persp., **81**, 221-224

Feeser, U., Rügauer, M., Kruse-Jarres, J.D.: *Analytik von Nickel in Körperflüssigkeiten mittels GFAAS*, 1995, CANAS `95 Colloquium Analytische Atomspektroskopie

Fehlinger, R.: *Das tetanische Syndrom*, 1991, Verlag Pharm (Berichte), 7-30

Flanigan, M.J.: *Role of sodium in hemodialysis*, 2000, Kidney Int., **58**, 72-78

- Forrer, R.,** Gautschi, K., Lutz, H.: *Simultaneous Measurement of the Trace Elements Al, As, B, Be, Cd, Co, Cu, Fe, Li, Mn, Mo, Ni, Rb, Se, Sr, and Zn in Human Serum and Their Reference Ranges by ICP-MS*, 2001, *Biol. Trace Elem. Res.*, **80**, 77-93
- Forrer, R.,** Gautschi, K., Stroh, A., Lutz, H.: *Direct Determination of Selenium and other Trace Elements in Serum Samples by ICP-MS*, 1998, *J. Trace Elem. Med. Biol.*, **12**, 240-247
- Geldmacher-v.Mallinckrodt, M.:** *Metalle in der Umwelt - Verteilung, 1984, Analytik und biologische Relevanz*, Weinheim Verlag Chemie
- Granadillo, V.A.,** Salgado, O., Barrios, L. Ch., Romero, R.A.: *Distribution of chromium in blood components of diabetic and azotemic patients*, 1995, *Trace Elem. Electroly.*, **12**, 76-80
- Haraguchi, H.:** *Multielement Profiling Analyses of Biological, Geochemical, and Environmental Samples as Studied by Analytical Atomic Spectrometry*, 1999, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **72**, 1163-1186
- Hecht, H.:** *Zur Bewertung von Messreihen mit vielen unter der Nachweisgrenze liegenden Messergebnissen*, 1996, 16. Arbeitstagung Mengen- und Spurenelemente, 1-17
- Hehrmann, R.,** Klein, D.: *Iodversorgung in den neuen und alten Bundesländern*, 1998, 12. Jahrestagung der Gesellschaft für Mineralstoffe und Spurenelemente, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 33-43
- Hemmer, M.C.:** *Statistica - Datenanalyse vom Feinsten*, 1998, *Nachr. Chem. Techn. Lab.*, **46**, 749-751
- Henning, H.V.:** *Die Toxizität des Aluminiums*, 1989, *Klin. Wschr.*, **67**, 1221-28
- Hosowaka, S.,** Oyamaguchi, A., Yoshida, O.: *Serum vanadium levels in chronic haemodialysis patients*, 1990, *Nephron*, **55**, 375-379
- Hsiung, C.-S.,** Andrade, J.D., Costa, R., Ash, K.O.: *Minimizing interferences in the quantitative multielement analysis of trace elements in biological fluids by ICP-MS*, *Clin. Chem.*, 1997, **43**, 2303-2311
- Johnson, S.:** *Micronutrient accumulation and depletion in schizophrenia, epilepsy, autism and Parkinson`s disease?*, 2001, *Med. Hypotheses*, **56**, 641-645
- Kauf, E.,** Seidel, J., Dawczynski, H., Forberger, M., Schlenvoigt, D., Winnefeld, K.: *Selenium Deficiency in Phenylketonuria and Metabolic Reactions during Sodium Selenite Therapie*, 1994, International Symposium on the Occasion of the 60th Anniversary of Folling`s Discovery of Phenylketonuria (Danmark)
- Keller, T.,** Gehring, L., Löser, T.: *Spurenelementverschiebung bei Patienten mit chronischem Nierenversagen, Nieren- und Hochdruckkrankheiten*, 1998, **27**, 522-532
- Kirov, G.K.,** Tsachev, K.N.: *Magnesium, Schizophrenia and manic-depressive Disease*, 1990, *Neuropsychobiology*, **23**, 79-81

- Kisters, K.**, Spieker, C., Tepel, M., Zidek, W.: *Plasma magnesium and total intracellular magnesium ion content of lymphocytes in untreated normotensive and hypertensive patients*, 1996, Trace Elem. Electroly., **13**, 163-166
- Kletzmayer, J.**, Hörl, W.H.: *Iron overload and cardiovascular complications in dialysis patients*, 2002, Nephrol. Dial. Transpl., **17**, 25-29
- Köhler, H.**, Peters, H.-J., Duck, H.-J., Voigt, H., Pankau, H.: *Arteriosklerose-Myokardinfarkt*, 1985, 5. Arbeitstagung Mengen- und Spurenelemente, 327-330
- Krachler, M.**, Habersack-Wallner, S., Lindschinger, M., Irgolic, K.J.: *Trace Element Status of Patients with Coronary Heart Disease after Percutane Transluminal Coronary Angioplasty (PTCA)*, 1995, 15. Arbeitstagung Mengen- und Spurenelemente, 109-115
- Krachler, M.**, Lindschinger, M., Eber, B., Watzinger, N., Wallner, S.: *Trace Elements in Coronary Heart Disease*, 1998, Biol. Trace Elem. Res., **60**, 175-85
- Krachler, M.**, Scharfetter, H., Wirnsberger, G.H.: *Evaluation of concentrations of cesium and rubidium in whole blood, plasma and serum in different disease*, 1998, Trace Elem. Electroly., **15**, 22-27
- Krachler, M.**, Scharfetter, H., Wirnsberger, G.H.: *Exchange of Alkali Trace Elements in Hemodialysis Patients: A Comparison with Na⁺ and K⁺*, 1999, Nephron, **83**, 226-236
- Krachler, M.**, Wirnsberger, G.H., Irgolic, K.J.: *Trace Element Status of Hemodialyzed Patients*, 1997, Biol. Trace. Elem. Res., **58**, 209-21
- Krachler, M.**, Wirnsberger, G.H.: *Long-Term Changes of Plasma Trace Element Concentrations in Chronic Hemodialysis Patients*, 2000, Blood Purificat., **18**, 138-143
- Lombeck, I.**, Menzel, H.: *Selenium in Neonates and Children*, 1988, Selenium in Medicine and Biology, Walter de Gruyter & Co. Berlin, New York
- Lote, C.J.**, Saunders, H.: *Aluminium - gastrointestinale absorption and renal excretion*, 1991, Clin. Sci., **81**, 289-97
- Luck, J.**: *ICP-MS, Möglichkeiten und Grenzen in der Spurenelementanalytik*, 1987, CAS, 4. Colloquium Atomspektrometrische Spurenanalytik
- Luoma, P.V.**, Sotanemi, E.A., Korpela, H., Kampulainen, J.: *Serum Selenium, Glutathione Peroxidase Activity and High Density Lipoprotein Cholesterol: Effect of Selenium Supplementation*, 1984, Res. Commun. Chem. Path. Pharm. **46**, 469 – 472
- Mahalingam, T.R.**, Vijaylakshmi, S., Prabhu, R.K., Thiruvengadami, A., Mathews, C.K., Shanmugasundram, K.R.: *Studies on Some Trace and Minor Elements in Blood Part I*, 1997, Biol. Trace Elem. Res., **57**, 191-206
- Mahalingam, T.R.**, Vijaylakshmi, S., Prabhu, R.K., Thiruvengadami, A., Mathews, C.K., Shanmugasundram, K.R.: *Studies on Some Trace and Minor Elements in Blood Part II*,

1997, *Biol. Trace Elem. Res.*, **57**, 207-221

Manz, F.: *Iodbedarf und Iodzufuhr in Deutschland*, 1997, 1. Jahrestagung der Gesellschaft für Mineralstoffe und Spurenelemente, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 78-82

Meißner, D.: *Genetische Defekte und Spurenelemente*, 1993, Mineralstoffe und Spurenelemente in der Ernährung, Verlag Media Touristik, Gersdorf

Mestek, O., Suchanek, M., Vodickova, Z., Zemanova, B., Zima, T.: *Comparison of the Suitability of Various Atomic Spectroscopic Techniques for the determination of Selenium in Human Whole Blood*, 1997, *J. Anal. Atom. Spectrom.*, **12**, 85-89

Michalke, P., Schramel, P., Witte, H.: *Iodine speciation in human serum*, 2000, 20. Arbeitstagung Mengen- und Spurenelemente, 130-136

Miura, Y., Nakai, K., Sera, K., Sato, M.: *Trace elements in sera from patients with renal disease*, 1999, *Nucl. Instrum. Meth. B*, **150**, 218-221

Moeschlin, S., *Klinik und Therapie der Vergiftungen*, 1980, Georg Thieme Verlag Stuttgart-New York

Montaser, A.: *Inductively coupled plasma mass spectrometry*, 1993, Wiley-VCH

Müller, H., Zwanziger, H.W., Flachowski, J.: *Trace Analysis*, 1994, Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry, **5**, 95-110

Muniz, C.S., Fernandez-Martin, J.L., Marchante-Gayon, J.M., Alonso, J.I.G., Cannata-Andia, J.B., Sanz-Medel, A.: *Referenz Values for Trace Elements in Human Serum Determined by Double-Focusing ICP-MS, 2001*, *Biol. Trace Elem. Res.*, **82**, 259-272

Najda, J., Gminsky, J., Drozd, M., Danch, A.: *Silicon metabolism – the interactions of inorganic silicon (Si) with synthetic iron (Fe), zinc (Zn) and copper (Cu) pools in the rat*, 1992, *Biol. Trace Elem. Res.*, **34**, 185-95

Nuttall, M.D., Gordon, W.H., Ash, K.O.: *ICP-MS for Trace Element Analysis in the Clinical Laboratory*, 1995, *Ann. Clin. Lab. Sci.*, **25**, 264-271

Nordio, M., Andriani, M., Gerotto, M., Marchini, P., Zambenedetti, P., Zatta, P.: *Serum concentration of trace elements during different stages of chronic renal failure*, 1998, *Ital. J. Miner. Elect. M.*, **12**, 81-86

Nyström-Rosander, C., Lingh, U., Thelin, S., Lindquist, O., Friman, G., Ilbäck, N.: *Trace Element Changes in Sclerotic Heart Valves from Patients Undergoing Aortic Valve Surgery*, 2002, *Biol. Trace Elem. Res.*, **88**, 9-24

Oster, O.: *Zum Selenstatus in der Bundesrepublik Deutschland*, 1992, Universitätsverlag Jena GmbH

Otto, M.: *Chemometrie. Statistik und Computereinsatz in der Analytik*, 1997, Weinheim: VCH

Paul, M.: *Spurenelemente in biologischen Proben*, 2003, Nachrichten aus der Chemie, **51**, 93-95

PerkinElmer Instruments Ferdinand Porsche Ring 17, 63110 Rodgau-Jügesheim

Roveli, E., Luciani, L., Pagani, C., Albonica, C., Conelli, N., Amico, G.D.: *Correlation between serum aluminium and signs of encephalopathie in a large population of patients dialysed with aluminium free fluids*, 1988, Clin. Nephrol., **29**, 294-98

Saito, K., Watanabe, S., Itoh, T., Saito, T.: *Changes in Brain trace element concentration by aging*, 1993, **TEMA 8**, 967-970

Sandström, B., Davidsson, J., Cederblad, A., Eriksson, R., Lönnerdal, B.: *Manganese absorption and metabolism in man*, 1986, Acta Pharmacol. Tox., **59**, 60-62

Sansoni, B.: *Instrumentelle Multielementanalyse*, 1985, VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim

Schmitt, Y.: *Die Bestimmung von Kupfer und Zink im Plasma und in den korpuskulären Bestandteilen des Blutes bei Patienten mit präterminaler und terminaler Niereninsuffizienz*, Sonderdruck, M & K Sonderteil LaborMedizin

Schramel, P.: *Anwendung der ICP-MS für die Spurenelementbestimmung in biologischen Materialien*, 1997, Analytikertaschenbuch **Bd.15**, Akademie Verlag Berlin

Schwarz, K., Foltz, C.M.: *Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration*, 1957, J. Am. Chem. Soc., **79**, 3293

Schwedt, G.: *Taschenatlas der Analytik*, 1992, Georg Thieme Verlag Stuttgart

Statistika, Benutzerhandbuch, Copyright 1997, by StatSoft, Inc.

Stein, G., Sperschneider, H., Winnefeld, K., Günther, K.: *Desferrioxamin (DFO) zur Erkennung und Behandlung einer Aluminiumintoxikation bei Dialysepatienten*, 1991, Z. Klin. Med., **46**, 1071-76

Stroh, A., *Neue Möglichkeiten zur Minimierung von Matrixeffekten in der ICP-MS*, 1995, CANAS, 193-198

Szpunar, J., Bettmer, J., Robert, M., Chassaigne, H., Cammann, K., Lobinski, R., Donard, O.F.X.: *Validation of the determination of copper and zinc in blood plasma and urine by ICP-MS with cross-flow and direct injection nebulization*, 1997, Talanta, **44**, 1389 – 1396

Townsend, A.T.: *The determination of arsenic and selenium in standard reference materials using sector field ICP-MS in high resolution mode*, 1999, Fresen. J. Anal. Chem., **364**, 521-526

Vandecasteele, C.: *Modern Methods for Trace Element Determination*, 1993, John Willey & Sons

Vanhoe, H., Vandecasteele, Versieck, J., Dams, R.: *Determination of Iron, Copper, Zinc, Rubidium, Molybdenum and Cesium in Human Serum by ICP-MS*, 1989, *Anal. Chem.*, **61**, 1851-1857

Wallaey, B., Cornelis, R., Kodama, Y.: *Toxicology of metals - clinical and experimental research*, 1987, John Wiley & Sons, New York, 367-368

Welz, B., Sperling, M.: *Atomabsorptionsspektrometrie*, 1997, Wiley-VCH, Verlag GmbH, Weinheim

Winnefeld, K., Schröter, H., Tennigkeit, E., Kulick, I.: *Die quantitative Bestimmung des Aluminiums im Serum von Dialysepatienten mit dem Gerätesystem AAS3/EA3*, 1984, *Jenaer Rundschau*, **30**, 189-90

Winnefeld, K., Sperschneider, H., Jähmig, K.: *Der Antioxidantienstatus von Dialysepatienten und die Auswirkungen einer Natriumselenittherapie auf eine Linksherzhypertrophie*, 1994, *Akt. Ernährungsmedizin*, **19**, 77-78

Woittiez, J.R.W., Iyengar, G.V.: *Trace Elements in Human Clinical Specimens; Evaluation of Literature Data to identify Reference Values*, 1988, *Trace Elem. Anal. Chem. Med. Biol.*, Walter de Gruyter&Co, 229-235

Zima, T., Mestek, O., Nemecek, K., Bartova, V., Fialova, J., Tesar, V., Suchenek, M.: *Trace Elements in Hemodialysis and Continuous Ambulatory Peritoneal Dialysis Patients*, 1998, *Blood Purificat.*, **16**, 253-260

Zima, T., Tesar, V., Mestek, O., Nemecek, K.: *Trace Elements in End-Stage Renal Disease*, 1999, *Blood Purificat.*, **17**, 187-198

Zumkley, H., Kisters, K.: *Spurenelemente - Geschichte, Grundlagen, Physiologie, Klinik*, 1990, Wissenschaftliche Buchgesellschaft Darmstadt

Zumkley, H.: *Clinical Aspects of Selenium Metabolism*, 1988, *Biol. Trace Elem. Res.*, **15**, 139 – 146

Danksagung

An erster Stelle möchte ich Herrn Prof. Klaus Winnefeld danken, der mich zu dieser Arbeit inspirierte, ihr Werden kritisch verfolgte und mich mit Anregungen und Aufmunterungen stets unterstützte.

Ein besonderer Dank gilt Herrn Prof. K. Danzer und den Mitarbeitern der Chemisch-Geowissenschaftlichen Fakultät für die Bereitstellung des Elan 6000 für diese Untersuchungen sowie für seine Unterstützung auf dem für mich neuen Gebiet der Chemometrie. Frau Dressler und Frau Thielen danke ich für die Hilfe bei der Einarbeitung in die Technik des Elan 6000 sowie für die wertvollen Hinweise bei dessen Bedienung.

Meinen Kolleginnen und Kollegen aus dem Bereich Medizinische Analytik Frau Antrack, Frau Hein, Frau Kroll, Frau Riehemann, Frau Weiland sowie Dr. Roskos danke ich für die Unterstützung bei der Abarbeitung der aufwendigen Messreihen, sowie für ihre aufmunternden Worte.

Da ohne die vielen Blutproben eine statistische Auswertung nicht möglich gewesen wäre, danke ich an dieser Stelle Frau Prof. Sperschneider, Frau Prof. Thiele und Frau OÄ Maurer, ihren Patienten und Schwestern sowie den Blutspendern von der Firma Analytik Jena AG für die Bereitstellung des Probenmaterials.

Herrn Dr. Ch. Fischbacher danke ich für seine Unterstützung bei der Auswertung der Datenreihen mit dem Programm Statistika.

Ein ganz besonders lieber Dank gilt meinen beiden Kindern Stefanie und Jacqueline Streck, die mir ganz geduldig Raum und Zeit für meine Arbeit gegeben haben.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Sibylle Streck

Vorm Waltersberg 7, 07751 Großlöbichau

geboren am 21.11.1962 in Aschersleben

geschieden, 2 Kinder

Ausbildung

1969 – 1977	allgemeinbildende polytechnische Oberschule in Rostock
1977 – 1981	erweiterte Oberschule in Rostock
30.06.1981	Abitur
01.09.1981	Immatrikulation an der Sektion Chemie der Technischen Hochschule Leuna-Merseburg
22.12.86	Hochschulabschluss in der Fachrichtung „Verfahrenscheme“, Verteidigung der Diplomarbeit im Fachbereich „Reinhaltung der Biosphäre“

Berufliche Tätigkeit

1987 – 1990	wissenschaftlich-technischer Mitarbeiter in einer Forschungsabteilung für Werkstoff- und Umwelttechnik der Firma Carl Zeiss Jena GmbH
1990 – 1995	Wechsel in das Applikationslabor des Geschäftsbereiches Analysetechnik der Firma Carl Zeiss Jena GmbH
ab 1995	technischer Mitarbeiter im Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsdiagnostik am Universitätsklinikum Jena

Selbstständigkeitserklärung

Ich erkläre, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und unter Verwendung der angegebenen Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen angefertigt haben.

Großlöbichau, d. 28.02.2004

Sibylle Streck