

### 3. Probanden und Methoden

#### 3.1. Probanden

Die Fortführung des Berliner Jodmonitorings von Neugeborenen war durch vorliegende Untersuchungsreihen der Klinik für Kinder- und Jugendmedizin Lindenhof (KKJL) Berlin-Lichtenberg und dank mehrfacher Bereitstellungen von Neugeborenenurinen des Universitätsklinikums Charité- Campus Virchow-Klinikum aus Gesamt-Berlin kontinuierlich möglich. Die statistische Aufzeichnung geht bis in das Jahr 1991 zurück. Sie schließen sich an entsprechende Untersuchungen aus Jena (1978-87) an. (Hesse 1997,2000)

Tab. 11: Urinjodmonitoring Berliner Neugeborener 1991-2004-Anzahlen

	1991 Berlin	1991 KKJL	1992 Berlin	1994 KKJL	1995 KKJL	1997 KKJL	1998 Berlin	1999 KKJL	2001 Berlin	2004 Berlin	2004 KKJL
Gesamtanzahl	211	118	178	48	45	54	401	45	492	446	96

KKJL: Klinik für Kinder- und Jugendmedizin Lindenhof

Es wurden die vorhandenen Untersuchungsreihen der Vorjahre nach den WHO-Empfehlungen zur Kontrolle der Jodmangelerkrankungen (Abschnitt 1.5.1. und 2.) aufgearbeitet. Dabei kamen alle Daten in die Auswertung. In den Jahren 2001 und 2004 wurden Urinjodanalysen der Neugeborenen Berlins aktuell durchgeführt. Untersuchungsreihen im Jahr 2004 der KKJL mit Urinjodmessungen und Schilddrüsenultraschalluntersuchungen von Neugeborenen und gleichzeitigen Muttermilchjodkonzentrationsbestimmungen der Wöchnerinnen schlossen sich an.

Durch ein Informationsblatt wurden die Mütter über das Untersuchungsprogramm aufgeklärt. Die Teilnahme war mit der Einverständniserklärung freiwillig. Die Anonymität der Probanden ist zugesichert gewesen.

### 3.1.1. Berliner Neugeborenenjodmonitoring

Bei den im Rahmen des bisher vorgeschriebenen Neugeborenen screenings gewonnenen Urinproben zwischen dem 3. und 5. Lebenstag wurden Urinjodbestimmungen in den Jahren 2001 und 2004 vorgenommen.

Mit diesen aktuellen Jodkonzentrationsbestimmungen Neugeborener konnten die entsprechenden Untersuchungsreihen der Jahre 1991, 1992 und 1998 fortgesetzt und verglichen werden. Statistisch bearbeitet wurden die Jahrgänge 1991, 1998 und 2004.

Tab. 12:  
Urinjodmonitoring Berliner Neugeborener 1991-2004-Anzahlen (verarbeitete Jahrgänge)

	1991 Berlin	1992 Berlin	1998 Berlin	2001 Berlin	2004 Berlin
Gesamtanzahl	211	178	401	492	446

Zusätzlich wurde die Jodversorgung der Neugeborenen in den Berliner Bezirken betrachtet, und es konnten entsprechende Vergleiche vorgenommen werden.

Tab. 13:  
Anzahl der Neugeborenen 2001 und 2004 nach Bezirken

Mitte (Tiergarten/Wedding)	50/44
Friedrichshain/Kreuzberg	43/37
Pankow (Prenzlauer Berg/Weißensee)	60/57
Charlottenburg/Wilmersdorf	33/43
Spandau	33/28
Steglitz/Zehlendorf	61/52
Tempelhof/Schöneberg	45/42
Neukölln	50/39
Treptow/Köpenick	34/33
Marzahn/Hellersdorf	15/16
Lichtenberg	30/28
Reinickendorf	38/32
<b>Ges. Anz.</b>	<b>492/451*</b>

\*5 in die Bezirke eingeteilte Messungen waren oberhalb des Messbereichs

### **3.1.2. Berlin-Lichtenberger Neugeborenenjodmonitoring / -schilddrüsen-sonographie**

Die bisher subregionalen Jodkonzentrationsbestimmungen von Neugeborenen an der KKJL aus den Jahren 1991, 1994, 1995, 1997 und 1999 mit kleinerer Anzahl wurden ebenfalls nach den neuen WHO-Kriterien zur Kontrolle von Jodmangelerkrankung aufgearbeitet. Alle vorhandenen Daten schufen eine gute Vergleichbarkeit zwischen den Jahrgängen und zeigten die Entwicklung der Jodversorgung der Neugeborenen in Berlin-Lichtenberg.

Zur Darstellung der Tendenz der besseren Jodversorgung wurde ein Urinjodmonitoring im Jahr 2004 mit sonographischer Schilddrüsenmessung angeschlossen.

Statistisch ausgewertet wurden die Jahrgänge 1991, 1995 und 2004.

Tab. 14: Urinjodmonitoring Neugeborener Berlin-Lichtenberg Anzahlen

	1991 KKJL	1994 KKJL	1995 KKJL	1997 KKJL	1999 KKJL	2004 KKJL
Gesamtanzahl	118	48	45	54	45	96

Im Jahre 2004 erfolgten Jodkonzentrationsbestimmungen von 96 Lichtenberger Neugeborenenurinen mit 25 Schilddrüsen-sonographien.

Die 25 Kinder wurden am Esaote Megas mit einem 10MHz Linearschallkopf untersucht.

### **3.1.3. Erweitertes Jodmonitoring Berlin-Lichtenberg Muttermilchjoduntersuchungen/ Fragebogen**

Zusätzlich und vervollkommnend zum Neugeborenenjodmonitoring wurden 97 Muttermilchjoduntersuchungen durchgeführt.

Der Fragebogen (Anhang) diente zur Auswertung der Jodversorgung und Ernährung während der Schwangerschaft.

Darin wurden familiäre, mütterliche Schilddrüsenerkrankungen, die Schwangerschaftsjodprophylaxe sowie das Geburtsgewicht und die Geburtslänge des Neugeborenen erfasst. Der Fragebogen wurde hinsichtlich des Milch-, Algen- und Fischverzehr aktualisiert.

Um eine Aussage zum Konsum bzw. zur Einnahme von jodhaltigen Nahrungsergänzungsmitteln und/oder von Folsäurekombinationspräparaten zu erhalten, wurde dies explizit erfragt.

## 3.2. Methoden

### 3.2.1. Jodbestimmung mittels Cer-Arsenit-Methode nach Wawschinek

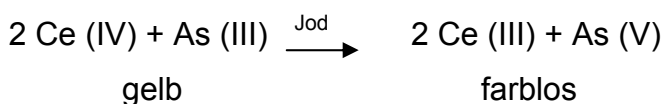
Wie in den Voruntersuchungen erfolgte die zentrale Analyse der Jodkonzentrationen von kindlichen Spontanurinen im Zentrallabor des Krankenhauses Lichtenberg.

Die Jodkonzentration im Urin ist der beste und bei weitem wichtigste Laborparameter zur Beurteilung von Jodmangel und Jodexzess. Schnelle und einfache Methoden ohne Kostenintensivität sind sowohl für die Beurteilung des Jodmangels wie auch für das Monitoring von Supplementationsprogrammen gefordert. (Dunn 1993, Bourdoux 1993, Rendl 2000)

Trotz Unterlegenheit des Spontanurins in der exakten Aussage über den Jodgehalt, haben wir in dieser Probandengruppe auf Sammelurine verzichtet. (Weber 1987)

Hinsichtlich der Beziehung der Jodurie auf die Kreatininausscheidung gibt es bei Neugeborenen keine Beziehung bei anfangs niedrigem Kreatinin. (Heidemann 1984, Manz 1993)

Die Bestimmung des Urinjodgehaltes erfolgte mittels photometrischer Cer-Arsenit-Methode von Wawschinek. (Hoch 1969, Garry 1973, Wawschinek 1985) Anstelle des im Zentrallabor des Krankenhauses Lichtenberg etablierten manuellen Verfahrens kam eine Automatenadaptation zum Einsatz. Diese Messung basiert auf der jodkatalysierten Sandell-Kolthoff-Reaktion. (Sandell 1934, 1937)



Zwischen der manuellen und halbautomatisierten Methode besteht eine enge Korrelation.

Nach der 1:1-Veraschung der frisch aufgetauten Urinproben (100µl) in einem Chlorsäure/Perchlorsäure-Gemisch bei 100°C auf der Basis selbst hergestellter 20%-iger Chlorsäure aus Reinstchemikalien (der Firma Merck Darmstadt) wurden die Urinproben verarbeitet. Die Jodmessungen der veraschten Proben erfolgten bichromatisch (405/700nm) als Endpunkt-Doppelbestimmung nach der von uns entwickelten Automatenadaptation für die Cer-Arsenit-Reaktion am Analysensystem Dimension Xpand (der Firma Dade-Behring) bei einer Mess-temperatur von 37°C. Die entsprechende Arsenit-Reagenzlösung wurde aus einer Reinstsubstanz (der Firma Sigma) hergestellt.

### **3.2.2. Jodbestimmung mittels ICP-MS-Methode**

Die Muttermilchjodbestimmungen von 97 Frauen wurden nach der ICP-MS-Methode am Institut für Ernährungswissenschaften der Friedrich-Schiller-Universität Jena (Prof. Dr. Jahreis) durchgeführt. ICP-MS bedeutet inductively-coupled-plasma mass-spectrometry, Massenspektrometrie mit induktiv gekoppeltem Plasma. Diese Analysenmethode ermöglicht die Bestimmung einer Vielzahl von Elementen in relativ kurzer Zeit und ist aufgrund ihrer Nachweisstärke inzwischen eines der genauesten und meist genutztesten Verfahren der Spurenelementen-Analytik.

Für den Routinebetrieb stellt sie derzeit noch nicht die Methode der ersten Wahl dar, vor allem auch nicht für Untersuchungen in Entwicklungsländern. (Gerber 2000)

Bei künftig interessanten Fragen, wie z.B. Beeinflussung des Jodstoffwechsels durch individuelle Spurenelemente-Konzentrationen und deren Interaktionen, kann diese Analyse-Methodik in koordinierten Laboratoriumszentren der hochentwickelten Wirtschaftsstaaten noch effektiver eingesetzt werden.

Die bei -18°C tiefgefrorenen Muttermilchproben wurden in einem Ultraschallbad aufgetaut, auf 1:10 mit zweifach destilliertem Wasser verdünnt und danach direkt mittels der ICP-MS Methode am ELAN 6000 (Perkin Elmer) analysiert. Vorbereitende Tests zeigten, dass die im Ultraschallbad aufgetauten Proben am besten mit den Referenzwerten von Jodbestimmungen in nichtgefrorenen

Proben übereinstimmten. Zur Vermeidung von Störeinflüssen wurde Tellur (100 µg/l) zugesetzt.

Zur Herstellung einer Kalibrierungskurve wurden Standardlösungen von 5, 10 und 20 µg J/l benutzt. Einer Verdünnung von je 0,5, 1 und 2 ml mit 100 µg J/l wurde 1 ml der Probe zugesetzt und auf 10 ml mit zweifach destilliertem Wasser aufgefüllt. Zusätzlich kam in jede Standardlösung 2 ml Tellur.

Von den jeweiligen Milchproben (Muttermilch und Kuhmilch) wurden 0,5 ml mit 5 ml zweifach destilliertem Wasser aufgefüllt und auch hier jeweils 1 ml Tellur zugesetzt.

Danach führte man eine Vergleichsanalyse zwischen der eigens hergestellten Standardlösung für die Kalibrierung und der aufgearbeiteten Probenlösung durch. (Bader 2005)

Um die Ergebnisse des Urinjodmonitorings der Neugeborenen aus dem Jahr 2004 der KKJL zu überprüfen, wurden jeweils 59 Neugeborenenurine aus verschiedenen Jodversorgungsgraden (1x Grad III, 10x Grad II, 11x Grad I, 15x optimaler Jodversorgungsgrad, 5x überdurchschnittlich gut, 17x Jodexzessbereich) nach der ICP-MS-Methode am Institut für Ernährungswissenschaften der Friedrich-Schiller-Universität Jena kontrolliert. Hierbei sollten vor allem die Jodmessungen über 200 µg/l der Neugeborenen bestätigt werden.

### 3.3. Statistische Auswertung

Die Erfassung und statistische Auswertung der Daten von Berlin und Berlin-Lichtenberg aus den Jahren 1991, 1995, 1998, 2001 und 2004 erfolgte mit Hilfe des SSPS-Programmes.

Zur schriftlichen Erfassung wurde das Textverarbeitungsprogramm Windows XP verwendet. Die Erstellung der grafischen Darstellungen wurden mit Hilfe des Programms Microsoft Excel Version 6,0 vorgenommen.

Tab. 15: Explorative Datenanalyse, Verarbeitete Fälle

Jena 1991	Berlin 1991	Berlin-Lichtenberg 1991	Berlin-Lichtenberg 1995	Berlin 1998	Berlin 2001	Berlin 2004	Berlin-Lichtenberg 2004
76	211	118	45	401	492	446	96

Zunächst wurden alle Jahrgänge der Berliner Stichproben aus den Jahren 1991, 1998, 2001 und 2004 sowie die Lichtenberger Untersuchungsreihen aus den Jahren 1991, 1995 und 2004 und eine auswertbare Jenaer Gruppe aus dem Jahre 1991 auf Normalverteilung überprüft, um die korrekten statistischen Testungen anzuwenden.

Bei den nicht normal verteilten Gruppen musste der Medianwert angegeben werden. Gleichfalls wurden quantitative Daten als Median und Bereich wiedergegeben, qualitative Charakteristika als absolute Anzahl und als Prozentwert.

Die Vergleiche zwischen den Jahrganggruppen bei nicht normalverteilten und normalverteilten Stichproben erfolgten als nichtparametrische Testung mittels U-Test nach Mann-Whitney (ordinalskalierte Daten) für qualitative Merkmale. (Wernecke 2004) Alle Datenreihen wurden gegeneinander geprüft, sind jedoch in der Auswertung getrennt dargelegt.

In den Jahrgängen 1991, 1998, 2004 der Berliner Daten sowie in den Jahrgängen 1991, 1995 und 2004 der Lichtenberger Stichproben wurden die verschiedenen Ausprägungen (optimaler, überdurchschnittlicher und exzessiver Bereich) der Jodmangelgrade mittels  $\chi^2$ -Test (metrischskalierte Daten) für quantitative Merkmale getestet.



Ein p-Wert  $< 0,05$  wurde statistisch signifikant definiert. Auch hier wurden alle Stichprobenreihen gegeneinander getestet, wurden in der Ergebnisdarstellung jedoch getrennt.