

Labor-Medizin

© GIT VERLAG GMBH
RÖSSLERSTRASSE 90
64293 DARMSTADT
Labor-Medizin
17 (1994) 155-161

S O N D E R D R U C K

A. GEBHARDT, E. MAUCH,
H. KORNUBER

Bestimmung von Cu, Zn,
Se und Hg im Vollblut
von Patienten mit MS

Zusammenfassung

Die Bestimmung von Kupfer (Cu), Zink (Zn), Selen (Se) und Quecksilber (Hg) im Vollblut von 15 Patienten mit Multipler Sklerose (MS) wurde durchgeführt. Die Konzentrationen dieser Elemente wurden mit denen von 15 gesunden Kontrollpersonen verglichen. Die Ergebnisse zeigen, dass die Konzentrationen von Cu, Zn und Se bei den MS-Patienten signifikant niedriger sind als bei den Kontrollpersonen. Die Konzentration von Hg war bei den MS-Patienten signifikant höher als bei den Kontrollpersonen.

Die Bestimmung von Kupfer (Cu), Zink (Zn), Selen (Se) und Quecksilber (Hg) im Vollblut von 15 Patienten mit Multipler Sklerose (MS) wurde durchgeführt. Die Konzentrationen dieser Elemente wurden mit denen von 15 gesunden Kontrollpersonen verglichen. Die Ergebnisse zeigen, dass die Konzentrationen von Cu, Zn und Se bei den MS-Patienten signifikant niedriger sind als bei den Kontrollpersonen. Die Konzentration von Hg war bei den MS-Patienten signifikant höher als bei den Kontrollpersonen.

Die Bestimmung von Kupfer (Cu), Zink (Zn), Selen (Se) und Quecksilber (Hg) im Vollblut von 15 Patienten mit Multipler Sklerose (MS) wurde durchgeführt. Die Konzentrationen dieser Elemente wurden mit denen von 15 gesunden Kontrollpersonen verglichen. Die Ergebnisse zeigen, dass die Konzentrationen von Cu, Zn und Se bei den MS-Patienten signifikant niedriger sind als bei den Kontrollpersonen. Die Konzentration von Hg war bei den MS-Patienten signifikant höher als bei den Kontrollpersonen.

Die Bestimmung von Kupfer (Cu), Zink (Zn), Selen (Se) und Quecksilber (Hg) im Vollblut von 15 Patienten mit Multipler Sklerose (MS) wurde durchgeführt. Die Konzentrationen dieser Elemente wurden mit denen von 15 gesunden Kontrollpersonen verglichen. Die Ergebnisse zeigen, dass die Konzentrationen von Cu, Zn und Se bei den MS-Patienten signifikant niedriger sind als bei den Kontrollpersonen. Die Konzentration von Hg war bei den MS-Patienten signifikant höher als bei den Kontrollpersonen.

Die Bestimmung von Kupfer (Cu), Zink (Zn), Selen (Se) und Quecksilber (Hg) im Vollblut von 15 Patienten mit Multipler Sklerose (MS) wurde durchgeführt. Die Konzentrationen dieser Elemente wurden mit denen von 15 gesunden Kontrollpersonen verglichen. Die Ergebnisse zeigen, dass die Konzentrationen von Cu, Zn und Se bei den MS-Patienten signifikant niedriger sind als bei den Kontrollpersonen. Die Konzentration von Hg war bei den MS-Patienten signifikant höher als bei den Kontrollpersonen.

Die Bestimmung von Kupfer (Cu), Zink (Zn), Selen (Se) und Quecksilber (Hg) im Vollblut von 15 Patienten mit Multipler Sklerose (MS) wurde durchgeführt. Die Konzentrationen dieser Elemente wurden mit denen von 15 gesunden Kontrollpersonen verglichen. Die Ergebnisse zeigen, dass die Konzentrationen von Cu, Zn und Se bei den MS-Patienten signifikant niedriger sind als bei den Kontrollpersonen. Die Konzentration von Hg war bei den MS-Patienten signifikant höher als bei den Kontrollpersonen.

Bestimmung von Cu, Zn, Se und Hg im Vollblut von Patienten mit MS

A. GEBHARDT, Fellbach*, E. MAUCH, H. KORNHUBER, Schwendi**

Key words: Multiple Sklerose, Vollblutspiegel, Quecksilber, Selen, antioxidatives Potential

multiple sclerosis, whole blood level, mercury, selenium, antioxidative potential

Zusammenfassung

Neben autoimmunologischen Prozessen werden in der Ätiopathogenese der Multiplen Sklerose (MS) Umweltfaktoren wie z.B. Quecksilber aus Zahnamalgam als zusätzliche Faktoren für die Entstehung der Erkrankung diskutiert. In der vorliegenden Arbeit wurde daher neben den Spurenelementen Selen, Zink und Kupfer insbesondere die Quecksilberkonzentration im Vollblut eines größeren Kollektivs von MS-Patienten bestimmt und mit den Daten einer entsprechenden Kontrollgruppe verglichen.

Als Probenmaterial zur Analyse der Spurenelemente diente EDTA-Vollblut. Nach vorhergehender Mineralisierung durch H_2O_2/HNO_3 unter Druck in einem Mikrowellengerät erfolgte die Messung von Kupfer mittels der Flammen-Atomabsorptionsspektrophotometrie, von Selen und Zink mittels elektrothermaler Atomisierung im Graphitrohrfurnas sowie des Quecksilbers mittels der Kaltdampftechnik nach Anreicherung auf Goldwolle.

Die durchschnittliche Quecksilberkonzentration im Vollblut war bei den MS-Patienten mit $4,8 \pm 4,1 \mu g/l$ gegenüber $2,1 \pm 1,4 \mu g/l$ in der Kontrollgruppe hochsignifikant erhöht. Der Selenstatus lag bei beiden Kollektiven mit $70,6 \pm 15,5 \mu g/l$ (MS-Patienten) bzw. $73,4 \pm 13,8 \mu g/l$

(Kontrollgruppe) signifikant unterhalb des Referenzbereiches von $90-130 \mu g/l$ Vollblut. Darüber hinaus wies die Untergruppe der MS-Patienten mit sekundär progredientem Verlauf mit im Mittel $67,7 \mu g/l$ gegenüber der Kontrollgruppe signifikant erniedrigte Selenpiegel auf ($p < 0,05$). Für die Kupfer- und Zinkspiegel konnten weder signifikante Unterschiede noch Abweichungen von den Normwerten festgestellt werden.

Diese Befunde untermauern frühere Arbeiten, wonach eine erhöhte Quecksilberkonzentration die Bildung freier Radikale fördert und zur Bindung von Selen führt, welches dann nicht mehr für die Synthese von Glutathionperoxidase zur Verfügung steht. Dies wäre eine Erklärungsmöglichkeit für die erhöhte Lipidperoxidation bei MS-Patienten.

Summary

Apart from autoimmune processes, environmental influences like mercury from dental amalgam are discussed as additional factors in the aetiopathogenesis of multiple sclerosis (MS). Therefore, the whole blood levels of the trace elements selenium, zinc, copper, and especially of mercury in a considerably large collective of patients suffering from MS were determined and compared with the same data of a control group.

EDTA whole blood was used to determine the trace elements. After a preliminary mineralization by means of H_2O_2/HNO_3 under pressure in a microwave device, the zinc levels were determined by means of flame atomic absorption spectrophotometry; the copper and selenium levels were determined by electrothermal atomization in the graphite furnace, and the mercury levels were determined using cold vapour technique after enrichment on gold wool.

The average whole blood mercury level was significantly increased in the MS patients ($4.8 \pm 4.1 \mu g/l$) as compared to the control group ($2.1 \pm 1.4 \mu g/l$). The selenium levels were significantly below

the reference range of $90-130 \mu g/l$ of whole blood both in the MS group ($70.6 \pm 15.5 \mu g/l$) and in the control group ($73.4 \pm 13.8 \mu g/l$). Furthermore, the subgroup of patients with secondarily progressive MS had significantly ($p < 0.05$) lower selenium levels (mean value: $67.7 \mu g/l$) than the control group. The copper and zinc levels did not reveal any significant differences between the groups or any deviation from the normal values.

These results confirm earlier studies which have shown that an increased mercury level stimulates the production of free radicals and causes the binding of selenium, which is then no longer available for the synthesis of glutathione peroxidase. This could be an explanation for the increase of lipid peroxidation in MS patients.

Einleitung

In der Ätiopathogenese der Multiplen Sklerose (MS) wird derzeit international übereinstimmend ein autoimmunologischer Prozeß gesehen. Bei der Autoaggression gegen Myelinscheiden wirken wahrscheinlich eine genetische Prädisposition und ein infektiöses Agens zusammen. Daneben werden Umweltfaktoren diskutiert, die am Ausbruch der Erkrankung bzw. am Schweregrad des Krankheitsverlaufes beteiligt sind. Insbesondere die Frage, ob amalgambedingte Quecksilberbelastungen neuroallergische Reaktionen bei der MS fördern, führte bereits in mehreren früheren Arbeiten zu konträren Ergebnissen [1, 2, 3, 4]. In keiner dieser Arbeiten wurde jedoch die tatsächliche Quecksilberbelastung der MS-Patienten bestimmt, sondern lediglich der Zahnstatus anhand der Anzahl und Größe der Amalgamfüllungen für die Betrachtung herangezogen. Es ist aber heutzutage unbestritten, daß Amalgamfüllungen in Abhängigkeit von ihrem Zustand völlig unterschiedliche Quecksilbermengen freisetzen können. Dies kann beispielsweise durch einen sogenannten „Kaugummitest“ zur Provokation des Quecksilberabriebes eindeutig belegt werden [5, 6].

* Albrecht Gebhardt, Dipl. Ernähr. Wiss.
Forschungslabor der G.N. PHARM
Arzneimittel GmbH,
Schorndorfer Straße 32, 70734 Fellbach

** Dr. E. Mauch, Dr. H. Kornhuber,
Fachklinik für Neurologie Dietenbrunn,
88477 Schwendi

In der vorliegenden Studie wurde daher an einem größeren Patientenkollektiv mit Multipler Sklerose die Vollblutkonzentration des toxischen Schwermetalls Quecksilber analysiert. Um die ebenfalls bekannten Wechselwirkungen zwischen den essentiellen Spurenelementen und Quecksilber [7, 8] in die Betrachtung mit einbeziehen zu können, wurden zusätzlich die Selen-, Kupfer- und Zinkspiegel bestimmt.

Patienten und Methodik

Die Studie wurde mit 64 MS-Patienten der Klinik für Neurologie, Dietenbrunn (34 Frauen und 30 Männer mit einem Durchschnittsalter von 40 Jahren) und 62 gesunden Kontrollpersonen (33 Frauen und 29 Männer mit einem Durchschnittsalter von 37 Jahren) vergleichbarer Alters- und Geschlechtsverteilung durchgeführt. Bei allen MS-Patienten war die Diagnose klinisch und laborchemisch gesichert nach den Kriterien von C.M. Poser [9]. 28 Patienten wiesen einen schubförmigen, 29 einen sekundär progredienten und 7 einen primär chronisch progredienten Krankheitsverlauf auf. Die Kontrollgruppe setzte sich aus Angestellten der Klinik (n = 52) und Patienten mit Wirbelsäulenschmerzsyndromen (n = 10) zusammen.

Die Metallbestimmungen erfolgten aus 2–3 ml EDTA-Vollblut, das zu Beginn des stationären Aufenthaltes abgenommen und bis zur analytischen Aufarbeitung bei –18°C tiefgefroren wurde. Zur Probenvorbereitung wurde ein H₂O₂/HNO₃-Säuredruckaufschluß in einem Mikrowellengerät MLS 1200 mit Hochdruckrotor HPV 100 der Firma MLS GmbH, Leutkirch, durchgeführt. In die Aufschlußgefäße werden 1 ml H₂O₂ vorgelegt und dann 1 ml Probe zugegeben. Nach kurzer Reaktionszeit werden 2,5 ml 65%ige HNO₃ suprapur zugesetzt. Das verwendete Mikrowellenprogramm ist in Tabelle 1 aufgelistet. Nach dem Abkühlen der Aufschlußlösung wird diese mit aqua bidest. auf 10 ml überspült.

Die Messung des Zinks erfolgt nach entsprechender Verdünnung der Aufschlußlösung mit Hilfe der Flammen-AAS (Z 8100, Firma Hitachi) bei aktiver Zeeman-Untergrundkompensation. Die eingestellten Geräteparameter sind Tabelle 2 zu entnehmen. Kupfer und Selen werden mit der elektrothermalen Graphitrohr-AAS bestimmt. Geräteparameter und Temperatur-/Zeitprogramm des Graphitrohrofens sind in Tabelle 3 aufgelistet. Dabei kann Kupfer ohne Matrixmodifier nach entsprechender Verdünnung der Aufschlußlösung bestimmt werden, während sich für Selen eine Mischung aus Rhodiumnitratlösung (Fa. Aldrich), Palladiumnitratlösung (Fa.

Tab. 1: Mikrowellenzeit- und Leistungsprogramm zum Aufschluß von Vollblut- und Serumproben in einer H₂O₂/HNO₃-Mischung zur anschließenden Bestimmung von Spurenmitteln (MLS 1200 mit HPV 100 Hochdruckrotor)

Stufe	Zeit [min]	Mikrowellenleistung [Watt]
1	3	250
2	1	0
3	2	400
4	1	0
5	5	500
6	15	0, Ventilation

Tab. 2: Geräteparameter und Meßbedingungen für die Zinkbestimmung in Vollblutproben mit der Flammen-AAS

Lampenstrom	3 mA
Wellenlänge	213,9 nm
Spaltbreite	1,3 nm
Brennerhöhe	6 mm
Acetylenfluß	1,5 l/min
Luft	15 l/min
Meßwertbildung	Integration
Integrationszeit	5 sec
Untergrundkompensation	aktiv
Kalibrierfunktion	linear

Tab. 3a: Geräteparameter und Meßbedingungen für die Kupfer- und Selenbestimmung in Vollblutproben mit der Graphitrohr-AAS

	Kupfer	Selen
Lampenstrom	4 mA	13 mA
Wellenlänge	324,8 nm	196,0 nm
Spaltbreite	1,3 nm	1,3 nm
Meßwertbildung	Peakhöhe	Peakhöhe
Küvette	Pyro-tube	tube
Pipettiervolumen	20 µl	20 µl Probe 10 µl Modifier
Untergrundkompensation	aktiv	aktiv
Kalibrierfunktion	linear	einfache extreme Standardaddition

Tab. 3b: Temperatur- und Zeitprogramm des Graphitrohrofens für die Kupfer- und Selenbestimmung in Vollblutproben

Phase	Temperatur [°C]	Kupfer		Selen		Inertgasfluß Argon [ml/min]
		Anstieg [sec]	Halten [sec]	Anstieg [sec]	Halten [sec]	
dry	80	20	20	30	20	100
	120	30	20	50	20	200
ash	250	5	20			200
	400			10	20	200
	700	10	30			200
	1100			5	30	200
read	2500	0	4			0
	2800			0	4	0
clean	2900	0	4	0	4	200

Merck) und aqua bidest. im Verhältnis 1:7:63 als sehr effektive Modifizermischung für die Routinebestimmung in biologischen Proben erwiesen hat [10].

Die Bestimmung des Quecksilbers erfolgt grundsätzlich mit der Kaltdampftechnik [11]. Dabei wird das Quecksilber mit 4%iger Natriumborhydridlösung zu elementarem Quecksilber umgesetzt und in einem Argonstrom zur Meßküvette des Atomabsorptionsspektrometers getrieben. Zur Verbesserung der Nachweisgrenze dient eine Anreicherung auf einer beheizbaren Goldwolle, die zwischen Hydridsy-

stem (BSH 960, Fa. Berghof) und Meßküvette eingebaut ist. 2–5 ml Aufschlußlösung werden mit ca. 12 ml aqua bidest. und 100 µl 5%iger Kaliumpermanganatlösung zur Stabilisierung des Quecksilbers verdünnt. Um ein übermäßiges Schäumen im Reaktionsgefäß zu unterdrücken, werden der Lösung noch 250 µl Octanol zugegeben. Die weiteren Meß- und Geräteparameter können Tabelle 4 entnommen werden.

Die Zink-, Kupfer- und Quecksilbermessungen erfolgen nach linearer Kalibrierung mit säureadaptierten wäßrigen Standard-

Tab. 4: Geräteparameter und Meßbedingungen für die Quecksilberbestimmung in Vollblutproben mit der Hydrid-/Kaldampftechnik

Hydridsystem BSH 960	
Vorlaufzeit	5 sec
Pumpe an	20 sec
Umdrehungen	30/min
Reaktionszeit	20 sec
Austreibphase	70 sec
AAS-Z 8100	
Lampenstrom	2 mA
Wellenlänge	253,9 nm
Spaltbreite	1,3 nm
Meßwertbildung	Peakfläche
Integrationszeit	12 sec
Untergrundkompensation	aktiv
Kalibrierfunktion	linear

lösungen (Merck). Für die Selenbestimmung muß als Kalibrierverfahren die Methode der einfachen externen Standardaddition gewählt werden. Dazu werden aufgestockte Lösungen des Seronorm Referenzvollblutes verwendet. Diese Maßnahme ist notwendig, um die Kalibrierfunktion den matrixbedingten Signaldämpfungen in biologischen Proben gegenüber wäßrigen Standardlösungen anzupassen. In Abbildung 1 ist die unterschiedliche Steilheit der beiden Kalibrierverfahren dargestellt; diese zeigt, daß bei Selenmessungen gegen wäßrige Standardlösungen in biologischen Proben fälschlicherweise viel zu niedrige Werte gemessen werden.

Die Richtigkeit und Reproduzierbarkeit der angewandten Meßmethoden wurden mit den zertifizierten Referenzmaterialien Trace Elements Whole Blood, Level I (Fa. Seronorm) und Lyphochek Urine Metals Control, Level I (Fa. Bio-Rad) validiert und regelmäßig überprüft. Tabelle 5 zeigt die wichtigsten Validierungsdaten für die einzelnen Meßmethoden. Die verhältnismäßig schlechte Reproduzierbarkeit der Selenmessung liegt in den physikalisch-chemischen Eigenarten dieses Elements begründet [12]. Im Vordergrund steht dabei neben einer niedrigen Empfindlichkeit durch eine zu geringe Strahlungsenergie der Hohlkathodenlampe ein hohes Grundrauschen von 0,008–0,009 absorbance bei der einzigen für die Selenmessung verwertbaren Resonanzlinie von 196,0 nm. Hinzu kommen noch zahlreiche matrixbedingte chemische Interferenzen und die Schwierigkeit, verschiedenwertige Selenatome gleichzeitig zu atomisieren. Unter diesen Umständen ist eine Reproduzierbarkeit in der Serie von 8,3% und von Tag zu Tag von 12,8% sowie

Tab. 5: Validierungsdaten zu den einzelnen Bestimmungsmethoden. Die Wiederfindungsraten wurden mit zertifizierten Referenzmaterialien ermittelt (siehe Text)

	Zink	Kupfer	Selen	Quecksilber
Reproduzierbarkeit in der Serie	2,8%	3,5%	8,3%	5,8%
Reproduzierbarkeit von Tag zu Tag	4,3%	5,2%	12,8%	9,4%
Wiederfindungsrate	103,5 ± 2,4%	98,7 ± 3,6%	94,7 ± 6,9%	95,3 ± 4,8%

eine Wiederfindungsrate von 94,6 ± 7,4% für den klinisch-chemischen Routinebetrieb als hervorragende Meßstabilität anzusehen.

Quecksilberbestimmungen sind aufgrund der enormen Flüchtigkeit dieses Elements besonderen Schwankungen unterworfen.

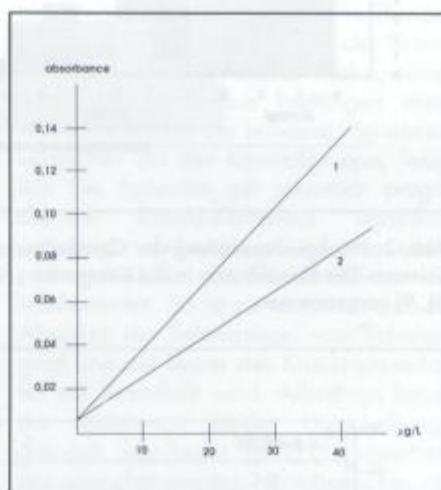


Abb. 1: Unterschiedliche Steilheit zweier typischer Kalibrierfunktionen für die Selenbestimmung mit der Graphitrohr-AAS

1. lineare Kalibrierung mit wäßrigen Standardlösungen
2. Kalibrierfunktion durch aufgestocktes zertifiziertes Referenzmaterial (Trace Elements Whole Blood, Level I, Seronorm)

Hier können die angegebenen Validierungsdaten nur bei äußerst präziser Arbeitsweise zur Vermeidung von Analytverlusten aufrechterhalten werden. Dies gilt insbesondere für die Durchführung des Probenaufschlusses und der manuellen Bedienung des Hydridsystems. Eine engmaschige Kontrolle mit den angegebenen Referenzmaterialien ist hier unerlässlich und sichert die erreichbare Meßgenauigkeit.

Zur Prüfung der Daten auf statistisch signifikante Unterschiede kam der Wilcoxon-Mann-Whitney-U-Test für unverbundene und nicht normalverteilte Stichproben zur Anwendung.

Ergebnisse

Der durchschnittliche Quecksilberspiegel im Vollblut aller MS-Patienten, aber auch der Untergruppen (schubförmiger, sekundär progredienter und primär chronisch progredienter Verlauf), war hochsignifikant ($p < 0,001$) um das 2,2–2,9fache gegenüber dem gesunden Vergleichskollektiv erhöht (Abb. 2). Der Quecksilbergehalt einer Patientin lag sogar im hochtoxischen Bereich bei 111,5 µg/l. Die Daten dieser Patientin wurden allerdings als Ausreißer ausgewiesen und für die spätere statistische Auswertung nicht mehr herangezogen.

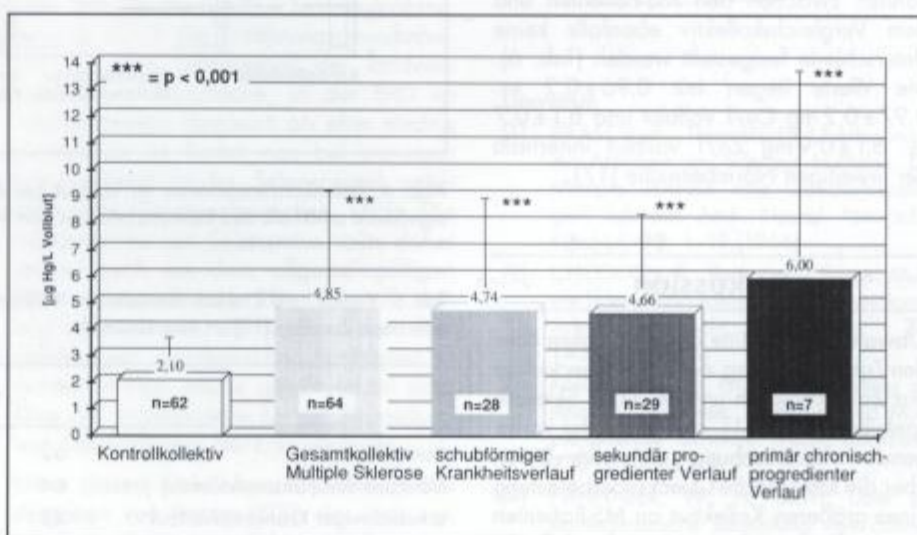


Abb. 2: Quecksilberkonzentrationen im Vollblut bei Patienten mit Multipler Sklerose. Das BGA [13] stuft < 3 µg Hg/l als „normal“ und > 10 µg Hg/l Vollblut als „gesundheitlich bedenklich“ ein.

In Abbildung 3 ist die Häufigkeitsverteilung der Vollblut-Quecksilberkonzentrationen beider Kollektive dargestellt. Es wurde dabei eine Klassifizierung unter Zuhilfenahme der Vorgaben von Krause et al. [13] sowie des Umwelt-Survey [14] in die Kategorien „normal“ (bis 3 µg/l), „erhöht“ (3–10 µg/l) und „deutlich erhöht“ (über 10 µg/l) vorgenommen. Im Kontrollkollektiv liegen bei einem Mittelwert von $2,1 \pm 1,4$ µg/l und einem range von 0,2–6,2 µg/l 84% aller Meßwerte im „Normalbereich“. Demgegenüber finden sich lediglich bei 32% der MS-Patienten, die im Mittel $4,8 \pm 4,1$ µg/l bei einem range von 0,5–22,4 µg/l aufweisen, sogenannte „Normalwerte“. Im Vergleich zu 57% der MS-Patienten mit erhöhten Quecksilberkonzentrationen liegen nur 16% der Kontrollgruppe in diesem Bereich, wohingegen sich bei 7 Patienten, entsprechend 11%, gar ein deutlich erhöhter Wert von über 10 µg/l findet.

Der Vollblut-Selengehalt unterscheidet sich nicht zwischen der Kontrollgruppe mit durchschnittlich $73,4 \pm 13,8$ µg/l und allen MS-Patienten, die im Mittel $70,6 \pm 15,5$ µg Se/l aufweisen (Abb. 4). Allerdings muß festgehalten werden, daß die Selenpiegel beider Kollektive signifikant erniedrigt sind ($p < 0,01$), verglichen mit dem Referenzbereich von 90–130 µg/l Vollblut [15, 16]. Betrachtet man die Selenpiegel der MS-Patienten, eingeteilt nach ihrem Krankheitsverlauf, so zeigt sich jedoch, daß Patienten mit sekundär progredientem Verlauf mit $67,7 \pm 13,7$ µg/l signifikant niedrigere Spiegel als das Kontrollkollektiv haben ($p < 0,05$). Bei nur 7 Patienten mit primär chronisch progredientem Verlauf, für die zwar der gleich niedrige Wert bestimmt wurde, läßt sich dieser statistisch noch nicht sichern.

Für die Zink- und Kupferkonzentrationen können zwischen den MS-Patienten und dem Vergleichskollektiv ebenfalls keine Unterschiede festgestellt werden (Tab. 6). Die Werte liegen mit $0,96 \pm 0,2$ vs. $0,97 \pm 0,2$ mg Cu/l Vollblut und $6,1 \pm 0,7$ vs. $6,1 \pm 0,9$ mg Zn/l Vollblut innerhalb der jeweiligen Normbereiche [17].

Diskussion

Obwohl bereits Mitte der 60er Jahre über den Zusammenhang zwischen Quecksilber aus Zahnamalgam und Multipler Sklerose spekuliert wurde [1], stehen mit der vorliegenden Untersuchung erstmalig Daten über die tatsächliche Quecksilberbelastung eines größeren Kollektivs an MS-Patienten zur Verfügung. Es zeigt sich, daß die Quecksilberbelastung, quantifiziert durch den Vollblutgehalt, bei Multipler Sklerose

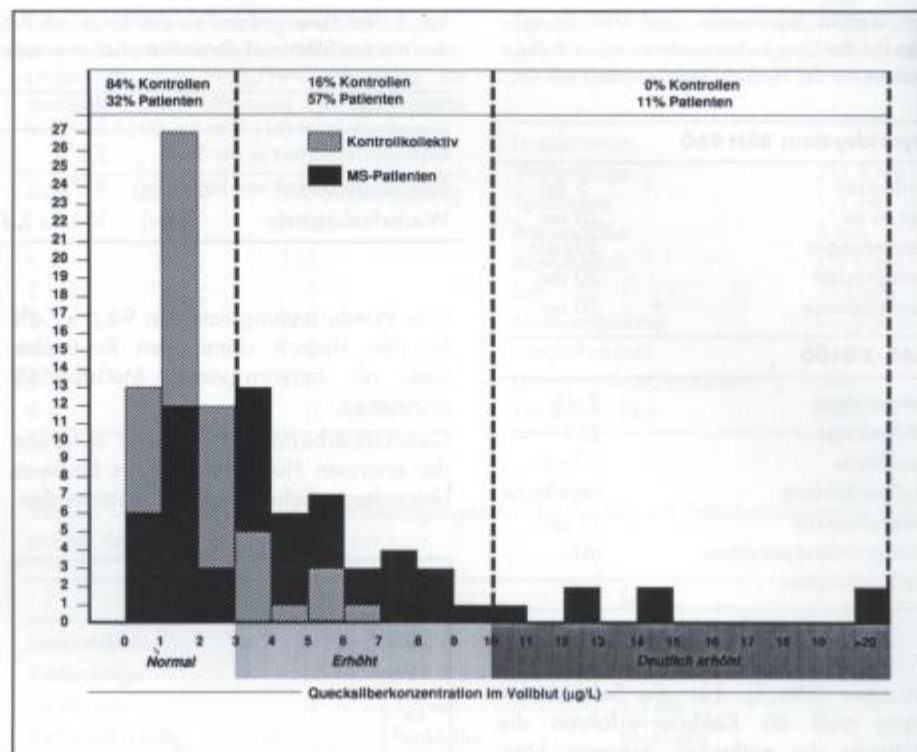


Abb. 3: Häufigkeitsverteilung der Quecksilberkonzentration im Vollblut bei Patienten mit Multipler Sklerose. Die Klassifikation in die Kategorien „Normal“, „Erhöht“ und „Deutlich erhöht“ wurde nach [8, 9] vorgenommen.

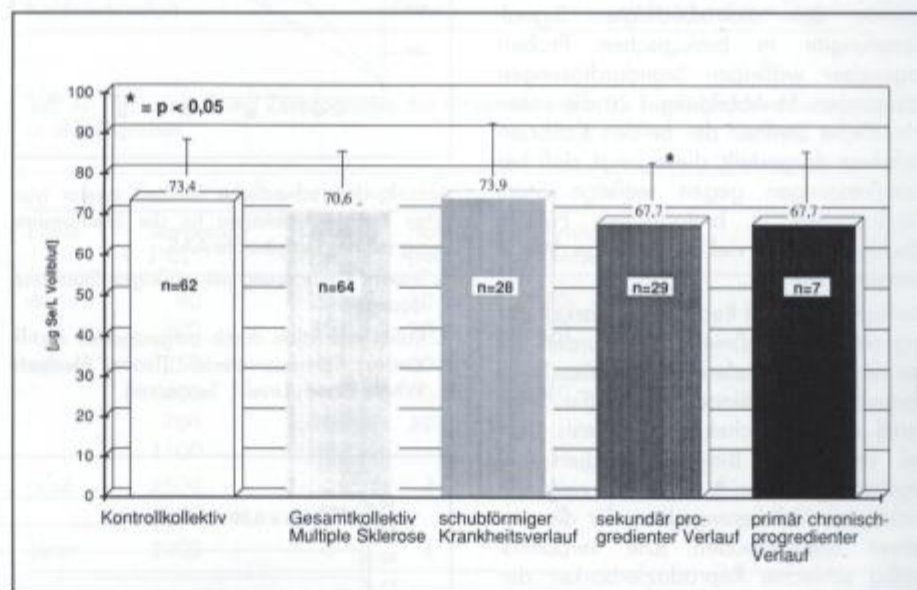


Abb. 4: Selenkonzentrationen im Vollblut bei Patienten mit Multipler Sklerose. Die Werte liegen signifikant unterhalb des Referenzbereichs von 90–130 µg Se/l Vollblut [15, 16].

Tab. 6: Kupfer- und Zinkkonzentration im Vollblut bei Patienten mit Multipler Sklerose. Die Werte liegen nach Zumkley [17] im Normbereich

	n	Kupfer [mg/l]	SD	Zink [mg/l]	SD
Kontrollkollektiv	62	0,97	0,2	6,1	0,9
MS-Patienten (Gesamtkollektiv)	64	0,96	0,2	6,1	0,7
schubförmiger Krankheitsverlauf	28	0,91	0,2	5,9	0,8
sekundär progredienter Verlauf	29	1,0	0,2	6,3	0,6
primär chronisch progredienter Verlauf	7	0,9	0,1	6,2	0,6

hochsignifikant erhöht ist. Zwar liegen alle Werte bis auf einen exorbitant erhöhten Wert (111,5 µg Hg/l) unterhalb des Biologischen-Arbeitsstoff-Toleranzwertes (BAT-Wertes) von 50 µg Hg/l Vollblut [18], jedoch muß kritisch angemerkt werden, daß dieser Höchstwert für Gesunde konzipiert wurde und nach heutigem wissenschaftlichen Kenntnisstand als viel zu hoch einzustufen ist. Zu diesem Urteil kommt auch das Institut für Wasser-, Boden- und Lufthygiene des Bundesgesundheitsamtes nach der Auswertung einer umfangreichen Feldstudie zur Schwermetallbelastung der deutschen Bevölkerung. Krause et al. [13] stellten daher schon 1987 Beurteilungskriterien auf, nach denen bereits Vollblutkonzentrationen von über 10 µg Hg/l als gesundheitlich bedenklich einzustufen sind. Anhand der in Abbildung 3 dargestellten Verteilungsfunktionen kann eindeutig abgelesen werden, daß die Quecksilberkonzentrationen der MS-Patienten zu diesem bedenklichen Bereich hin verschoben sind.

Sowohl nach langjähriger Erfahrung im G.N. PHARM-Forschungslabor als auch in zahlreichen Studien finden sich mittlere Quecksilberbelastungen der Normalbevölkerung von 1–2 µg/l Vollblut, bei deutlich rechtsschiefer Verteilung, d.h. der Median liegt nochmals 20–40% unterhalb des arithmetischen Mittelwertes [19]. Diese Angaben stimmen auch mit den ermittelten Werten des Kontrollkollektivs der vorliegenden Studie sehr gut überein (Mittelwert 2,1 µg Hg/l, Median 1,8 µg Hg/l). Andererseits zeigen aber die Ergebnisse umfangreicher Untersuchungen zum Quecksilbergehalt von Leber-, Nieren- und Gehirngewebe von Drasch et al. [20] sehr eindrucksvolle Korrelationen zur Anzahl der Amalgamfüllungen bei gleichzeitig unwesentlicher Erhöhung der Vollblutspiegel. Als bedeutendes Ergebnis ist hervorzuheben, daß die Gewebespiegel verschiedener Gehirnareale bis auf das 40fache der normalen Blutkonzentrationen ansteigen.

Schlußfolgernd können die Befunde derart interpretiert werden, daß bei den ungewöhnlich hohen Quecksilberspiegeln der MS-Patienten von toxikologisch äußerst relevanten Gewebekonzentrationen ausgegangen werden muß.

Nun gilt Selen durch Bildung sehr schwer löslicher Quecksilber-Selenide als wirksames Agens zur Quecksilberdetoxifikation [21]. Selen wird dadurch jedoch intermediär gebunden und steht so nicht mehr für seine metabolischen Funktionen, wie z. B. als integraler Bestandteil des antioxidativen Enzyms Glutathionperoxidase, zur Verfügung. Darüber hinaus hemmt Quecksilber die Glutathionperoxidase und för-

dert eigenständig die Lipidperoxidation [22]. Dies läßt auf einen Teufelskreis zwischen Radikalbildung und vermindertem antioxidativen Potential bei Quecksilberbelastung schließen. Mit diesen Befunden kann auch der Mechanismus interpretiert werden, über den Quecksilber zur Genese der MS beiträgt, da in anderen Untersuchungen zur Multiplen Sklerose eine Erhöhung der Lipidperoxidation nachgewiesen werden konnte [23, 24], die ursächlich mit der Demyelinisierung bei MS-Patienten in Verbindung gebracht wird.

Auf der Grundlage dieser Zusammenhänge wurde in der vorliegenden Untersuchung überprüft, wie in früheren Arbeiten dargestellt [23, 25], ob verminderte Vollblutspiegel der antioxidativ wirkenden Spurenelemente, insbesondere des Selen, bei diesem Krankheitsbild nachzuweisen sind. Die Ergebnisse bestätigen diese Annahme jedoch nur teilweise. So waren, verglichen mit der Kontrollgruppe, lediglich bei Patienten mit sekundär progredientem Krankheitsverlauf signifikant erniedrigte Selenpiegel nachzuweisen, nicht jedoch für das Gesamtkollektiv der MS-Patienten. So ist zu vermuten, daß ein Absinken der Selenpiegel vom Schweregrad und der Dauer des Krankheitsverlaufes mit beeinflußt wird. Allerdings liegen die Mittelwerte beider Untersuchungsgruppen signifikant ($p < 0,01$) unterhalb des wünschenswerten Normbereiches von 90–130 µg/l. In zahlreichen Substitutionsstudien konnte ein signifikanter Anstieg der Glutathionperoxidase-Aktivität bei diesen Vollblutkonzentrationen nachgewiesen werden [15, 16, 26, 27].

Vergleicht man in der Literatur die Angaben zu Normalwerten des Selenpiegels der verschiedenen Nationalitäten, so sind sehr große Schwankungen festzustellen [28, 29]. Da die nutritive Selenaufnahme, bedingt durch die Ernährungsgewohnheiten und den Selengehalt der landwirtschaftlichen Nutzfläche, in der BRD im internationalen Vergleich als eher niedrig einzustufen ist, findet man bei uns auch entsprechend häufig Selenpiegel unterhalb des Referenzbereiches [30]. Die Interpretation des Selenstatus sollte daher immer auch an dem allgemeingültigen Referenzbereich von 90–130 µg/l Vollblut orientiert sein, da nur dann die selenabhängigen metabolischen Funktionen in ausreichendem Maße gewährleistet sind. Dies gilt insbesondere für die Beurteilung von Selendefiziten bei Erkrankungen.

Unter diesem Gesichtspunkt sind auch die Angaben von Fratzer [25], der über verminderte Selenpiegel bei MS-Patienten berichtet, wenig aussagekräftig, da er weder den gemessenen Absolutgehalt

noch den zugrundeliegenden Normwert ausweist und lediglich mit einer prozentualen Erniedrigung argumentiert. In der dänischen Arbeit von Clausen et al. [23] werden zwar erniedrigte Selenpiegel im Vollblut und Serum von MS-Patienten im Vergleich zu einem Kontrollkollektiv gefunden, jedoch wiesen bei dieser Studie beide Kollektive Werte über 90 µg/l auf.

Fratzer [25] fand bei Patienten mit MS ebenfalls eine geringfügige Verminderung des Zink- und eine geringgradige Erhöhung des Kupferspiegels, wiederum allerdings ohne Angaben zu den Vergleichswerten. Durch die Daten der vorliegenden Studie können auch diese Befunde nicht bestätigt werden.

Nach den vorliegenden Ergebnissen ist eine erhöhte Quecksilberbelastung bei MS-Patienten nachgewiesen. Damit ist ein Umweltfaktor, über den schon in früheren Jahren spekuliert wurde, identifiziert, der in die Reihe der pathogenetischen Agenzien aufgenommen werden sollte. Zwar kann bei den MS-Patienten kein erniedrigter Status der antioxidativ wirksamen Spurenelemente im Vergleich zum untersuchten Kontrollkollektiv festgestellt werden, jedoch muß aufgrund der stark erhöhten Quecksilberbelastung von einer erhöhten oxidativen Streßbelastung dieser Patienten ausgegangen werden, die wahrscheinlich nicht mehr ausreichend kompensiert werden kann. Inwieweit eine Behandlung mit Antidota (Selen, Komplexbildner wie z. B. DMPS) die Krankheits-symptomatik mildert, muß in weitergehenden Studien geprüft werden.

Literatur

- [1] BAASCH, E.: Theoretische Überlegungen zur Ätiologie der Sclerosis multiplex. Die Multiple Sklerose eine Quecksilberallergie? Schweiz. Arch. Neurol. Neurochir. Psychiat. **98**, 1–19 (1966)
- [2] CHODOSH, R.: Beitrag zur Frage: Multiple-Sklerose-Ätiologie und Amalgam. Schweiz. Mschr. Zahnheilk. **76**, 143–151 (1966)
- [3] KNOLLE, G.; B. GÜNTHER: Beitrag zur Ätiologiehypothese: Amalgam und Multiple Sklerose. Schweiz. Mschr. Zahnheilk. **77**, 761–776 (1967)
- [4] FIRNHABER, W.; H. ORTH: Über die pathogenetische Bedeutung von Zahnerkrankungen und Zahnbehandlungen bei der Multiplen Sklerose. J. Neurol. **215**, 141–149 (1977)

