

Die Suche nach dem kleinsten Fehler - Validität des Chelat-evozierten Metallexkretionstests (CEMET) –

Dr. med. Thomas C. Carmine

1. Einleitung

Das Bio-Monitoring von toxischen Metallen und anderen Umweltschadstoffen stellt eine grosse analytische Herausforderung dar.¹ Ein optimaler Biomarker sollte einerseits Exposition und toxische Belastung adäquat repräsentieren und andererseits möglichst kleine Tagesschwankungen (intraindividuelle Varianz) bei gleichzeitig hoher interindividueller Varianz aufweisen.² Die Biomarker sollten dabei möglichst spezifisch die Exposition abbilden und nur wenig von anderen Variablen und Störfaktoren beeinflusst werden.

Urin und Blut sind in der Metallanalytik die gebräuchlichsten Analysemedien. Gegenüber Stuhl, Nägeln oder Haar sind Blut- und Urinkonzentrationen der meisten Metalle umfangreicher wissenschaftlich dokumentiert und validiert.¹ Die Validität von Blut- und Urintests variiert stark zwischen den einzelnen Metallen und ist abhängig von deren Konzentration, chemischer Zusammensetzung, Verteilung und Toxikokinetik (Tab.1).¹ Generell weisen Urinwerte die höchste Validität für überwiegend renal eingelagerte und ausgeschiedene Metalle wie z.B. anorganisches Quecksilber, Cadmium oder Arsen auf. Dagegen ist die kumulierte Gesamtkörperlast von Knochen-affinen Metallen wie Blei, Gadolinium oder Uran nur schwach durch die Konzentration im Spontanurin (SpU) repräsentiert.⁶ Für die meisten Metalle sind keine sicheren Rückschlüsse von Urin - und Blutkonzentrationen auf Zeitpunkt, Dauer, Höhe und Art der Exposition möglich. Oft sind detaillierte Expositionsanamnesen und Umweltanalysen z.B. von Trinkwasser oder Umgebungsluft zur Aufklärung erforderlich.

	Kurzzeit-Exposition (1-14 Tage)	Mittelfristige Exposition (Wochen/Monate)	Langzeitexposition (Jahre) Totale Körperlast (TBB)	Kontinuierliche Exposition
Cadmium	Faeces	Blut (schnelle Komponente) Haare (störanfällig)	Urin (Cave: Validität↓ bei Tubulus Schaden → uCd↑) Blut (langsame Komponente)	Urin, Blut
Blei	Plasma / Blut Faeces	Plasma / Blut Haare (störanfällig)	Knochen (Radiofluoreszenz), Blut (steigender TBB-Anteil mit höherem Alter)	Blut
Arsen	Urin (Blut)	Haare (störanfällig)	Indirekt: Expositionsanalyse Luft, Wasser	Trinkwasser aAs: Urin (aAs + MMA) Blut (aAs)
Quecksilber anorganisch	Urin, (Blut)	Urin, (Blut) Haare (störanfällig) Nägel	(Urin, Blut) Expositionsanalyse	Urin, (Blut)
Methyl- Quecksilber	Blut	Haare, Nägel Blut Ratio Blut : Haare = 1 : 250	(Blut, Haare, Nägel) Aufnahme von 1µg Met-Hg/d bei 70kg KG $\hat{=}$ 0.3-0.8 µg/L Met-Hg in Blut	Blut Haare, Nägel

Tabelle 1: Validität verschiedener Körpermedien für epidemiologische Kenngrössen der toxikologisch bedeutsamsten vier Metalle. Vollblut bildet kurz- mittel und mit höherem Alter zunehmend auch langfristige Bleibelastungen ab. Zudem besteht eine genetisch bedingte hohe Expositions-unabhängige interindividuelle Varianz der Blutbleiwerte. Auch CEMET Blei repräsentiert nur schlecht die Gesamtkörperlast, da 93 % des Schwermetalls im Knochen gebunden sind, von wo es durch i.v. Chelate nur zu einem kleinen Bruchteil mobilisiert und urinär ausgeschieden werden kann. Auch Quecksilber in Blut und Urin setzt sich aus akuter, mittel- und langfristiger Exposition zusammen. Dagegen sind SpU-Cadmium-Werte bei Nierengesunden sehr aussagekräftig für die kumulierte Gesamtkörperlast, da Cd überwiegend in den Nieren eingelagert wird und die Gewebkonzentration des Nierenkortex mit der TBB korreliert.^{6,7}

Zudem sind SpU-Messungen vieler Metalle häufig nicht ausreichend sensitiv, d.h. sie sind entweder unterhalb der IPC-MS Nachweisgrenze (NWG) oder mehrheitlich nur knapp oberhalb dieser (Abb.1). Die Werte sind damit unvollständig und die Interpretierbarkeit aufgrund der oft geringen Varianz eingeschränkt. Gebräuchliche Chelate wie DMPS, Na-Ca-EDTA oder Zn-DTPA erhöhen die Urinausscheidung der meisten Metalle in Abhängigkeit von deren Affinität zum Chelator. Sie wirken damit in der Urin-Metallanalytik wie eine Lupe und verbessern die Sensitivität des Metallnachweises im Urin.^{3,4,5}

Der erste Abschnitt dieses Artikels behandelt die Unterschiede von Sensitivität und Validität zwischen SpU und einem standardisierten CEMET basierend auf der klinisch bewährten i.v. Kombination von 600 mg Glutathion, 1.9 g Na-Ca-EDTA und 250 mg DMPS.

Der zweite Teil befasst sich mit einigen problematischeren Aspekten der Validität von urinären Biomarkern, die bei ihrer Interpretation zu berücksichtigen sind. Wie SpU reflektieren auch CEMETs nicht ausschliesslich die Toxin Exposition, sondern werden von Lebensalter, Geschlecht, Muskelmasse, Nierenfunktion und vor allem von der Diurese mitbeeinflusst. Letztere erklärt bis zu 80% der Ergebnisvarianz, was eine adäquate Verdünnungs-Korrektur erforderlich macht. Die gängigen Diurese-Korrekturen durch Bezug auf urinäres Kreatinin (uCRN), Osmolalität oder spezifisches Gewicht kompensieren allerdings den Verdünnungsfehler nur teilweise und sind selbst in mehrfacher Hinsicht fehleranfällig. Die Berücksichtigung von Lebensalter, Geschlecht und BMI auf Urinergebnisse sind neben moderneren polynomischen Diurese Korrekturen geeignete Instrumente, die Aussagekraft von Urinergebnissen zu verbessern.

Der dritte und letzte Abschnitt des Artikels behandelt die Korrelationen von CEMET Ergebnissen mit öffentlich zugänglichen Luftverschmutzungsparametern wie elementarem Kohlenstoff (EC, Russ), SO₂, NO₂ und Feinstaub. Vergleichende Datenanalysen eigener CEMET Ergebnisse mit offiziellen Luftqualitätsmessungen des Schweizer Bundesamtes für Umwelt (BAFU) legen nahe, dass sich erhöhte ambiente Belastungen mit Schwermetallen, wie zum Beispiel in längeren Trockenheits- und Feinstaubperioden, auf Gruppenbasis im CEMET erkennen lassen. Im Gegensatz zu den weniger sensitiven Spontanurinmessungen scheinen CEMETs auch gut geeignet zur Untersuchung der Latenzzeiten zwischen Exposition und Absorption inhalierter Metalle in Blutkreislauf und chelierbare Organe.

2. Sensitivitätssteigerung durch CEMET

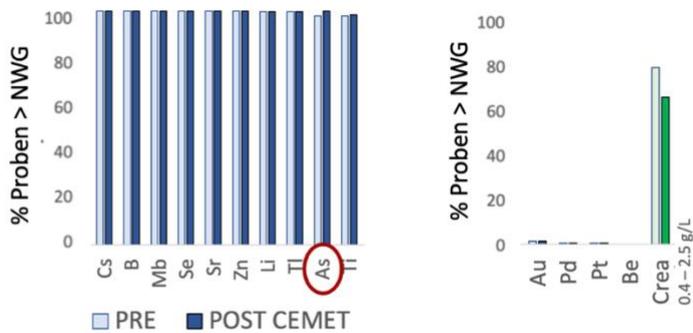
Der grösste Vorteil des CEMET besteht ganz offensichtlich in einer deutlich sensitiveren Nachweisbarkeit der meisten Metalle im Urin (Abb.1/2). Allerdings können sich SpU und CEMET bezüglich der erfassten Körperkompartimente, der ausgeschiedenen chemischen Formen und des repräsentierten Expositionszeitraums unterscheiden (Abschnitt 2.5).

2.1. Erhöhung des Anteil quantifizierbarer Proben

Abbildung 1 fasst die Auswertung von n = 337 korrespondierenden SpU/CEMET Proben zusammen, in denen je 33 Metalle mit ICP-MS (IMD, Berlin) bestimmt wurden. Zehn Metalle, darunter Arsen, lassen sich regelmässig in SpU oberhalb der Nachweisgrenze (NWG) bestimmen (Abb.1a), während vier Metalle (Gold, Platin, Palladium und Beryllium) sowohl in SpU als auch im CEMET nur in Ausnahmefällen nachweisbar sind (Abb.1b). Für die Mehrheit der Metalle (19/33) lässt sich hingegen im CEMET eine erhebliche Verbesserung von Sensitivität und Probenausbeute erzielen (Abb.1c). Aus umweltmedizinischen Gesichtspunkten ist dies vor allem für Blei und Quecksilber bedeutsam, da beide ein grosses Gefährdungspotential aufweisen,⁸ dabei aber nur in einem kleinen Prozentsatz der SpU-Proben oberhalb der ICP-MS NWG quantifizierbar sind.

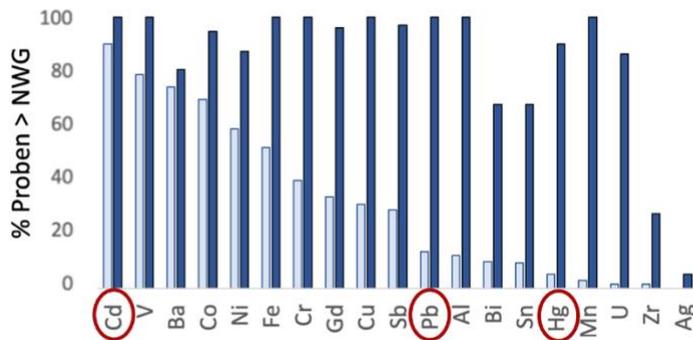
2.2. Bestimmung der CEMET-Effizienz durch Exkretions-Verstärkungsfaktor (EVF)

Die Medianwerte der n = 337 SpU-Proben aus Abb.1 wurden in Abb.2 mit den zugehörigen CEMET Median- und Interquartilsbereichswerten verglichen. Von den toxikologisch relevantesten vier Metallen wird im CEMET vor allem die Ausscheidung von Blei (EVF 38) und Quecksilber (EVF 39) signifikant verstärkt (Abb.2a/b), während Arsen und Cadmium nur



A. Hohe Sensitivität im Spontanurin

B. Geringe Sensitivität in Spontanurin & CEMET



C. Steigerung von Sensitivität und validem Probenanteil durch CEMET

Abbildung 1: Sensitivitätssteigerung durch CEMET - Anteil valider Proben. Vergleich der prozentualen Anteile von Proben oberhalb der ICP-MS Nachweisgrenze von SpU- und CEMET (n = 337 SpU und korrespondierende CEMET Proben, uCRN 0.3–3 g/L). (A) Regelmässig im SpU ausgeschiedene Metalle, (B) sowohl in SpU als auch im CEMET nur ausnahmsweise nachweisbare Metalle, (C) Metalle mit im CEMET verbesserter Exkretion.

geringfügig erhöht werden. Auch die Aluminiumwerte sind im CEMET im Vergleich zu SpU deutlich erhöht, wobei CEMET-Aluminium aufgrund variabler Al-Gehalte der verwendeten Na-Ca-EDTA-Lösungen nur eingeschränkte Validität für die tatsächliche Al-Exposition aufweist (Siehe Punkt 3.3).

Das essenzielle Spurenelement Zink stellt quantitativ das bedeutsamste CEMET Urinmetall dar, mit grossem Abstand gefolgt von Bor, Kupfer und Eisen. Zink ist als essenzielles Spurenelement ubiquitär im System verfügbar und wird von beiden Chelatoren Na-Ca-EDTA und DMPS mit hoher Affinität gebunden.^{5,9} Seine prädominante Rolle im CEMET Urin weist auf eine potenziell bedeutende Störquelle von Zinksupplementation vor dem Test hin. Zink kann die Bindungsstellen der Chelatoren besetzen und so die Ausscheidung der anderen Metalle potenziell stark vermindern.

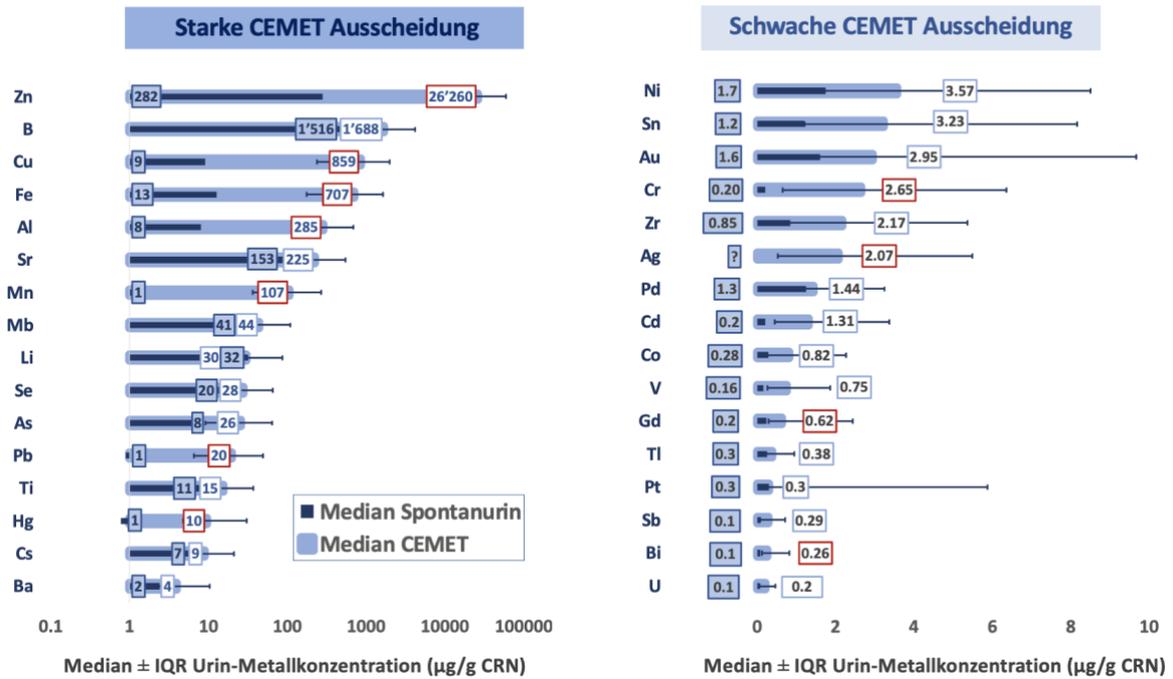


Abbildung 2a: Sensitivitätssteigerung durch CEMET-Medianwerte. Vergleich der Medianwerte der n = 337 SpU-Proben aus Abb.1 mit den Medianen ± IQR der korrespondierenden CEMET Urine (uCRN 0.3–3 g/L). Rote Umrandung: CEMET Werte von Metallen mit signifikanter Chelatbindung.

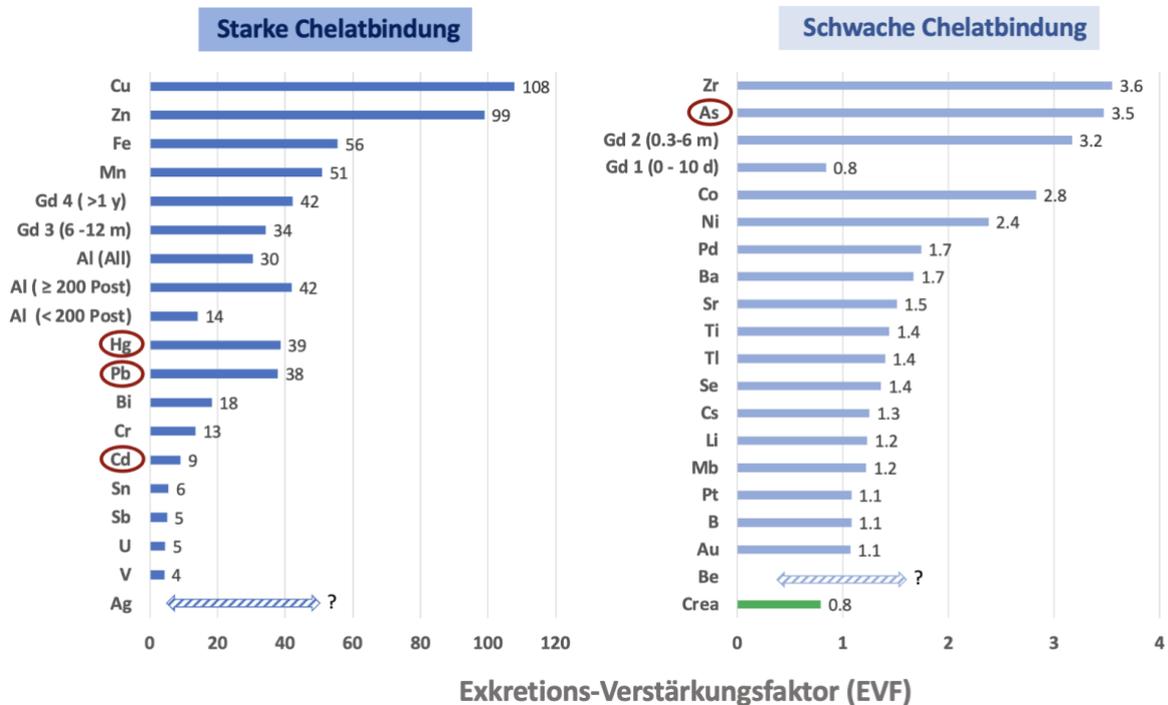


Abbildung 2b: CEMET Exkretions-Verstärkungsfaktoren (EVF). Der EVF wurde für alle 33 Metalle anhand der Mediane der Proben aus Abbildung 2a mit der Formel $EVF = M_{CEMET} / M_{SpU}$ berechnet. Die umweltmedizinisch relevantesten Metalle sind rot markiert.⁸ Silber war in keinem SpU und Beryllium weder in SpU noch im CEMET oberhalb der NWG und für beide Metalle konnte somit kein EVF bestimmt werden. Nur 80% der Proben mit uCRN 0.3–3 g/L im SpU lagen im durch die Chelat-Infusionen höher verdünnten CEMET Urin noch in diesem Toleranzbereich.

2.3. Abhängigkeit des EVF von Metallbelastung und chemischer Bindung

Die in Abb.2b dargestellten Exkretions-Verstärkungsfaktoren (EVF) des CEMET sind nicht für alle Metallkonzentrationen konstant, sondern können starke Abhängigkeiten von der SpU-Metall-Konzentration aufweisen (Abb.3). Die meisten Metalle zeigen für niedrige Belastungen deutlich höhere EVFs als für hohe. Ausnahmen bilden Blei und Quecksilber, die keinen signifikanten Abfall der EVF mit steigender SpU-Konzentration zeigen - wahrscheinlich ihrer vergleichsweise starken Chelat-Bindung geschuldet.

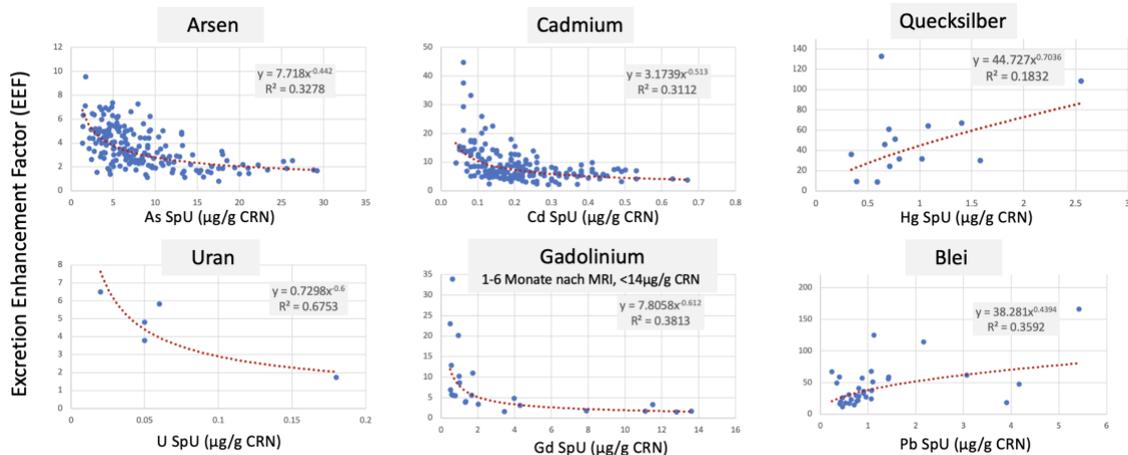


Abbildung 3: Abhängigkeit des EVF von der SpU Metallkonzentration.

2.4. Der variable EVF von Gadolinium - späte Erkenntnisse eines Humanexperiments

Am Beispiel von Gadolinium (Gd) lässt sich sehr gut die Abhängigkeit des EVF von einerseits der Belastung und andererseits der chemischen Bindung und Verteilung im Körper demonstrieren. Gadolinium gelangt überwiegend iatrogen, d.h. über die Gabe von MRI-Gadolinium-Kontrastmitteln (Gd-KM) in den menschlichen Organismus und wird im Verlauf grösstenteils renal ausgeschieden. Gadolinium in SpU, CEMET und der EVF sind somit abhängig von der zum Messzeitpunkt verstrichenen Zeit nach Gd-KM Gabe (Abb.4a).

Im SpU lässt bis ca. sechs Monate nach Gd-KM-MRI ein kontinuierlicher Abfall von Gd beobachten, was bei der Interpretation von Gd-Urinproben berücksichtigt werden sollte. Die Konzentrationskurve für CEMET-Gd verläuft deutlich höher als die SpU-Kurve und im Gegensatz zu SpU zeigen CEMETs meist noch Jahre nach Gd-KM-Gabe Werte oberhalb der NWG, wobei der EVF mit zunehmendem Abstand zur Gd-KM Gabe zunimmt.

Interessanterweise zeigen sich in der Regel bis ca. zwei Wochen nach der KM-Gabe im SpU sogar höhere oder mit CEMET Urin vergleichbare Gd-werte.^{10,11} Dies sollte allerdings nicht dazu verleiten, die Effektivität der Chelatbindung (Na-Ca-EDTA, Zn-DTPA) von Gadolinium generell in Frage zu stellen. Bei Gd-KM handelt es sich um Gd-Chelate, welche als solche von Nierengesunden sehr schnell renal eliminiert werden. Zunächst liegt das KM-Gd also bereits in chelierter, d.h. an einen Liganden gebundenen Form vor, was die Bindung an Na-Ca-EDTA oder Zn-DTPA erschwert. Ausserdem vermindert sich die renale Ausscheidung von Gd-KM durch die im CEMET stark erhöhte Exkretion von anderen Metallen, welche mit Gd-KM um tubuläre Metalltransporter konkurrenzieren können.

Ganz offensichtlich wird aber nicht die gesamte Menge an Gd-KM als solches mit dem Urin ausgeschieden. Ein kleinerer Anteil (geschätzt 0.8-2%) des KM-Gd löst sich vom Liganden,¹¹⁻¹⁴ d.h. er wird dort durch einen als Transmetallisierung bezeichneten Prozess durch andere Metalle wie z.B. Eisen ersetzt und der wesentlich toxischere freie, bzw. niedermolekular gebundene Gd-Anteil dann überwiegend im Knochengewebe gebunden und von dort über lange Zeiträume in Blut und Weichgewebe umverteilt.¹²⁻¹⁴ Kleinere Anteile dieses retinierten Gd können mit Chelaten wie Ca-Na-EDTA oder Zn-DTPA noch bis mehrere Jahre nach der Gd-KM Gabe ausgeleitet und im CEMET nachgewiesen werden (Abb.4b).^{11,12}

**Faustregel EEF Gadolinium:
3 x Monate nach MRI**

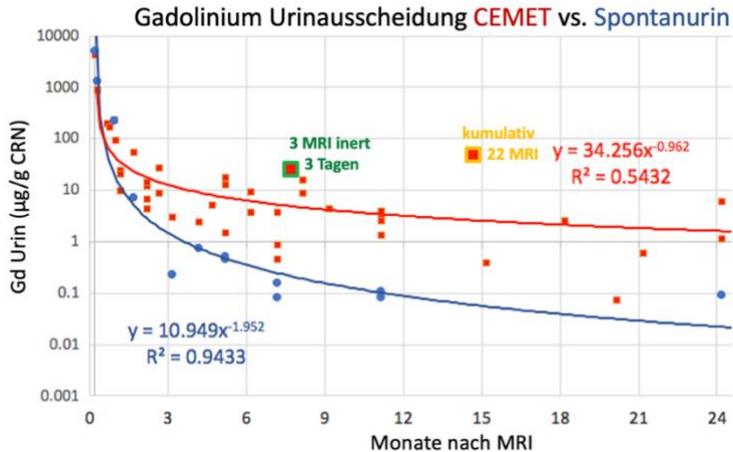
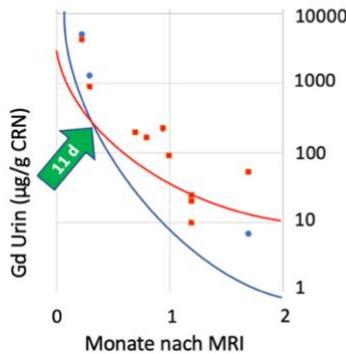


Abbildung 4a: Abhängigkeit von SpU-Gd, CEMET-Gd und EVF von der Zeit nach letzter Gd-KM-Dosis (n = 40). Durchschnittlich erhielten die Patienten kumulativ 2.5 Gd-KM Gaben im Laufe ihres Lebens. Durch Division der Regressionsfunktionen von Gd-CEMET/Gd-SpU ergibt sich für die ersten 2 Jahre nach dem letzten Gd-KM-MRI eine Abschätzung des EVF mit 3 x Monate nach Gd-KM-MRI.¹¹ Das gelb markierte Symbol rechts repräsentiert eine Patientin nach kumulativ exzessiver Gd-KM Exposition von 22 Gd-KM-Dosen über einen Zeitraum von 15 Jahren. Die Mehrexposition spiegelt sich in einer 19-fachen Erhöhung von CEMET-Gd (47 µg/g vs. 2.5 µg/g uCRN) gegenüber dem Erwartungswert auf der Regressionskurve wider. Das grün markierte Symbol zeigt eine Patientin nach drei Gd-KM-MRIs an drei aufeinander folgenden Tagen. Sie weist mit 25 vs. 4.7 µg/g uCRN ein um Faktor 5.3 erhöhtes CEMET-Gd gegenüber dem nach 7.5 Monaten zu erwartenden Regressionswert auf. Diese Beispiele belegen deutlich die Abhängigkeit der im CEMET erfassten, retinierten Gd-Menge von der im Laufe des Lebens kumulierten, nie vollständig ausgeschiedenen Gesamtdosis.

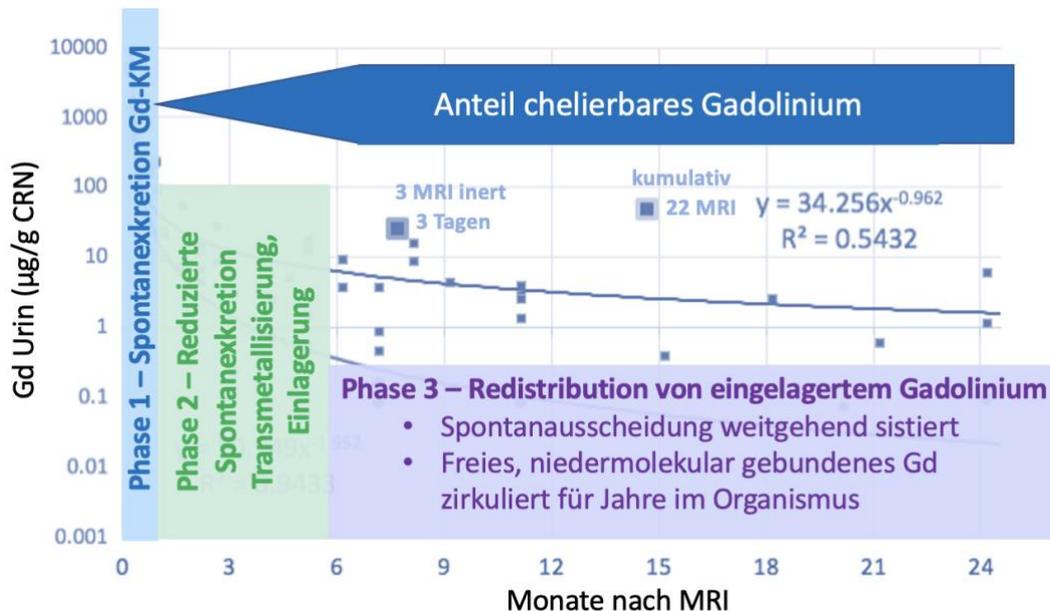


Abbildung 4b: 3-Phasen-Schema der Gadolinium Ausscheidung nach Gd-KM Gabe. Die Bindung an Chelate wie Na-Ca-EDTA oder Zn-DTPA erfolgt nur durch nieder-molekular gebundenes oder freies Gadolinium. Bis ca. 2 Wochen nach Gd-KM-Gabe besteht überwiegend Bindung zum KM-Liganden was die Chelatbindung erschwert und eine Mehrausscheidung von Gd im CEMET-Urin verhindert.

2.5. Validitätsunterschiede zwischen SpU und CEMET

Unterschiede zwischen CEMET und SpU Ergebnissen bestehen hinsichtlich der Quantität, der chemischen Verbindungen des ausgeschiedenen Metalls, der repräsentierten Körperkompartimente und des erfassten Expositionszeitraums. CEMET Urin ist somit nicht nur eine quantitative Verstärkung der SpU-Metallkonzentration, sondern kann auch unterschiedliche toxikologische Expositionszeiträume repräsentieren und die für SpU

bestehende Validität verändern. Wie SpU lässt auch CEMET Urin generell keine klare Differenzierung des Expositionszeitraums zu, d.h. im CEMET werden, wie auch meist im SpU, kumulativ kurz, mittel-, und langfristige Belastungen erfasst, ohne dass dabei eindeutige Rückschlüsse auf die Gesamtkörperlast (Total Body Burden, TBB) und/oder die klinische Toxizität gezogen werden können (Tab.1).⁶ *CEMET Ergebnisse sollten daher eher als eine eigene epidemiologische Kenngröße verstanden werden, die hauptsächlich den aus Blut und Weichteilen mobilisierbaren Metallpool repräsentiert. Dieser ist in der Regel weniger stark gebunden, reaktiver, überwiegend in vitalen Organen lokalisiert und damit als toxikologisch relevant einzustufen.*

Die im CEMET verglichen mit SpU veränderte Validität lässt sich deutlich am Beispiel von Cadmium erkennen, dessen TBB bei Nierengesunden aufgrund seiner überwiegend renalen Langzeiteinlagerung durch SpU-Cd valide repräsentiert wird.^{6,7} Die Assoziation zwischen CEMET-Cd und SpU-Cd ist jedoch deutlich weniger ausgeprägt als für andere Metalle wie z.B. Quecksilber, Blei oder Arsen (Abb.5a/b). Dies weist darauf hin, dass CEMET-Cd zu einem erheblichen Anteil aus nicht-renalen Quellen wie v.a. aus Leber, Knochenmark und Erythrozyten mobilisiert wird, welche im Gegensatz zu SpU-Cd eher kurz- und mittelfristige Expositionen repräsentieren als die TBB.⁶

Auch die CEMET Werte für Quecksilber weisen systemische Validitätsunterschiede auf, die vor allem auf die hohe DMPS-Bindung und renale Ausscheidung von Methylquecksilber (Met-Hg) zurückgehen.⁹ Met-Hg wird überwiegend hepatisch-biliär eliminiert und trägt daher nur unwesentlich zu Hg in SpU bei.⁶ Die in Abb.5a dargestellte gute Korrelation zwischen CEMET- und SpU-Hg muss insofern relativiert werden, als dass in die Auswertung naturgemäss nur die 9 der insgesamt 337 Urinproben eingehen, die Hg bereits im SpU oberhalb der NWG aufweisen, d.h. Proben von Patienten mit ungewöhnlich hohen anorganischen Hg-Belastungen.

Während sich im CEMET die SpU-Validität von Cd für TBB hin zu mittel- und kurzfristigen und die von Hg von anorganischen zu organischen Expositionen (Met-Hg) verschiebt, wird für Aluminium aufgrund der variablen Al-Gehalte von Na-Ca-EDTA die im SpU bestehende Validität für die Al-Exposition stark limitiert (Abb.5b, Punkt 3.3).¹⁵ Für eine bessere Beurteilung der Exposition und TBB von Al sind Provokationstests auf Basis niedriger Dosierungen des gängigen Fe- und Al-Chelators Desferrioxamin geeigneter als der hier untersuchte CEMET.^{16,17}

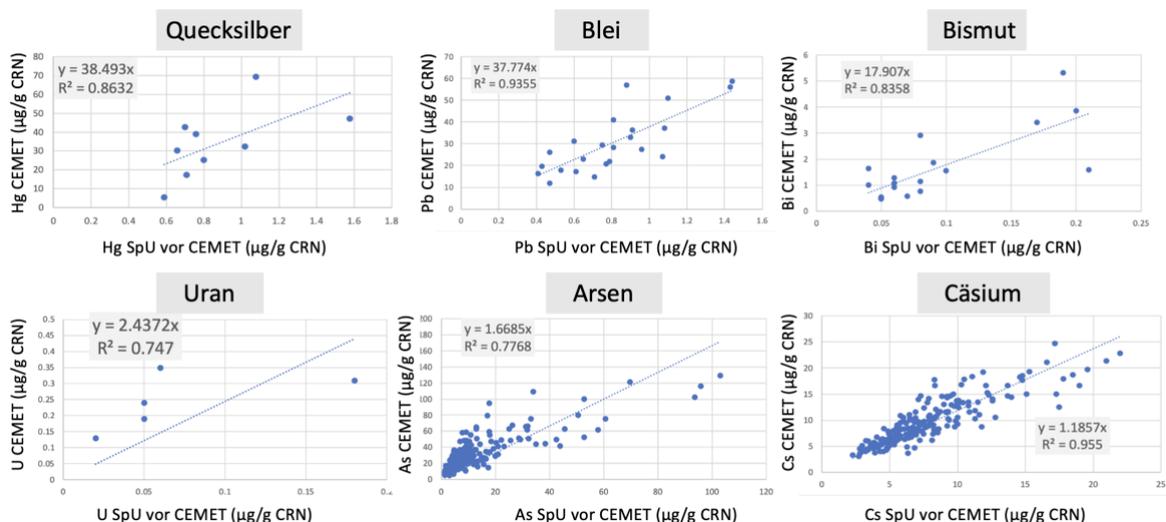


Abbildung 5a: Metalle mit guter Korrelation und geringer Validitätsänderung zwischen SpU und CEMET. Auswertung aller der n = 337 Proben aus Abb. 1 mit SpU-Werten oberhalb der NWG. Cäsium (Cs) zeigt eine nur sehr geringe Chelatbindung im CEMET und es besteht daher eine annähernd lineare Beziehung zwischen Cs in CEMET und SpU. Für Korrelationen von CEMET Metallen mit Umweltparametern eignet sich das vorwiegend aus Bodenstäuben stammende Cs (neben Lithium) sehr gut als wenig störanfälliger, von Chelaten und Chelat-induzierten Metallinteraktionen kaum beeinflusster Kontrollparameter.

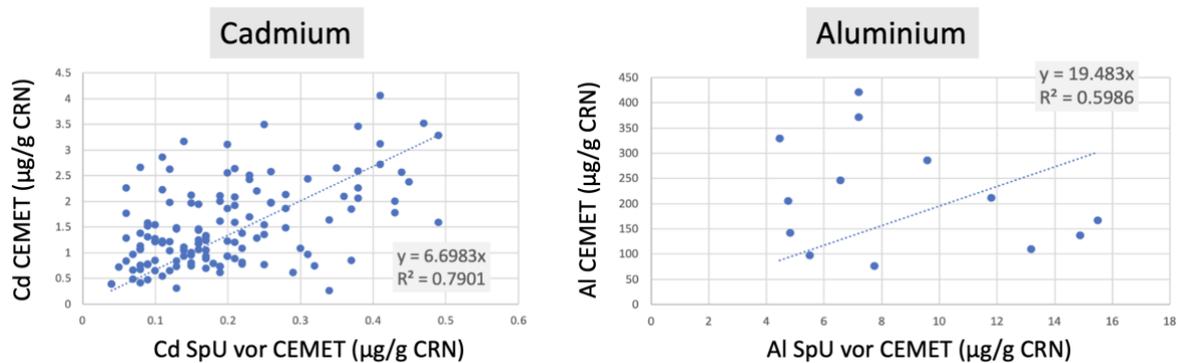


Abbildung 5b: Cadmium und Aluminium - Metalle mit Inkongruenz und Validitätsänderung zwischen SpU und CEMET. Die hohe Streuung der Werte wird im Fall von Cadmium wahrscheinlich durch Unterschiede in den repräsentierten Körperkompartimenten und für Aluminium durch stark variable externe Zufuhr von Al in Na-Ca-EDTA-Lösungen verursacht.

3. Methodische Schwierigkeiten und Fallstricke des CEMET

Eine komplexe Untersuchung wie der CEMET bietet eine Vielzahl an möglichen Fehlerquellen (Tab.2). Generell lassen sich dabei Zufalls-Schwankungen (Random-Fehler) von systemischen Fehlern, d.h. auf grundsätzlichen Fehlannahmen oder ungeeigneter Methodik beruhenden Unzulänglichkeiten unterscheiden. Erstere entstehen durch den nicht vollständig kontrollierten variablen Einfluss der Urinflussrate, metabolischer Unterschiede, diverser Pathologien und methodischer Störfaktoren mit Einfluss auf das CEMET Ergebnis. Random-Fehler sind entweder durch Wiederholung oder adäquate Normierung abzuschwächen, während Systemfehler einer grundsätzlichen Änderung der Testmethodik bedürfen. Der potenzielle Einfluss von Random-Fehlern wirkt sich wesentlich stärker auf die Validität von intra-individuellen und - stärker noch - inter-individuellen Vergleichen aus als in Untersuchungen an grösseren Kollektiven, bei denen sich die Randomfehler mit genügend grosser Stichprobenzahl herausmitteln. Einige der einflussreichsten Fehlerquellen werden im folgenden Abschnitt erläutert.

	Randomfehler	Systemfehler
Prä-Analytisch	<ul style="list-style-type: none"> • Variable Nierenfunktion (GFR/Filter/Tubulär) • Variable Urinflussrate (UFR) • Unkontrollierte Confounding-Faktoren für Analyt und/oder UFR-Korrektoren wie Kreatinin (BMI, Geschlecht, Alter, Muskelmasse, Diät, Nierenfunktion, Tageszeit, u.a.) • Verunreinigungen von Reagenzien (Aluminium in Na-Ca-EDTA) oder Sammelbehältern • Atypische Exposition (z.B. Fischkonsum vor Test) • Non-compliance Test-Instruktion/-Durchführung • Variable Lager- und Transportbedingungen Urin 	<ul style="list-style-type: none"> • Parameter nicht repräsentativ für Messgröße (z.B. CEMET für Dauerbelastung/Body Burden/Toxizität) • Toxokinetiche Fehlannahmen (v.a. bezüglich von Absorption, Verteilung und Ausscheidung)
Analytisch	<ul style="list-style-type: none"> • Variation von Kalibrierung und Reagenzien • Variable Analysengeräte 	<ul style="list-style-type: none"> • Konstanter Kalibrierungsfehler • Zu geringe Präzision, Sensitivität, Spezifität der Messmethodik
Post-Analytisch	<ul style="list-style-type: none"> • Zuordnungsfehler von Resultaten 	<ul style="list-style-type: none"> • Mathematische Fehlannahmen z.B. bei Berechnung von Quotienten mit nicht-linearen Eigenschaften, wie Metall/ Kreatinin – Ratio zur UFR-Korrektur

Tabelle 2: Random- und Systemfehlerquellen des CEMET.

3.1. Einfluss der Nierenfunktion

Nierenschädigungen können sich in unterschiedlicher Weise auf die Metallausscheidung auswirken. Allgemein führt eine alleinige Reduktion der GFR zu einer verminderten Metallausscheidung. Die Ausscheidung des Diurese Korrektors uCRN wird dagegen erst in fortgeschrittenen Stadien von Niereninsuffizienz vermindert, da seine reduzierte glomeruläre Filtration lange durch seine effektive proximal tubuläre Mehrsekretion kompensiert wird. Über vergleichbare tubuläre Kompensationsmechanismen für Metalle ist wenig bekannt, allerdings werden Metalle und CRN im proximalen Tubulus teilweise über identische transmembranöse Transporter wie MDR1/P-Glycoprotein oder MATE-1 von tubulären Zellen in den Primärharn geschleust.¹⁸ Somit wäre auch ein kompetitiver Effekt zwischen CRN und Metallen an diesen Transportern und eine Abhängigkeit des Nettoeffekts auf die uCRN-korrigierten Urin-Metallwerte von der Metallkonzentration denkbar. Bei insgesamt eher zu erwartender Verminderung der uCRN-korrigierten Urinkonzentrationen bei isolierter glomerulärer Schädigung, könnten die Werte in Abhängigkeit vom Metall, seiner chemischen Form und Konzentration auch nicht beeinflusst oder -bei physiologischer tubulärer Metall-Nettosekretion- sogar gesteigert werden.

Bei Schädigungen der Filtermembran mit Proteinurie und/oder Hämaturie ist ein Anstieg der Metallausscheidung bei gleichbleibender CRN-Ausscheidung, also eine Steigerung auch des korrigierten Wertes zu erwarten, da der Hauptmetallanteil im Blut an Zellen und Eiweiße gebunden ist, die physiologischer Weise nicht, oder wie Albumin nur in geringem Mass, die glomeruläre Filtermembran passieren.^{1,6}

Auch eine rein tubuläre Schädigung wird die renale Ausscheidung der meisten Metalle erhöhen. Einerseits werden in Tubulus Zellen eingelagerte Metalle bei deren Destruktion in den Urin freigesetzt und andererseits erfolgt physiologischer Weise meist eine tubuläre Netto-Reabsorption von glomerulär filtrierten Metallen. Diese kann im pathologischen Zustand beeinträchtigt sein mit der Folge einer gesteigerten Metall Ausscheidung.^{6,18,19} CRN wird dagegen nur in Ausnahmesituationen tubulär reabsorbiert und es kommt im Fall eines Tubulusschadens im Gegensatz zum Metall zu keiner Mehrsekretion von CRN. Dies impliziert eine Erhöhung auch der uCRN-korrigierten Urin-Metallwerte.

Bei gemischten renalen Pathologien können sich die einzelnen Schädigungskomponenten synergistisch oder gegenläufig auf die Metallausscheidung auswirken und als Nettoeffekt kann, in Abhängigkeit von Metall und Art der Erkrankung, ein verglichen mit Nierengesunden gesteigerter, verminderter oder identischer Messwert resultieren.

3.2. Einfluss des Lebensalters

Viele CEMET Metalle werden im Alter mehr ausgeschieden als in jüngeren Jahren, wie vor allem Cadmium und Blei aufgrund ihrer langen Eliminations-HWZ und ausgeprägten Gewebsretention (Abb.6). Einige Metalle zeigen dagegen im Alter niedrigere CEMET Werte, wie z.B. Molybdän oder Mangan.

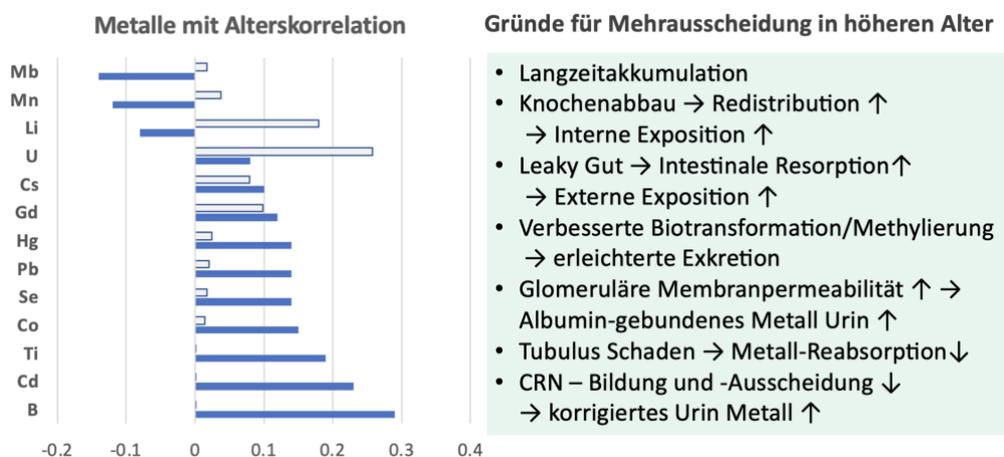


Abbildung 6: Altersabhängigkeit von CEMET Metallen und Ursachen für Mehrausscheidung. Auswertung von n = 281 Erst-CEMETs, CRN 0.3–3 g/L, AI < 150 µg/g.

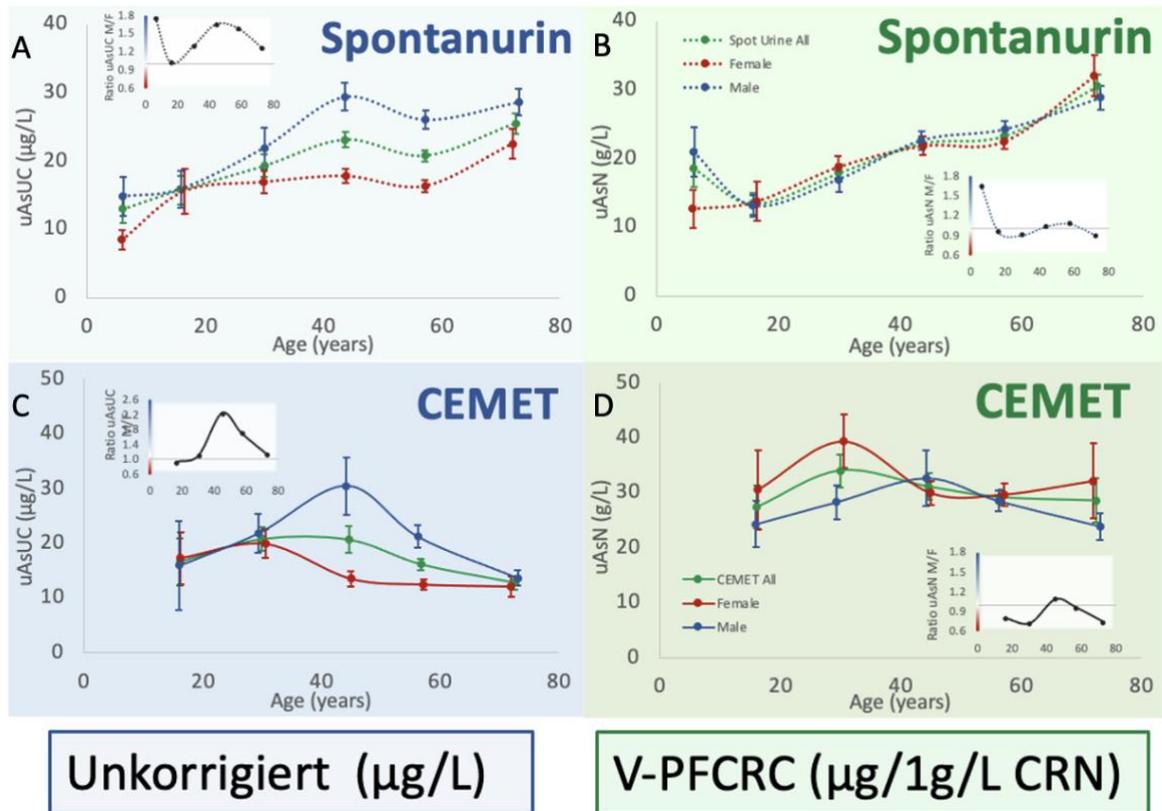


Abbildung 7: Alters- und Geschlechtsabhängigkeit von Arsen in Spontanurin (A/B, $n = 5698$) und CEMET (C/D, $n = 1181$), $u\text{CRN } 0.3\text{--}3 \text{ g/L}$. Blau (A/C): unkorrigierte Werte in $\mu\text{g/L}$, grün (B/D): variable potenzfunktionelle Kreatinin-Korrektur in $\mu\text{g}/1\text{g/L CRN}$. Der konstante Anstieg von As im SpU beider Geschlechter (A/B) ist im CEMET aufgehoben (B/D). Senioren > 65 Jahre zeigen keine wesentliche Steigerung von As im CEMET verglichen mit SpU (B vs. D), der EVF nähert sich dem Wert von 1.

Ferner ist zu beachten, dass erhebliche Unterschiede zwischen SpU und CEMET bezüglich ihrer Altersabhängigkeit bestehen können, wie in Abb.7 am Beispiel von Arsen gezeigt. Arsen wird mit fortschreitendem Alter besser methyliert und im SpU vermehrt ausgeschieden (Abb.7b). Das Resultat ist eine Verminderung des chelierbaren Anteils im höheren Alter mit entsprechender Nivellierung des EVF (Abb.7b/d). Die Altersabhängigkeit sollte bei der Beurteilung idealerweise mit berücksichtigt werden z.B. durch alterskorrigierte Referenzbereiche oder rechnerische Normierung auf ein definiertes Lebensalter.

3.3. Störfaktor Aluminium - eine analytische Herausforderung

Das Leichtmetall erweist sich in mehrfacher Hinsicht als problematisch bei der Interpretation von CEMET Ergebnissen. Auf Schwankungen der Aluminiumkonzentrationen von Na-Ca-EDTA Lösungen wurde bereits 2017 hingewiesen,¹⁵ und in eigenen zwischen 2021-2023 erfolgten Kontrollen bestätigt. In 67 Na-Ca-EDTA-Proben variierte Al zwischen 1514 und 38707 $\mu\text{g/L}$ mit einem Median von 6323 $\mu\text{g/L}$. Dies entspricht bei der im CEMET verwendeten EDTA-Menge von 20 ml einer infundierten Chelat-gebundenen Al-Dosis von 30–775 $\mu\text{g/CEMET}$ (Median 126 μg). Es zeigte sich eine starke Korrelation zwischen Al im Na-Ca-EDTA ($R^2 0.65$) und CEMET Urin, d.h. die Varianz der CEMET Werte wird zu 65% durch iatrogenes Aluminium erklärt und entsprechend schwach ist die Validität der Ergebnisse für die Exposition.

Ausser diesem erheblichen Störfaktor für die Validität der CEMET-Al Werte ist auch der verzerrende Einfluss von Al auf die Ausscheidung einer Reihe weiterer Transferrin-gebundener Metalle von diagnostischer Relevanz (Abb.8a/b).^{20–23} Die CEMET Werte von Mangan, Eisen, Vanadium, Chrom und Kupfer zeigten die stärkste Assoziation mit Al, von dem im Blut 45% intrazellulär vorliegen und die restlichen 55% im Plasma zu 90% an Transferrin gebunden sind (Abb.8a).²⁴ Während Transferrin physiologischer Weise nicht die

glomeruläre Filtermembran passieren kann, sind die restlichen 10% des Plasma-Al überwiegend niedermolekular an Citrat gebunden und damit sowohl chelier- als auch frei filtrierbar.^{6,25} Die mehrschichtigen disruptiven Effekte von Aluminium auf die Transferrin Bindung und Verwertung von Eisen sind gut dokumentiert.²⁶⁻³⁰ Die bekannten Folgen reichen von erhöhter totaler Eisenbindungskapazität, reduziertem Ferritin, eingeschränkter Häm-Synthese mit Anstieg von Zink-Protoporphyrin bis zur EPO-resistenten mikrozytären Anämie bei schweren chronischen Intoxikationen wie sie historisch häufig durch Al-belastete Hämodialyseflüssigkeiten (>200 µg/L Al) hervorgerufen wurden. Es liegt nahe, dass Aluminium ausser Eisen auch andere Metalle aus ihrer Transferrin Bindung verdrängt, und so die Bindung an frei glomerulär filtrierbare Chelatoren und ihre Ausscheidung im CEMET erleichtert.

Der Al-Einfluss auf die Transferrin Bindung von Eisen und anderer Metalle scheint sich dabei nicht nur auf iatrogenes Al aus Na-Ca-EDTA zu beschränken. Subanalysen von Proben mit geringem CEMET-Al (< 125µg/g uCRN) zeigten sogar einen proportional wesentlich stärker steigenden Einfluss von Al auf die anderen genannten CEMET Metalle, wie in Abb.8b für Eisen veranschaulicht. Gleiche Ergebnisse fanden sich bei der Subanalyse von CEMETs, bei denen Na-Ca-EDTA einer identischen Charge mit weitgehend konstanten, niedrigen Na-Ca-EDTA-Al Konzentrationen verwendet worden war, also mit Proben, deren CEMET-Al Varianz weitgehend durch die tatsächlich vorbestehende Al-Körperlast erklärt wurde. Dies legt nahe, dass der destabilisierende Effekt von Aluminium auf die Transferrin Bindung anderer Metalle mit zunehmender Expositions- und Verweildauer des Al im Organismus ansteigt und dieser Störfaktor wahrscheinlich auch bei Verwendung Al-standardisierter Na-Ca-EDTA Lösungen fortbestehen wird.

Toxikologisch bewegen sich die mit Na-Ca-EDTA i.v. verabreichten Al-Dosen in einem vertretbaren Bereich. In 80% der Na-Ca-EDTA Proben lag die infundierte Menge an elementarem Aluminium unterhalb der 311µg, die nach oraler Einnahme der maximalen Tagesdosis gängiger Al(OH)₃-haltiger Antazida mit einer intestinalen Absorptionsrate von 0.03% in den Blutkreislauf gelangen und die höchste Na-Ca-EDTA-assoziierte Al Menge von 775 µg entspräche 2.4 zulässigen Antazida-Tagesdosen.^{25,31,32} Absorbiertes Aluminium wird grösstenteils inert Stunden bis Tagen renal eliminiert und seine Exkretion durch die Chelat-Bindung an Na-Ca-EDTA zusätzlich beschleunigt.^{5,6} Schwere adverse Effekte wie Dialyse-Encephalopathie, Osteodystrophie und Anämie werden erst durch mehrmonatige- bis jährige i.v. Al-Exposition mit erheblicher Akkumulation und kontinuierlich erhöhten Al-Serumwerten von >100 µg/L (normal < 10 µg/L, Dialysepatienten: < 60µg/L) hervorgerufen.⁶ Dies würde einer mehrmonatigen Exposition von täglich > 10 CEMETs mit der maximal bestimmten Na-Ca-EDTA Al-Dosis von 775 µg entsprechen.⁶

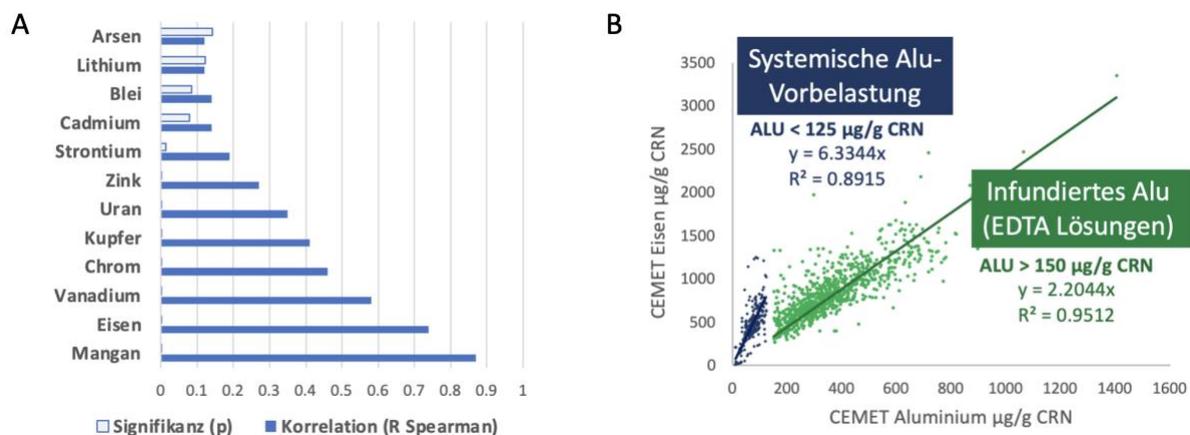


Abbildung 8: Aluminiumeinfluss auf andere CEMET Metalle (B). n = 1181 CEMETs, uCRN 0.3–3 g/L. (A) Alle 12 der 33 analysierten CEMET Metalle, die Spearman Korrelationen $r > 0.1$ mit Al aufweisen. (B) Konzentrations- und Expositions-differenzierter Einfluss von Al auf Eisen. Tiefere, wahrscheinlich systemische Al-Vorbelastungen repräsentierende Aluminiumwerte (blau) zeigen proportional stärkeren Einfluss auf Eisen mit steilerem Kurvenverlauf als überwiegend infundiertes Al (grün in A).

Dagegen zeigten sich subklinische Laborveränderungen wie moderate Reduktionen von Hämoglobin, Hämatokrit und Ferritin bei Niereninsuffizienten bereits nach dreimonatiger Anwendung höherer Antazida Dosen von täglich 960 mg Al(OH)₃, äquivalent zu 100 µg/d intestinal absorbiertem elementarem Al.^{29,32} Die hier über drei Monate oral verabreichte Kumulativdosis entspricht der i.v. Al-Menge von 71 CEMETs mit durchschnittlichem, 12 CEMETs mit dem höchsten und 298 CEMETs mit dem tiefsten beobachteten Al-Gehalt in Na-Ca-EDTA. Die im CEMET iatrogen hervorgerufene Al-Kurzzeitbelastungen sind somit auch für den subklinischen Bereich aus toxikologischer Sicht vernachlässigbar und werden zudem durch die entgiftenden Wirkungen der Chelate auf problematischere Metalle wie vor allem Quecksilber und Blei kompensiert.^{3,4,5}

3.4. Random-Fehler und Einflussfaktoren auf urinäres Kreatinin (uCRN)

Zur Anpassung der SpU und CEMET Ergebnisse an die Diurese (Urinflussrate, UFR) wird meist die Konzentration des Metalls im Urin in µg/L durch die uCRN in g/L dividiert. Von dem so erhaltenen korrigierten Wert in µg_{Metal}/g_{uCRN} wird angenommen, dass der Diurese Einfluss ausgeglichen ist. Das heisst, die uCRN-korrigierten Werte sollten dann bei einer gegebenen Exposition idealerweise intra- und interindividuell über einen weiten Diurese Bereich konstant und damit vergleichbar sein. Diese Annahme ist jedoch in mehrfacher Hinsicht unzutreffend. Eine Hauptschwierigkeit ergibt sich aus dem Umstand, dass die täglich produzierte und ausgeschiedene Menge an CRN einer starken intra- und mehr noch interindividuellen Variabilität unterliegt (Tab.3). Diese wirkt sich im Gegensatz zum systemischen Verdünnungsfehler (Punkt 3.5) über den gesamten Diurese Bereich gleichsinnig auf das Ergebnis aus (Abb.9).³³⁻³⁶

Da jeder Mensch eine eigene Kombination aus konstanten und variablen uCRN-beeinflussenden Faktoren aufweist (Tab.3), kann die daraus resultierende der Expositionseinschätzung auch durch moderne multilineare Modelle niemals vollständig kompensiert werden.³⁷ Allerdings sind die intraindividuellen Schwankungen der CRN Produktion in der Regel moderat und die Vielzahl der Einfluss-faktoren mindert allgemein die Gefahr von extremeren Fluktuationen.

CRN-Ausscheidung reduziert

- Muskelmasse ↓, BMI ↑
- Bewegungsmangel → Kreatin (CR) – CRN-Umwandlung ↓
- Höheres Alter (uCRN-Peak bei 19 -25 LJ, Sarkopenie, Malnutrition, Niereninsuffizienz, Diuretika)
- Weiblich (CRN-Produktion 20 % ↓ Urin/kg KG 25% ↑ → uCRN 36% ↓)
- Chronisch-degenerative Muskeldystrophien (uCRN ↓ ist guter Prädiktor; meist auch uCR ↑ ↑)
- Eiweiss-/Cholin-/Folat-/B12-Nährstoffmangel
- Niereninsuffizienz (Multifaktoriell: Synthese ↓, Diät, Dialyse, Poly-/Oligurie, GFR ↓, Diuretika)
- Diabetes mellitus (GFR ↓), Diabetes Insipidus (oft sCRN ↑)
- Nachts: CRN-Produktion/-Exkretionsrate ↓
aber: UFR ↓ ↓ → uCRN Morgenurin ↑

CRN-Ausscheidung erhöht

- Erhöhte Muskelmasse ↑, guter Trainingszustand
- Training vor Analyse (insb. anaerob)
- Jüngerer Alter
- Männlich
- Muskeltraumata / Rhabdomyolyse / Krämpfe
- Hoher Konsum von Eiweiss, Fleisch, Fisch oder Kreatin NEPs
- Schwangerschaft (CRN-Clearance 50% ↑ im 2. Trimester mit uCRN ↑, im 3. Trimester Reduktion der CRN-Clearance mit physiologischer uCRN ↓ und Serum-CRN ↑ bis zum Termin)
- Medikamente (Statine, einige Antibiotika und Antazida)
- Tagsüber: CRN-Produktion/-Exkretionsrate ↑
aber UFR ↑ ↑ → uCRN Tagesurin ↓

Tabelle 3: Synopsis der senkenden und steigernden Einflussfaktoren auf die CRN Produktion.

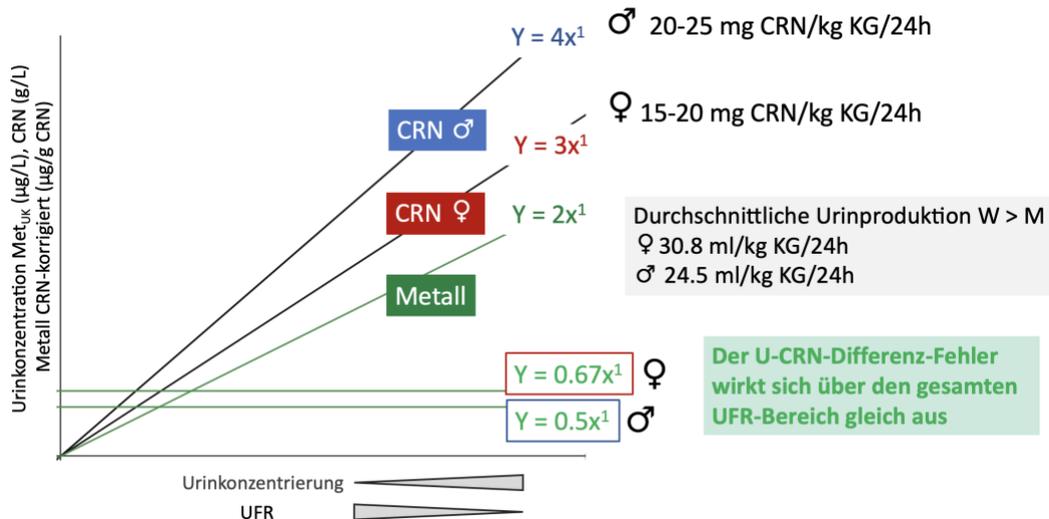
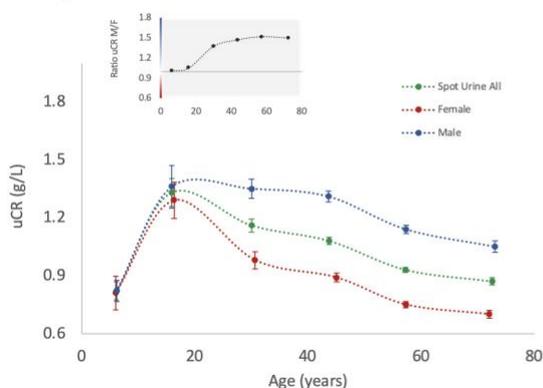


Abbildung 9: Einfluss unterschiedlicher CRN-Produktion auf die korrigierten Urinwerte eines Metalls Y . Hier gezeigt am Beispiel der Geschlechterdifferenz unter der vereinfachenden Annahme linearer Verhältnisse zwischen UFR und uCRN bzw. uMetall. Die kleinere CRN-Produktion führt bei Frauen über den gesamten Diurese Bereich zu deutlich niedrigerem uCRN und damit höheren korrigierten Werten. Die höhere weibliche Urinproduktion verringert zusätzlich uCRN, wirkt sich aber nicht auf die korrigierten Analyt Werte aus, da Analyt und CRN proportional gleich verdünnt werden.

In Extremfällen können aber auch mehrere gleichsinnige Einflussfaktoren ihren irreführenden Effekt auf das Ergebnis potenzieren. Die Kenntnis dieser Faktoren ist daher vor allem zur Beurteilung von ungewöhnlichen oder nicht plausiblen Urinergebnissen hilfreich. Geschlecht, Lebensalter und BMI gelten als die praxisrelevantesten Faktoren und werden in fortschrittlicheren Korrekturmodellen für wissenschaftliche Untersuchungen bereits berücksichtigt.^{37,38}

Interessanterweise unterscheiden sich die Geschlechts- und Altersabhängigkeiten von uCRN zwischen SpU und CEMET (Abb.10). Der für SpU beobachtete kontinuierliche altersabhängige Abfall von uCRN beider Geschlechter ist im CEMET aufgrund flüssigkeitsregulierender hormoneller Einflüsse abgeschwächt.³⁹ Zudem ist der im SpU geschlechterparallele uCRN-Altersverlauf im CEMET für Frauen und Männer vom 18. bis zum 60. Lebensjahr sogar gegenläufig. Die diuretische Reaktion auf den i.v. Flüssigkeitsstress der Chelatinfusionen scheint bei Männern vor allem im mittleren Alter aufgrund ihrer generell höheren renalen Vasopressin-Aktivität weniger stark ausgeprägt als bei Frauen, d.h. die CEMETs von Männern zeigen gegenüber SpU geringere uCRN Verminderungen.³⁹

A. Spontanurin



B. CEMET Urin

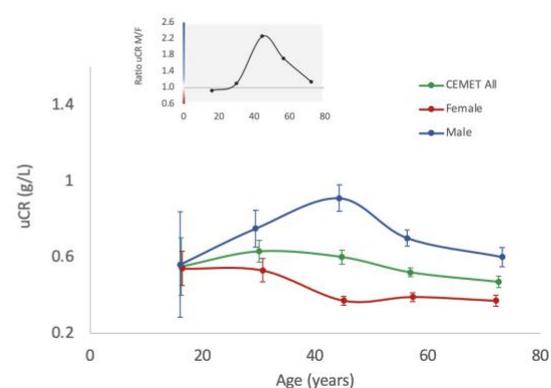


Abbildung 10: Unterschiedlicher Geschlechts- und Alterseinfluss auf uCRN-Konzentrationen von Spontanurin (A, n = 5599) und CEMET Urin (B, n = 1649).³⁹

3.5. Systemischer Verdünnungs-Korrekturfehler und seine Behebung

Während sich die nicht vollständig kontrollierbare Variabilität der in Tab.3 gezeigten Faktoren meist nur in begrenztem Mass auf die korrigierten Metallwerte auswirkt, führt eine davon zu unterscheidende mathematisch-physiologische Fehlannahme zu wesentlich ausgeprägteren Schwankungen der uCRN-korrigierten Werte. Diese sind im Gegensatz zu den Randomfehlern aus Tab.3 stark von der Diurese abhängig.^{18,39,40} Die klassische uCRN-Korrektur der einfachen Ratio-Bildung $u\text{Analyt}/u\text{CRN}$ geht fälschlicherweise von konstanten Massenverhältnissen zwischen Analyt und Korrektor (CRN, Osmolalität oder spezifische Uringewicht) über einen weiten Diurese-Bereich aus (Abb.11).⁴¹ Faktisch unterscheiden sich jedoch die Diurese-Abhängigkeiten der Ausscheidungen von Analyt und uCRN und die Nichtberücksichtigung dieser Asymmetrie führt zu teils erheblichen Verzerrungen der korrigierten Werte vor allem in den Extrembereichen des Verdünnungsspektrums (Abb.12b).³⁹⁻⁴¹ Diese systemische physiologisch-mathematische Fehlkonzeption wird bis heute üblicherweise symptomatisch durch Beschränkung des Urinkonzentrationsbereichs auf 0.4–2.7 g/L (früher 0.3–3 g/L) uCRN abgemildert. Dies wiederum invalidiert in den hier untersuchten Kollektiven 23% (♀ 25.7%, ♂ 20.8%) der SpU Proben und 44.2% (♀ 55.2%, ♂ 25.6%) der aufgrund der Chelatinfusionen höher verdünnten CEMETs, welche ausserhalb des akzeptierten uCRN-Bereichs liegen. Abgesehen von dem hohen Probenausschuss zeigen sich auch noch innerhalb des akzeptierten Verdünnungsspektrums potenziell irreführende Schwankungen der uCRN-korrigierten Resultate (Abb.12b). Die Notwendigkeit und Möglichkeit verbesserter Diurese-Korrekturen wurde eindrücklich in einer 2019 publizierten Studie illustriert, die in SpU für Arsen sogar eine niedrigere Korrelation zwischen uCRN-korrigiertem As im Vergleich zu unkorrigiertem As mit der As-Trinkwasserbelastung feststellte.⁴⁰ Die besten Korrelationen mit der Trinkwasserexposition erzielten die Autoren dagegen mit einer einfachen potenzfunktionellen Modifikation der klassischen uCRN-Korrektur.^{40,41} Mit Hilfe numerischer Analyse anhand grösserer Probenzahlen lassen sich reale physiologische Beziehungen zwischen Analyt und CRN adäquat erfassen und mathematisch kompensieren.^{18,39,40} Wie am Beispiel von Arsen gezeigt, können mit einer Normierung der Urinmetallkonzentrationen auf 1g/L uCRN durch variable potenzfunktionelle CRN-Korrektur (V-PFCRC) stabile uCRN-korrigierte Werte über einen weiten Diurese Bereich erzielt werden (Abb.12c).¹⁸

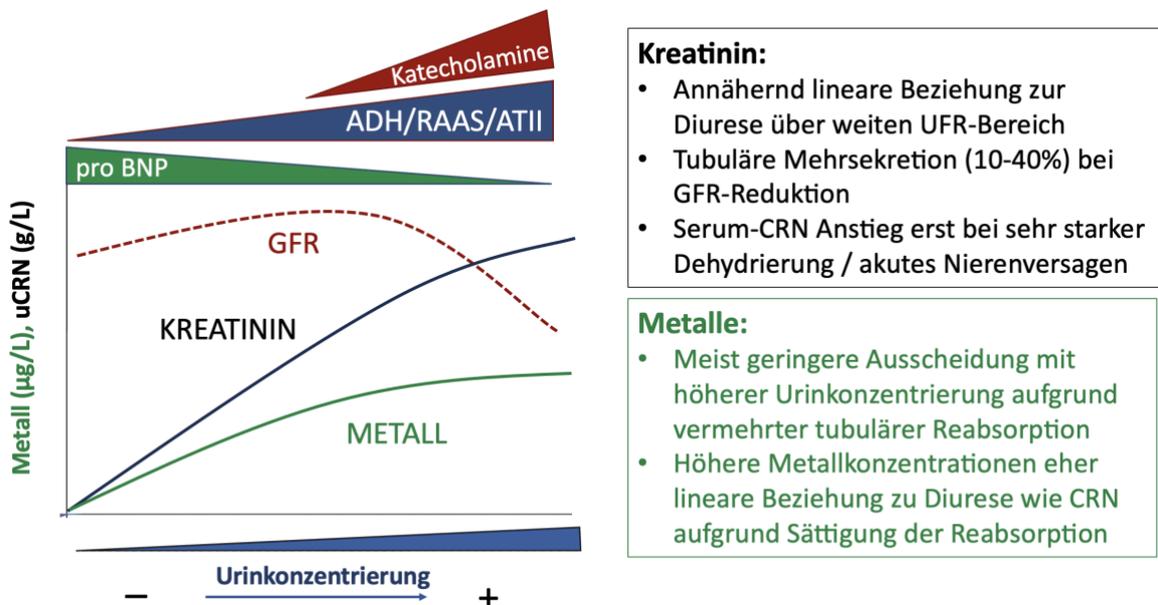


Abbildung 11: Unterschiedliche Diurese-Abhängigkeit von uCRN und Metall Ausscheidung als Ursache des systemischen Verdünnungskorrekturfehlers. Mit zunehmender Austrocknung kommt es unter Katecholamin Einfluss zur Reduktion der GFR. Während die CRN-Ausscheidung durch tubuläre CRN-Mehrsekretion lange annähernd konstant bleibt, führt verlangsamter Urinfluss im Tubulus meist zu einer vermehrten Reabsorption von Metallen. Das Resultat sind erniedrigte uCRN-korrigierte Werte bei Austrocknung und erhöhte Werte bei stärkerer Diurese (Abb.12b).

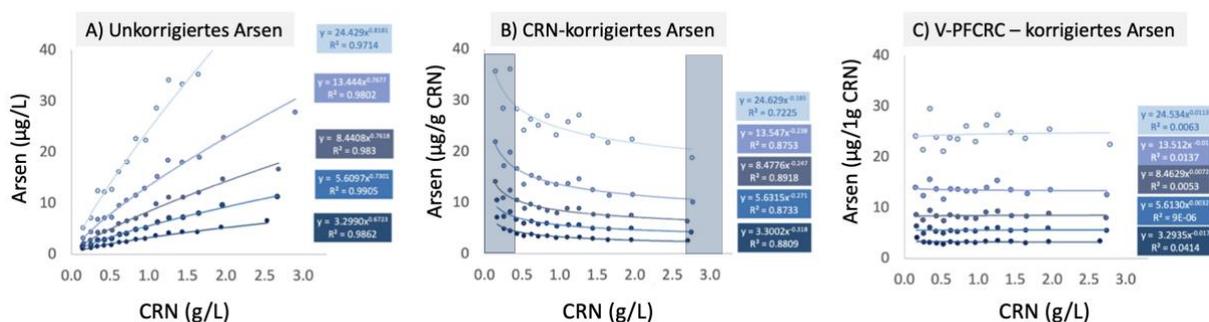


Abbildung 12: Abhängigkeiten von unkorrigiertem, klassisch uCRN-korrigiertem und V-PFCRC-korrigiertem Arsen in SpU. Gezeigt sind Kurven einer nach Sextilen differenzierten Analyse von $n = 5400$ getrimmten As-SpU Proben.¹⁸ Die grösste Variabilität besteht in unkorrigiertem Arsen (A). Beispielsweise hätte hier ein gut hydrierter Patient mit 0.5g/L CRN nach einer As-Exposition in Höhe der Mitte des 4. Sextils einen As-Wert von 8 µg/L. Hätte der gleiche Patient deutlich weniger getrunken ergäben sich bei 2.5 g/L uCRN 28 µg/L As, d.h. 3.5-mal höher als im hydrierten Zustand. Die klassische uCRN-Korrektur erreicht zwar eine quantitative Verbesserung dieser Schwankungen, allerdings resultiert eine erneute Asymmetrie der Werte mit jetzt umgekehrten Vorzeichen (B). Der gleiche Patient hätte jetzt bei 0.5 g/L uCRN einen As-Wert von 18 µg/g CRN gegenüber 10 µg/g CRN im dehydrierten Zustand bei 2.5 g/L uCRN. Zudem müsste der gültige uCRN-Bereich aufgrund noch extremerer Schwankungen an den Rändern eingeschränkt werden entsprechend den blau schattierten Flächen in B. Der variabel potenzfunktionelle Korrekturansatz (C) normiert die Werte des gesamten uCRN-Bereiches auf den für 1 g/L uCRN (in B) zu erwartenden Wert und führt damit auf allen Expositionsniveaus zu annähernd gleichen Werten, in diesem Beispiel zu 14 µg/1g CRN.¹⁸

Vergleichende Berechnungen für Arsen ergaben allerdings für CEMETs geringere Fehler der konventionellen CRN-Korrektur als für SpU, was eine Modifikation der mathematischen Kompensationen erforderlich macht. Dies erklärt sich einerseits durch die höheren Verdünnungen von CEMET Urin aufgrund der verabreichten i.v. Flüssigkeiten. Diese bedingen, dass der hohe Urin- Konzentrierungsbereich mit Abflachung der Metallkurve (Abb.11) im CEMET seltener erreicht wird als im SpU, was wiederum zu einer Annäherung an ideale lineare Verhältnisse führt und damit im CEMET die Fehler der konventionellen uCRN-Korrektur reduziert. Dieser Effekt wird durch die deutlich gesteigerte Metallexkretion weiter verstärkt. Eine Sättigung der tubulären Metallrückresorption kann im CEMET das Metall-CRN-Verhältnis erhöhen und damit die asymmetrische tubuläre Diurese-Anpassung von CRN und Metallen angleichen (Abb.11).^{6,18} Auch Jod und anderen Metalle wie Cäsium, Molybdän, Zink und Strontium lassen sich durch analoge Berechnungen auf numerischer Basis adäquat ausgleichen. Für Jod konnte mit V-PFCRC auch eine im Vergleich zur CRN-Korrektur verbesserte Korrelation zwischen SpU und Blutwerten erzielt werden (bisher unveröffentlichte Daten). Die modifizierten Korrekturen sind perspektivisch einfach in die Laborroutine integrierbar und erfordern keine aufwändigen präanalytischen klinischen Datenerhebungen. Sowohl der Anteil valider Proben sowie die Genauigkeit der SpU- und CEMET Ergebnisse können so ohne Mehraufwand optimiert werden.^{18,39,40}

4. Interkorrelationen und Assoziationen von CEMET-Metallen mit Umweltbelastungen

Toxische Metalle gelangen in den menschlichen Organismus über Nahrung, Trinkwasser, die Haut und über die Einatmung von meist an Staubpartikel gebunden Metallpartikeln und - quantitativ weniger - von Metall aerosolen.^{1,6} Interkorrelationen von CEMET Metallen können einerseits Hinweise auf gemeinsame Quellen sein, andererseits aber auch durch vielfältige wechselseitige testmethodische Einflüsse wie u.a. die erwähnten Konfundierungen durch Alters-, Verdünnungs-, oder Aluminiumeinflüsse verursacht werden (Siehe Punkt 3). Auch Korrelationen von CEMET Metallen mit offiziell dokumentierten Umweltfaktoren wie Stickoxid (NO₂), Schwefeldioxid (SO₂), elementaren Kohlenstoff (EC, Russ) oder Feinstaub (PM2.5, PM10, PM2.5-10) erlauben Rückschlüsse auf relevante Belastungen.⁴² Allerdings muss hier

die oft unbekannte Latenzzeit zwischen Expositionszeitpunkt und der Absorption in die im CEMET erfassten Körperkompartimente berücksichtigt werden.⁴³

Nach Inhalation von Stäuben werden diese in Abhängigkeit von ihrer Löslichkeit und Grösse entweder in den tieferen, Zilien-freien Lungenbereichen (Bronchiolen, Alveolen) deponiert oder im Falle grösserer Partikel $> 2.5 \mu\text{m DM}$ überwiegend im oberen Atemtrakt.⁴³ Gesundheitlich bedenklicher Ultrafeinstaub $< 0.1 \mu\text{m DM}$ macht nur einen geringen Gewichtsanteil der inhalierten Stäube aus, durchdringt aber relativ schnell die Alveolarwand und ist mit gesundheitlichen Auswirkungen wie Krankenhauseinweisungen aufgrund von Atemwegs- und Herz-Kreislauf-Erkrankungen assoziiert.⁴⁴ Feinstaubpartikel $0.1 - 2.5 \mu\text{m DM}$ penetrieren dagegen in einem Tage bis Monate andauernden Prozess die Bronchiolen- oder Alveolarwand, werden von Makrophagen aufgenommen und gelangen erst verzögert in die bronchialen Lymphknoten, das RES, den Kreislauf und die chelierbaren Weichgewebe.⁴³ Die Absorption der grösseren Stäube ($2.5-10 \mu\text{m DM}$, $\text{PM}_{2.5-10}$) weist dagegen eine kürzere Latenzzeit von Tagen bis Wochen auf.⁴³ Diese werden grossteils über mukoziliare Transportmechanismen vom oberen Atemtrakt in den Nasen-Rachenraum befördert, um dann verschluckt und partiell intestinal resorbiert zu werden. Die Klärung von pulmonalen Staubpartikeln kann durch Luftschadstoffe wie NO_2 und SO_2 zusätzlich stark verlangsamt werden.⁴³ Die nicht berücksichtigte, häufig unbekannte Latenzzeit und die mangelhafte Sensitivität von SpU für die meisten Metalle erklärt u.a. die bisherigen umweltanalytischen Schwierigkeiten bei der Etablierung von Kausalzusammenhängen zwischen ambienten Metallbelastungen und Urinmessungen.

Wie anhand der folgenden Beispiele gezeigt wird, ermöglicht die hohe Sensitivität des CEMET auf Gruppenbasis den Nachweis von ambienten Metall-Mehrbelastungen. Zudem ergeben sich im CEMET wertvolle toxokinische Hinweise auf die Latenzzeiten zwischen Exposition und Absorption (Abb.14,15,18).

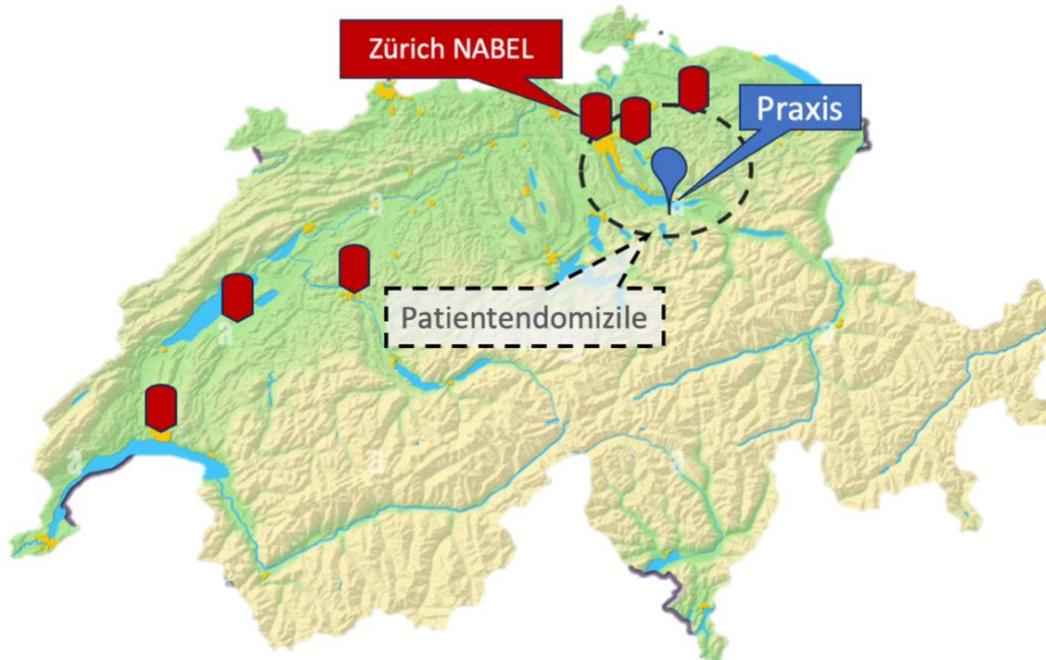


Abbildung 13: Offizielle Messungen von Luftverschmutzung im Schweizer Mittelland durch das Bundesamt für Umwelt an sechs Messstationen.⁴² Die Tagesmittelwerte der einzelnen Luftqualitätsparameter korrelieren eng zwischen den einzelnen Messstationen, d.h. klimatische Schwankungen wie längere Trockenheits- oder Feinstaubphasen wirken sich überregional qualitativ weitgehend gleichförmig aus, wenn auch mit quantitativen regionalen Unterschieden (Siehe Abb.17).

4.1. Barium, Nickel, Cadmium, Thallium und Wolfram aus fossilen Brennstoffen

Zur Aufklärung der Absorptionslatenzen der CEMET Metalle in der Schweizer Luft wurden n = 205 Erst-CEMET Ergebnisse mit den öffentlich zugänglichen Luftverschmutzungsdaten der Messstation NABEL Zürich korreliert.⁴² Diese Station wurde ausgewählt aufgrund ihrer räumlichen Nähe zu Praxis und Patientenwohnorten sowie aufgrund der Verfügbarkeit umfassender Datensätze für die Schwermetall-relevanten Parameter Feinstaub (PM2.5/PM10/PM2.5-10), elementarer Kohlenstoff (EC, Russ), CO, NO₂ und SO₂ (Abb.13).

Hochsignifikante mittlere Korrelationen bestehen zwischen den CEMET Werten von Barium (Ba) und Nickel (Ni) ($r = 0.36$, $p < 0.001$) und zwischen Ni und Cd ($r = 0.3$, $p < 0.001$). Darüber hinaus wurden ähnliche Latenzzeiten der SO₂- und EC-Korrelationen von Ba, Ni, Cd, Thallium (Tl) und Wolfram (W) gefunden (Abb.14). Dies spricht deutlich für fossile Brennstoffemissionen (Diesel, Kohle, Energieerzeugung) als eine gemeinsame Hauptquelle von EC, SO₂ und den genannten Metallen.

Elementarer Kohlenstoff zeigt zudem für Ba, Cd, Ni und Tl ein biphasisches Korrelationsmuster mit einer frühen Phase 1–4 Wochen und einer späteren Phase 8–11 Wochen nach Exposition. Dies legt eine zeitlich versetzte Absorption mindestens zweier distinkter Partikelkategorien unterschiedlicher Grösse und/oder Löslichkeit nahe. Es dürfte sich dabei wahrscheinlich einerseits um kleine Stäube ($< 2.5 \mu\text{m DM}$) mit langsamer Absorption überwiegend aus dem Zilien-freien tieferen Lungenbereich und andererseits grössere Partikel ($2.5-10 \mu\text{m DM}$), die nach ihrem mukoziliaren Transport innert weniger Tage in den Mund befördert und geschluckt wurden handeln (Punkt 4.2, Abb.15).^{43,44} Relevante Assoziationen zwischen den CEMET-Metallen und SO₂ fanden sich im Gegensatz zu EC nur zu Beginn der frühen Phase, d.h. für den Expositionszeitraum der ersten zwei Wochen vor der Testung.

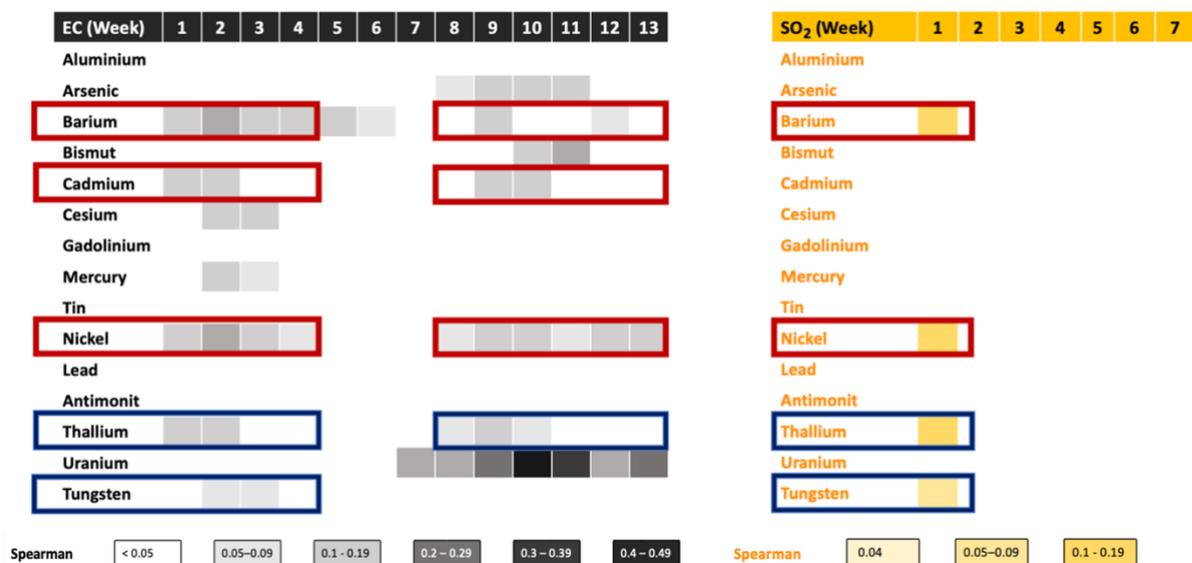


Abbildung 14: Latenzzeiten der Korrelation von CEMET Metallen von n = 205 Patienten aus dem Schweizer Mittelland / Zürichsee mit offiziellen Luftbelastungsdaten der Messstelle Zürich NABEL für EC und SO₂. 2-Wochen Durchschnitts EC- und SO₂ Werte in Wochenschritten zeitversetzt.⁴² Analysiert wurden ausschliesslich Erst-CEMETs ohne vorherige Chelatbehandlung mit CRN 0.2-2.7 g/L und Aluminium $< 150 \mu\text{g/L}$. Extremwerte wurden ausgeschlossen und Messungen unterhalb der NWG mit 80% der NWG substituiert. Die abgestuften Schattierungen zeigen den Grad der Korrelation (r , Spearman), d.h. den Einfluss des in dem jeweiligen Zeitabschnitt vor dem CEMET eingeatmeten Metalls auf das Ergebnis.

4.2. Metalle aus nicht Verbrennungs-assoziierten Verkehrsemissionen (NVAVE)

NVAVE Metallen.⁴² NO₂-Anstiege führen schon schnell, d.h. mit einer Latenz von 1-21 Tagen zu signifikanten Steigerungen von Eisen, Kupfer und Zink im CEMET (Abb.15). Auch ein die CEMET Ausscheidung dieser Metalle verstärkender methodischer Effekt durch gleichzeitig inhaliertes Aluminium (Abb.8a/b, Punkt 3.3) als einer weiteren bedeutenden Staubkomponente - ist sehr wahrscheinlich.⁴⁷ Allerdings erreichten die in dem gleichen Zeitraum bestehenden NO₂ - und Feinstaub-Korrelationen von Aluminium und den testmethodisch stark Al-beeinflussten Metallen Mangan und Vanadium (Abb.8a) nicht das Signifikanzniveau von $p < 0.05$ (Abb.18).

4.3. Die Uranepisode im Frühjahr 2017

Weitgehend stabiles Uran 238 ist essenzieller Bestandteil der Erdkruste wobei in den vielen Ländern in den letzten Dekaden eine ausgeprägte Bodenreicherung aufgrund intensiver langjähriger Phosphatdüngung berichtet wurde. Uran ist auch ein häufiger Bestandteil von Flugasche, d.h. es gelangt bei Kohlenverbrennung in die Atmosphäre. Von Februar 2017 an fand sich bei allen in unserer Praxis mit CEMET untersuchten Patienten Uran oberhalb der NWG, während dies vorher nur in Ausnahmen der Fall war (Abb.16).⁵⁰ Ähnliche CEMET Ergebnisse fand Dr. Thomas Fischer in Düsseldorf und die Daten des Deutschen Wetterdienstes (DWD) belegten für Januar und Februar 2017 einen signifikanten Anstieg von Uran im Niederschlag in der westlichsten (Offenbach) der 4 deutschen Messstationen für Uran.⁵¹ Es musste also von einem weiterverbreiteten, von Trinkwasser als üblicher Hauptquelle unabhängigen Phänomen ausgegangen werden. Dem U238 Anstieg vorausgegangen war eine mehrmonatige Trockenheitsperiode (Hoch Yörn) und ein exzeptionell kalter Januar mit höherer Heiz- und Carbon-abhängiger Energieproduktion.⁵² Eine Synopsis der relevanten Kausalfaktoren ist in Abb.17 gezeigt.

Im gleichen Zeitraum zwischen Februar und Juni 2017 fand sich eine signifikante ($p < 0.005$) Erhöhung der CEMET Arsenwerte und die Analyse der Latenzzeiten ergab zudem eine gute Übereinstimmung der Korrelationsmuster zwischen Uran, Arsen und Bismut (Abb.18). Größere Stäube (PM2.5-10) zeigen auch ein ähnliches Latenzmuster für Aluminium, was auf die möglichen gemeinsamen Quellen Flugasche aus Kohlenverbrennung und für Uran-, Arsen- und Aluminiumhaltige Bodenstäube hindeutet.

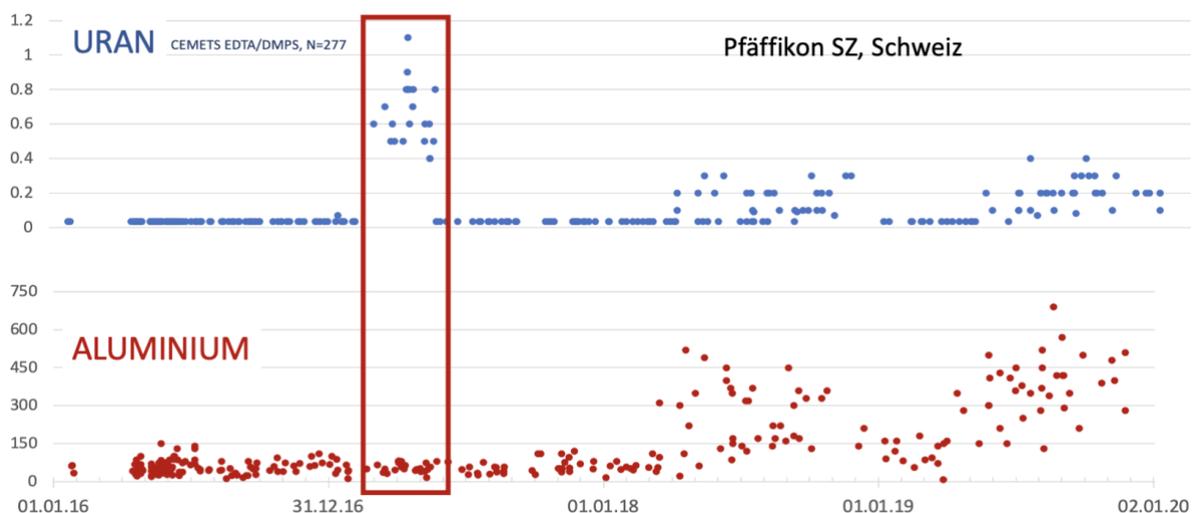


Abbildung 16: Periodische Anstiege von Uran und Aluminium in Schweizer CEMET Proben 2016-2019. Der Anstieg im Frühjahr 2017 ist quantitativ am deutlichsten ausgeprägt. Auch findet sich im Vergleich zu den späteren beiden Episoden 2018 und 2019 im Frühjahr 2017 kein begleitender Anstieg von Aluminium, was eine Konfundierung der Werte durch Na-Ca-EDTA Aluminium (Siehe Punkt 3.3.) ausschliesst und für eine reale ambiente Mehrexposition spricht.

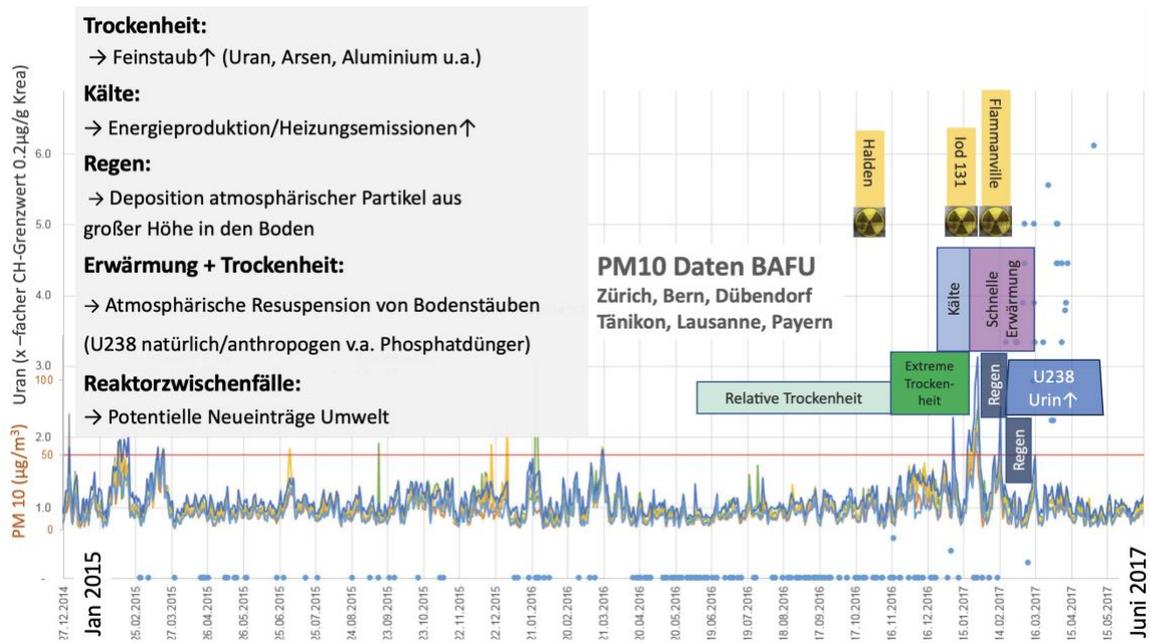


Abbildung 17: Synopsis möglicher Kausalfaktoren für den weiträumigen CEMET-Urananstieg Feb 2017. Offizielle PM10 Tagesmittelwertkurven aus 6 BAFU-Messstationen im Schweizer Mittelland (Abb.13), meteorologische Besonderheiten, zivile nukleare Zwischenfälle in Europa und Schweizer CEMET Ergebnisse von 6/2016 - 6/2017.



Abbildung 18: Latenzzeiten der Korrelationen von Erst-CEMET mit EC, NO₂, PM_{2.5} und PM_{2.5-10} (n = 205). Gezeigt sind ausschliesslich signifikante Korrelationen nach Spearman (p < 0.05). Eine weitgehende Übereinstimmung der Latenzmuster mit EC, NO₂ bzw. PM_{2.5} besteht zwischen Uran, Arsen und Bismut, für PM_{2.5-10} zusätzlich auch zwischen Aluminium und Uran, was auf Flugasche aus Kohlenverbrennung als gemeinsame Quelle hindeutet. Auch gröbere Uran-, Arsen- und Aluminiumhaltige Bodenstäube kommen als Verbrennungs-unabhängige weitere Quelle in Frage, wobei auch ambientes Aluminium über die Verdrängung von Uran aus Transferrin die CEMET Werte steigern kann (Abb.8a).

Interessanterweise besteht für die signifikantesten Korrelationen zwischen Uran und den assoziierten Metallen einerseits und den Luftqualitätsparametern andererseits eine relativ

lange Latenz von 2–5 Monaten. Möglicherweise läuft die pulmonale Absorption von Silikat (SiO_2) – und Aluminium (Al_2O_3) – reichen Flugasche – und Bodestaubpartikeln nur sehr verzögert ab. Der Abtransport von Silikat-Partikeln aus der Lunge durch Lymphdrainage und Phagozytose mit anschließender Migration durch die Bronchialwand kann bekanntermassen langwierig sein und Quarz-Stäube lassen sich bis Jahre nach der Einatmung in der Lunge nachweisen.⁵³

4.4. Arsen und Quecksilber - gemeinsame maritime Quellen

In einer Korrelationsanalyse von 143 CEMET Proben (Werte innerhalb der 95%-Konfidenzintervalle von As und Hg, CRN 0.2 - 2.8 g/L und Aluminium < 75 µg/g CRN) fand sich eine hochsignifikante mittlere Korrelation ($p < 0.001$, Spearman $r = 0.36$) zwischen beiden Elementen. Auch die Analyse von 26 Vollblutanalysen bestätigte diese Assoziation ($p < 0.001$, $r = 0.81$), was methodische Fehler als Erklärung sehr unwahrscheinlich macht. Meeresfische und -früchte sind quantitativ die wichtigsten Expositionsquellen sowohl für Hg (problematisches Methyl-Hg) als auch As (wenig toxisches Arsenobetain) und die starke Assoziation der beiden Metalle ist mit der Konfundierung durch diese gemeinsame Quelle plausibilisiert.^{6,18} Auch in zahlreichen Einzelmessungen ist die parallele Erhöhung von As und Hg augenscheinlich und die Herkunft lässt sich in der Regel anamnestisch bestätigen, wie in Abb.19 anhand von präanalytischem Verzehr eines Thunfischsteaks verdeutlicht.

Antimon	0,40		< 0,3
Arsen	205		< 100
Barium	3,70		
Beryllium	< NWG		
Bismut	0,50		< 0,4
Blei	20,0		< 14
Cadmium	1,10		< 1,5
Cäsium	9,60		
Gadolinium	0,50		< 0,3
Gold	< NWG		
Nickel	6,50		< 12
Palladium	< NWG		< 0,0001
Platin	< NWG		< 0,0001
Quecksilber	56,0		< 8
Silber	< NWG		

Abbildung 19: CEMET einer 33-jährigen Patientin nach Genuss von 180 Gramm Thunfisch am Untersuchungsvorabend aufgrund eines Missverständnisses der Testinstruktion.

Wie anhand der Beispiele dieses Abschnittes gezeigt wurde, korrelieren CEMET Ergebnisse mit objektiv dokumentierten Umweltbelastungen durch Lebensmittel, Feinstaub und fossile Brennstoffemissionen. Dies belegt die Validität und das hohe umweltmedizinische und -wissenschaftliche Potential der Methode. Im Gegensatz zu konventionellen Untersuchungen im Spontanurin liefern CEMET Analysen in Kohortenstudien aufgrund der verbesserten Sensitivität wertvolle Hinweise über die Dauer des Absorptionsprozesses von Feinstaub-assoziierten inhalierten Metallen. Allerdings sind im klinischen Kontext für adäquate inter- und intraindividuelle Vergleiche von CEMET Ergebnissen einige methodische Aspekte zu beachten und die Suche nach dem kleinsten Fehler ist hier noch nicht zu Ende.

Kernpunkte:

- Der hier vorgestellte Chelat-evozierte Metallexkretionstest (CEMET) auf Basis von i.v. Glutathion, Na-Ca-EDTA und DMPS verbessert deutlich die Nachweisbarkeit der meisten Metalle im Vergleich zu SpU.
- CEMET Metalle repräsentieren vor allem freie oder niedermolekular gebundene Metalle in Blut und gut durchbluteten Geweben wie Nieren, Leber, anderen Weichteilen. Diese reaktivere, toxisch relevante Metallfraktion im Körper sollte als eigene toxikologische Kenngrösse verstanden und weiter erforscht werden.
- Kontrolle der wichtigsten Confounder wie Geschlecht, Alter, BMI, Nierenfunktion, iatrogene und ambiente Aluminiumbelastung und vor allem bessere Normierungen der Urinflussrate können die Validität von SpU und CEMET Ergebnissen verbessern.
- Gute Korrelationen von CEMET Ergebnissen mit Luftbelastungen belegen das Potential des CEMET als ein Instrument zur Quantifizierung von ambienten Metallbelastungen und zur Erforschung von Latenzzeiten zwischen Exposition und Absorption, die sich im Falle eingeatmeter Staub-gebundener Partikel Monate bis Jahre hinziehen kann.

ABKÜRZUNGEN:

Al(OH) ₃	Aluminiumhydroxid, Bestandteil vieler Antazida
BMI	Body-Mass-Index
CEMET	Chelat-evozierter Metall-Exkretionstest basierend auf Metall Urinwerten eine Stunde nach sequenzieller intravenöser Gabe von 600mg GSH, 1.9 g Na-Ca-EDTA und 500 mg DMPS
CRN	Kreatinin
DMPS	Dimercaptopropansulfonsäure
EC	Elementarer Kohlenstoff, Russ
Gd-KM	Gadolinium Kontrastmittel
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
GSH	Glutathion
ICP-MS	Induktiv gekoppelte Plasma-Massenspektrometrie
Na-Ca-EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure Calcium-Dinatriumsalz
Met-Hg	Methylquecksilber
NO ₂	Stickstoffdioxid
NVAVE	Nicht Verbrennungs-assoziierte Verkehrsemissionen
NWG	Nachweisgrenze
SO ₂	Schwefeldioxid
SpU	Spontanurin
TBB	Total Body Burden, Gesamtkörperbelastung
uCRN	Urin Kreatinin
uMetall	Urin Metall
VAVE	Verbrennungs-assoziierte Verkehrsemissionen
V-PFCRN	Variable potenzfunktionelle Kreatinin Korrektur
Zn-DTPA	Zink-Trinatrium-pentetat

LITERATUR

- 1) Santonen T, Schoeters G, Nordberg M. Chapter 9 - Biological monitoring of metals and biomarkers. Editor(s): Nordberg GF, Costa M. Handbook on the Toxicology of Metals (Fifth Edition), Vol 1, Academic Press, 2022: 217-35. ISBN 9780128232927, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823292-7.00007-3>.
- 2) Sommar JN, Hedmer M, Lundh T, Nilsson L, Skerfving S, Bergdahl IA. Investigation of lead concentrations in whole blood, plasma and urine as biomarkers for biological monitoring of lead exposure. *J Expo Sci Environ Epidemiol.* 2014 Jan-Feb;24(1):51-7. doi: 10.1038/jes.2013.4. Epub 2013 Feb 27. PMID: 23443239.
- 3) Kalicanin B, Rašić MT. The Significance of Chelation Therapy in Heavy Metal Intoxication. *J Heavy Met Toxicity Dis.* 2019 Vol.4 No.2:5. doi: 10.21767/2473-6457.10029.
- 4) Crisponi G, Nurchi VM, Crespo-Alonso M, Toso L. Chelating agents for metal intoxication. *Curr Med Chem.* 2012;19(17):2794-815. doi: 10.2174/092986712800609742. PMID: 22455585.
- 5) Jan Aaseth, Guido Crisponi, Ole Anderson: Chelation Therapy in the Treatment of Metal Intoxication (1st Edition), 2016 April 15 Hardback: ISBN: 9780128030721, eBook ISBN: 9780128030738.
- 6) Gunnar F. Nordberg, Max Costa. Handbook on the Toxicology of Metals (Fifth Edition), Vol 2, Academic Press, 2022. ISBN 9780128229460, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822946-0.00037-4>.
- 7) Vacchi-Suzzi C, Kruse D, Harrington J, Levine K, Meliker JR. Is Urinary Cadmium a Biomarker of Long-term Exposure in Humans? A Review. *Curr Environ Health Rep.* 2016 Dec;3(4):450-458. doi: 10.1007/s40572-016-0107-y.
- 8) Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR), 2019 Substance Priority List, <https://www.atsdr.cdc.gov/spl/index.html#2019spl>.
- 9) Ruprecht J. Dimaval (DMPS) - Wissenschaftliche Produktmonographie (7. Auflage), HEYL GmbH & Co. KG, 2008. <http://www.toxcenter.org/artikel/DMPS-Monographie.pdf>
- 10) Blaurock-Busch E. Die Gadolinium-Kontroverse – Eine sachliche Betrachtung. *Die Naturheilkunde.* 2018;5:48-50. https://microtrace.de/fileadmin/uploads/pdf/de/NHK_Die_Gadolinium_Kontroverse_Blaurock-Busch_2018-09-10.pdf
- 11) Carmine TC. Gadoliniumtoxizität und Chelattherapie. Vortrags Skript Medizinische Woche Baden-Baden 11/2019. <https://dr-carmine.ch/wp-content/uploads/Gadolinium-Vortrag-Final.pdf>
- 12) Aime S, Caravan P. Biodistribution of gadolinium-based contrast agents, including gadolinium deposition. *J Magn Reson Imaging.* 2009 Dec;30(6):1259-67. doi:10.1002/jmri.21969. PMID: 19938038; PMCID: PMC2822463.
- 13) Team of Patient Advocates. Gadolinium Toxicity A Group Self-Study of Retained Gadolinium from Contrast MRIs. <https://gadoliniumtoxicity.com> <https://www.gdtoxicity.files.wordpress.com/2014/09/gd-retention-study.pdf>
- 14) Grimm H, Williams S. Gadolinium Clearance Times for 135 Contrast MRI Cases Including Urine Test Results by Agent Administered for 63 Unconfounded Cases. The Lighthouse Project. 2018. <https://gdtoxicity.files.wordpress.com/2018/12/gadolinium-clearance-times-for-135-contrast-mri-cases-final-v1-1.pdf>
- 15) Blaurock-Busch E, Strey R. Chronische Metallbelastungen - Toxikologie, Diagnose und Therapie. Books on Demand, 2017. S.155. ISBN 978-3-7448-8236-1.

- 16) Canteros A, Díaz-Corte C, Fernández-Martín JL, Gago E, Fernández-Merayo C, Cannata J. Ultrafiltrable aluminium after very low doses of desferrioxamine. *Nephrol Dial Transplant*. 1998 Jun;13(6):1538-42. doi: 10.1093/ndt/13.6.1538. PMID: 9641189.
- 17) Desferal - Trockensubstanz 500 mg. Fachinformationseintrag im Arzneimittel-Kompendium der Schweiz, compendium.ch, Documed, Basel, Stand 2024. <https://compendium.ch/product/18367-desferal-trockensub-500-mg/mpro>
- 18) Carmine TC. Non-linear dilution adjustment of exemplary urine arsenic Part I: Curving the lines. medRxiv 2023.02.09.23285582 (in peer review). 2023. doi: <https://doi.org/10.1101/2023.02.09.23285582>
- 19) Barbier O, Jacquillet G, Tauc M, Cougnon M, Poujeol P. Effect of heavy metals on, and handling by, the kidney. *Nephron Physiol*. 2005;99(4):p105-10. doi: 10.1159/000083981. Epub 2005 Feb 17. PMID: 15722646.
- 20) El-Shobaki FA, Rummel W. Binding of copper to mucosal transferrin and inhibition of intestinal iron absorption in rats. *Res Exp Med (Berl)*. 1979 Feb 6;174(2):187-95. doi: 10.1007/BF01851331. PMID: 424657.
- 21) Levina A, Lay PA. Vanadium(V/IV)–Transferrin Binding Disrupts the Transferrin Cycle and Reduces Vanadium Uptake and Antiproliferative Activity in Human Lung Cancer Cells. *Inorg. Chem*. 2020, 59, 22, 16143–53. <https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.0c00926>
- 22) Vincent JB, Love S. The binding and transport of alternative metals by transferrin. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*. 2012;1820(3): 362-378. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2011.07.003>.
- 23) Harris, W.R. (1998). Binding and transport of nonferrous metals by serum transferrin. In: *Less Common Metals in Proteins and Nucleic Acid Probes. Structure and Bonding*, vol 92. Springer, Berlin, Heidelberg . <https://doi.org/10.1007/BFb0081079>
- 24) Murko S, Ščančar J, Milacic R. Rapid fractionation of Al in human serum by the use of HiTrap desalting size exclusion column with ICP-MS detection. *J. Anal. At. Spectrom*. 2011;26:p86-93. doi: 10.1039/c0ja00088d
- 25) Priest ND, Skybakmoen E, Jackson G. The bioavailability of ingested ²⁶Al-labelled aluminium and aluminium compounds in the rat. *Neurotoxicology*. 2021 Mar;83:179-185. doi: 10.1016/j.neuro.2020.06.010. Epub 2020 Jun 28. PMID: 32605715.
- 26) Kaiser L, Schwartz KA. Aluminum-induced anemia. *Am J Kidney Dis*. 1985 Nov;6(5):348-52. doi: 10.1016/s0272-6386(85)80092-5. PMID: 3904427.
- 27) Cannata JB, Gómez Alonso C, Fernández Menéndez MJ, Fernández Soto I, McGregor S, Menéndez-Fraga P, Brock JH. Iron uptake in aluminium overload: in vivo and in vitro studies. *Nephrol Dial Transplant*. 1991;6(9):637-42. doi: 10.1093/ndt/6.9.637. PMID: 1745387.
- 28) Willhite CC, Ball GL, McLellan CJ. Total allowable concentrations of monomeric inorganic aluminum and hydrated aluminum silicates in drinking water. *Crit Rev Toxicol*. 2012 May;42(5):358-442. doi: 10.3109/10408444.2012.674101. PMID: 22512666.
- 29) Bia MJ, Cooper K, Schnall S, Duffy T, Hendler E, Malluche H, Solomon L. Aluminum induced anemia: pathogenesis and treatment in patients on chronic hemodialysis. *Kidney Int*. 1989 Nov;36(5):852-8. doi: 10.1038/ki.1989.271. PMID: 2615192.
- 30) Chuang PH, Tsai KF, Wang IK, Huang YC, Huang LM, Liu SH, Weng CH, Huang WH, Hsu CW, Lee WC, Yen TH. Blood Aluminum Levels in Patients with Hemodialysis and Peritoneal Dialysis. *Int J Environ Res Public Health*. 2022 Mar 24;19(7):3885. doi: 10.3390/ijerph19073885. PMID: 35409569; PMCID: PMC8997989.
- 31) Alucol. Fachinformationseintrag im Arzneimittel-Kompendium der Schweiz, compendium.ch, Documed, Basel, Stand 2024. <https://compendium.ch/product/1133-alucol-kautabl/mpro>

- 32) Krewski D, Yokel RA, Nieboer E, Borchelt D, Cohen J, Harry J, Kacew S, Lindsay J, Mahfouz AM, Rondeau V. Human health risk assessment for aluminium, aluminium oxide, and aluminium hydroxide. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2007;10 Suppl 1(Suppl 1):1- 269. doi: 10.1080/10937400701597766
- 33) Barr DB, Wilder LC, Caudill SP, Gonzalez AJ, Needham LL, Pirkle JL. Urinary creatinine concentrations in the U.S. population: implications for urinary biologic monitoring measurements. *Environ Health Perspect.* 2005 Feb; 113(2): 192-200. doi: 10.1289/ehp.7337. PMID: 15687057; PMCID: PMC1277864.
- 34) Sauvé JF, Lévesque M, Huard M, et al. Creatinine and specific gravity normalization in biological monitoring of occupational exposures. *J Occup Environ Hyg.* 2015; 12(2): 123-29. doi: 10.1080/15459624.2014.955179. PMID: 25192246.
- 35) Alessio L, Berlin A, Dell'Orto A, Toffoletto F, Ghezzi I. Reliability of urinary creatinine as a parameter used to adjust values of urinary biological indicators. *Int Arch Occup Environ Health.* 1985; 55(2): 99-106. doi: 10.1007/BF00378371. PMID: 3988361.
- 36) Cocker J, Mason HJ, Warren ND, Cotton RJ. Creatinine adjustment of biological monitoring results. *Occup Med (Lond).* 2011 Aug; 61(5): 349-53. doi: 10.1093/occmed/kqr084. PMID: 21831823.
- 37) O'Brien KM, Upson K, Cook NR, Weinberg CR. Environmental Chemicals in Urine and Blood: Improving Methods for Creatinine and Lipid Adjustment. *Environ Health Perspect.* 2016 Feb; 124(2): 220-27. doi: 10.1289/ehp.1509693. Epub 2015 Jul 24. PMID: 26219104; PMCID: PMC4749084.
- 38) Choi JW, Song YC, Cheong NY, et al. Concentrations of blood and urinary arsenic species and their characteristics in general Korean population. *Environ Res.* 2022 Nov;214(2):113846. doi: 10.1016/j.envres.2022.113846. Epub 2022 Jul 9. PMID: 35820651.
- 39) Carmine TC. Non-linear dilution adjustment of exemplary urine arsenic Part II: Sex- and Age-specific Differences. medRxiv 2023.04.12.23288341 (in peer review). 2023. doi: <https://doi.org/10.1101/2023.04.12.23288341>
- 40) Middleton DRS, Watts MJ, Polya DA. A comparative assessment of dilution correction methods for spot urinary analyte concentrations in a UK population exposed to arsenic in drinking water. *Environ Int.* 2019 Sep; 130: 104721. doi: 10.1016/j.envint.2019.03.069. Epub 2019 Jun 14. PMID: 31207477; PMCID: PMC6686075.
- 41) Araki S, Sata F, Murata K. Adjustment for urinary flow rate: an improved approach to biological monitoring. *Int Arch Occup Environ Health.* 1990;62(6):471-7. doi:10.1007/BF00379066. PMID: 2246067.
- 42) Bundesamt für Umwelt BAFU (Schweiz). Datenabfrage NABEL (Nationales Beobachtungsnetz für Luftfremdstoffe). <https://www.bafu.admin.ch/bafu/de/home/themen/luft/zustand/daten/datenabfrage-nabel.html>
- 43) Elder A, Nordberg GF, Kleinman M. Chapter 3.3: Exposure, dose, and toxicokinetics of metals – Deposition and absorption. Editor(s): Nordberg GF, Costa M. *Handbook on the Toxicology of Metals (Fifth Edition), Vol 1*, Academic Press, 2022: 277-311. ISBN 9780128232927, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823292-7.00007-3>.
- 44) Piscitello A, Bianco C, Casasso A, Sethi R. Non-exhaust traffic emissions: Sources, characterization, and mitigation measures. *Sci Total Environ.* 2021 Apr 20;766:144440. doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.144440. Epub 2021 Jan 6. PMID: 33421784.
- 45) OECD (2020), Non-exhaust Particulate Emissions from Road Transport: An Ignored Environmental Policy Challenge, OECD Publishing, Paris. <https://doi.org/10.1787/4a4dc6ca-en>.
- 46) Aguilera A, Bautista F, Gogutchachvili A, Garcia-Oliva F. Health risk of heavy metals in street dust. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2021 Jan 1;26(2):327-345. doi: 10.2741/4896. PMID: 33049672.

- 47) Hüglin C, Grange SK. Chemical characterisation and source identification of PM 10 and PM 2.5 in Switzerland - Project report. S.67, Abb.22 Contact number: 16.0096.PJ/R152-0739. Empa, Swiss Federal Laboratories for Materials Science and Technology, Air Pollution/Environmental Technology Laboratory, CH-8600 Dübendorf. 2021.
- 48) Hulskotte JHJ, Roskam GD, Denier van der Gon HAC. Elemental composition of current automotive braking materials and derived air emission factors. Atmospheric Environment. 2014 (99):436-45.
ISSN 1352-2310. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2014.10.007>.
- 49) Jekel M. Scientific Report on Tyre and Road Wear Particles, TRWP, in the aquatic environment. ETRMA, Brussels. 2019. <https://www.tyreandroadwear.com/wp-content/uploads/2019/10/FINAL-Scientific-Report-on-Tyre-and-Road-Wear-Particles.pdf>
- 50) Deutscher Wetterdienst (DWD, http://www.dwd.de/DE/Home/home_node.html), Die Daten zur Uranbelastung in Luft und Niederschlag für 4 deutsche Städte wurden freundlicherweise auf E-Mail-Anfrage zur Verfügung gestellt.
- 51) Carmine TC. Der Tanz auf dem Uran. Vortrags Skript Medizinische Woche Baden-Baden 11/2018. <https://dr-carmine.ch/wp-content/uploads/Presentation-Uran-Baden-Baden-Final.pdf>
- 52) Wetteronline. Meteorologische Daten zu Niederschlagsmenge und Temperatur von <https://www.wetteronline.de>
- 53) ATSDR report: Toxicological Profile for Silica, Chapter 3. Toxicokinetics, Susceptible Populations, Biomarkers, Chemical Interactions. 2019. <https://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp211-c3.pdf>