

COLLEGIUM MEDICUM
UNIwersytet Jagielloński

Paweł Zagrodzki

**WPŁYW NIEDOBORU SELENU NA METABOLIZM HORMONÓW TARCZYCY
U DZIECI Z POLSKI POŁUDNIOWO-WSCHODNIEJ**

Rozprawa doktorska

Promotor:

Prof. dr.hab. Zofia Zachwieja

Bibl. Medyczna CM UJ



1816049776

Kraków 1998

PODZIĘKOWANIA

Mojemu Promotorowi - Pani Profesor Zofii Zachwiejowej pragnę podziękować za umożliwienie mi podjęcia i realizacji ciekawego tematu, inspirujące uwagi, wnikliwe korekty i stałe zainteresowanie wynikami moich badań.

Panu Profesorowi Zbigniewowi Szybińskiemu wyrażam wdzięczność za łaskawe udostępnienie wybranych wyników dotyczących dzieci z województwa tarnobrzeskiego.

Pragnę serdecznie podziękować lek. med. Ryszardowi Ratajczakowi za pomoc organizacyjną w niektórych etapach tej pracy oraz wspólne, bardzo dla mnie cenne, dyskusje merytoryczne.

Autor dziękuje także Pani Profesor Halinie Szafranowej za krytyczne uwagi dotyczące części teoretycznej niniejszej pracy, które przyczyniły się do usunięcia różnych usterek i poprawienia pierwotnej wersji.

Mojej Żonie Ewie winien jestem szczególną wdzięczność za cierpliwość, wsparcie i pogodę ducha, bez których ta praca nie mogłaby powstać.

WYKAZ SYMBOLI	1
WSTĘP.....	2
PRZEGLĄD PIŚMIENNICTWA.....	4
1. WYSTĘPOWANIE SELENU W ŚRODOWISKU.....	4
2. REAKCJE REDOKS ZWIĄZKÓW SELENU.....	6
3. SELENOBIAŁKA.....	9
3.1. Włączenie Se w strukturę selenobiałek.....	9
3.2. Peroksydaza glutationowa zawierająca selen.....	9
3.2.1. Izoenzymy peroksydazy glutationowej zawierającej Se, ich występowanie i własności.....	9
3.2.2. Reakcje katalizowane przez selenozależną peroksydazę glutationową.....	14
3.3. Dejodazy jodotyroniny.....	16
3.3.1. Uznanie dejodazy jodotyroniny typu I za selenoenzym.....	16
3.3.2. Metabolizm hormonów tarczycy.....	16
3.3.3. Biochemiczna charakterystyka dejodazy jodotyroniny typu I....	18
3.3.4. Dejodaza jodotyroniny typu II.....	19
3.3.5. Dejodaza jodotyroniny typu III.....	20
3.4. Inne selenobiałka i związki wielkocząsteczkowe zawierające selen.....	20
4. SPOŻYCIE SELENU	22
4.1. Zawartość selenu w żywności.....	22
4.2. Zalecane i rzeczywiste spożycie selenu.....	24
5. WYNIKI OZNACZEŃ STĘŻENIA SELENU I AKTYWNOŚCI GSHPx.....	27
5.1 Stężenie selenu w pełnej krwi.....	27
5.2. Aktywność GSHPx, korelacja ze stężeniem selenu.....	27
5.3. Stężenia selenu w różnych tkankach i narządach człowieka.....	32
6. WPŁYW NIEDOBORU SELENU NA AKTYWNOŚĆ SELENOENZYMÓW....	34
7. SUPLEMENTOWANIE SELENEM.....	35
8. ZATRUCIA SELENEM.....	38

9. WPŁYW NIEDOBORU JODU NA POWSTAWANIE WOLA ENDEMICZNEGO.....	41
9.1. Rozpoznanie i charakterystyka wola endemicznego.....	41
9.2. Zawartość jodu w żywności.....	44
9.3. Zalecane i rzeczywiste spożycie jodu.....	44
9.4. Suplementowanie jodem.....	45
9.5. Zaburzenia spowodowane niedoborem jodu w Polsce południowschodniej oraz w krajach ściennych.....	46
10. WPŁYW NIEDOBORU SELENU NA METABOLIZM HORMONÓW TARCZYCY.....	48
10.1. Badania na zwierzętach.....	48
10.2. Badania na ludziach.....	49
11. WPŁYW RÓWNOCZESNEGO DEFICYTU SELENU I JODU NA METABOLIZM HORMONÓW TARCZYCY.....	52
11.1. Badania na zwierzętach.....	52
11.2. Badania na ludziach.....	53
12. INTERAKCJE SELENU Z SIARKĄ.....	57
CEL PRACY.....	58
BADANIA WŁASNE.....	59
1. MATERIAŁY I METODY.....	59
1.1. Badana populacja dzieci.....	59
1.2. Pobieranie próbek krwi i moczu.....	60
1.2.1. Pobieranie i zabezpieczanie próbek krwi.....	60
1.2.2. Pobieranie i zabezpieczanie próbek moczu.....	60
1.3. Metody zastosowane do oznaczania badanych parametrów.....	61
1.3.1. Oznaczanie stężenia selenu we krwi (Se).....	61
1.3.2. Oznaczanie aktywności peroksydazy glutationowej w osoczu (pIGSHPx).....	62
1.3.3. Oznaczenie stężenia hormonu tyreotropowego w osoczu krwi (TSH).....	63
1.3.4. Oznaczenie stężenia wolnej tyroksyny w osoczu krwi (fT4).....	63
1.3.5. Oznaczenie stężenia jodu w moczu (IU).....	64
1.3.6. Pomiar ultrasonograficzny objętości tarczycy (TV).....	65

1.4. Obliczenia statystyczne.....	65
2. WYNIKI BADAŃ.....	67
2.1. Wyniki pomiarów badanych parametrów.....	67
2.1.1. Wyniki analizy stężenia selenu we krwi.....	67
2.1.2. Wyniki analizy aktywności peroksydazy glutationowej w osoczu krwi.....	69
2.1.3. Wyniki analizy stężenia wolnej tyroksyny w osoczu krwi.....	72
2.1.4. Wyniki analizy stężenia TSH w osoczu krwi.....	74
2.1.5. Wyniki analizy stężenia jodu w moczu.....	77
2.1.6. Stopień zaawansowania wola w grupie badanej.....	78
2.2. Analiza zależności między badanymi parametrami.....	79
2.2.1. Współczynniki korelacji Pearsona lub Spearmana.....	79
2.2.2. Analiza składowych głównych.....	81
2.3. Analiza wpływu statusu selenowego na metabolizm tarczycy u dziewcząt.....	83
DYSKUSJA.....	86
WNIOSKI.....	97
STRESZCZENIE.....	98
SPIS TABEL I RYCIN.....	100
PIŚMIENNICTWO.....	103
ANEKS.....	118

WYKAZ SYMBOLI

ATG - tioglukoza złota
BSO - butioninosulfoksymina
cGSHPx - komórkowa peroksydaza glutationowa
DTE - ditioerytritol
DTT - ditiotreitol
FT4 - wolna tyroksyna
giGSHPx - żołądkowo-jelitowa peroksydaza glutationowa
GSH - glutation (forma zredukowana)
GSHPx - selenozależna peroksydaza glutationowa
GSSG - glutation (forma utleniona)
IDI - dejodaza jodotyroniny typu I
IDII - dejodaza jodotyroniny typu II
IDIII - dejodaza jodotyroniny typu III
IDD - Zaburzenia z Niedoboru Jodu
IU - stężenie jodu w moczu
kDa - kilodalton, 1000 atomowych jednostek masy
 K_m - stała Michaelisa
PCA - analiza składowych głównych
phGSHPx - peroksydaza glutationowa nadtlenków fosfolipidów
PKU - fenyloketonuria
plGSHPx - osoczowa peroksydaza glutationowa
PTU - 6-propylo-2-tio-uracyl
rT3 - odwrotna trijodotyronina
SDS-PAGE - elektroforeza w żelu poliakryloamidowym w obecności dodecylosiarczanu sodu
T3 - trijodotyronina
T4 - tetrajodotyronina (tyroksyna)
 $TMSe^+$ - kationy trimetyloseleniowe, $(CH_3)_3Se^+$
TPO - tyreoperoksydaza
TSH - hormon tyreotropowy
TV - objętość tarczycy

WSTĘP

Selen został odkryty w 1817 roku przez szwedzkiego chemika Jönsa Jacoba Berzeliusa. Przez dłuższy czas był uważany za pierwiastek wywierający wyłącznie toksyczne działanie u ludzi i zwierząt. Nadmiar selenu wywoływał u zwierząt hodowlanych chorobę alkaliczną oraz podobną do niej chorobę Degnala a także błędną kołowaciznę (za Néve, 1991a, Arora, 1985). Obecnie wiadomo, że selen jest pierwiastkiem niezbędnym zarówno dla eukariotów jak i prokariotów.

W roku 1957 Schwarz i Foltz po raz pierwszy opisali ochronne działanie selenu, który był podawany szczurom odżywianym drożdżami *Torula*. Drożdże te zawierają znikome ilości selenu. Stwierdzono, że dodane do diety szczurów śladowe ilości pierwiastka zapobiegały martwiczemu zwyrodnieniu wątroby. W latach 60-tych i 70-tych odkryto u zwierząt doświadczalnych kilka innych chorób, związanych z deficytem zarówno witaminy E jak i selenu. Zalicza się do nich między innymi skazę wysiękową u drobiu, pokarmową dystrofię mięśni u jagniąt i cieląt, kardiomiopatię (tzw. chorobę morwowatego serca) u młodych świń, bydła, koni i drobiu. Wykazano także, iż pewne zaburzenia, jak na przykład: zaćma u szczurów, degeneracja trzustki u kurcząt, łysienie, apatia, zespół nerczycowy u małąp, spowodowane są deficytem selenu i nie zapobiega im nawet odpowiednia ilość witaminy E w diecie (za Levander, 1982, Thompson i wsp., 1995, Oldfield, 1987, Lombeck i wsp., 1978). Prawdziwe jest także twierdzenie odwrotne - niekiedy można zapobiec pewnym zaburzeniom za pomocą podaży witaminy E lub syntetycznych, rozpuszczalnych w lipidach przeciwutleniaczy, natomiast podaż selenu jest w takich przypadkach nieefektywna. Przykład stanowi rozmięknienie mózgu u kurcząt (za Combs i Combs, 1986). Równoczesny deficyt selenu i witaminy E powoduje częste przypadki martwych porodów, zahamowanie rozwoju i przedwczesną śmierć szceniąt (Golstein i wsp., 1988).

W roku 1973 Rotruck i wsp., prowadząc badania nad peroksydazą glutationową w erytrocytach szczurów, stwierdzili, że Se jest integralnym składnikiem centrum aktywnego tego enzymu. Niewiele później, niezależnie od Rotrucka, Flohe i wsp. (1973) opisali strukturę peroksydazy glutationowej wykrystalizowanej z erytrocytów bydlęcych, wykazując, iż każda z czterech podjednostek enzymu o masie 21 kDa zawiera jeden gramoatom selenu.

Było to jedno z najważniejszych odkryć w biochemii w latach siedemdziesiątych. Ono, jak również późniejsze odkrycia innych selenobiałek, stymulują intensywne badania nad fizjologiczną rolą związków selenu, problemami żywieniowymi związanymi z dobowym

zapotrzebowaniem na ten pierwiastek, objawami klinicznymi niedoboru selenu, rolą deficytu selenu w etiologii i przebiegu różnych chorób i stanów patologicznych.

Dodatkowym impulsem do badań nad biochemią selenu było odkrycie w roku 1990, że dejodaza jodotyroniny typu I posiada w centrum aktywnym atom selenu. Konsekwencją tego faktu jest znaczący wpływ selenu na metabolizm związków jodu zarówno u zwierząt jak i u ludzi. Dotychczas większość badań nad interakcjami pomiędzy I i Se wykonano na zwierzętach doświadczalnych. Natomiast piśmiennictwo poświęcone temu zagadnieniu u ludzi jest znacznie węższe i dotyczy najczęściej populacji żyjących na terenach drastycznego deficytu jodu i selenu. Dlatego w niniejszej pracy zwrócona zostanie szczególna uwaga na rolę statusu selenowego w metabolizmie tarczycy u dzieci z umiarkowanym niedoborem obu pierwiastków.

1. WYSTĘPOWANIE SELENU W ŚRODOWISKU

Selen występuje w środowisku geochemicznym i organizmach żywych w postaci następujących związków: seleniany(IV) SeO_3^{2-} (wg. dawniejszej nomenklatury: seleniny), seleniany(VI) SeO_4^{2-} (wg. dawniejszej nomenklatury: seleniany), selenki Se^{2-} , selenoetery, kationy trimetyloseleniowe $[(\text{CH}_3)_3\text{Se}^+, \text{TMSe}^+]$, selenoaminokwasy, selenopolisacharydy oraz liczne białka, w tym niektóre enzymy (za Diplock, 1993, Behne i wsp., 1994, Behne i wsp., 1995, Rajca, 1990). Trzy aminokwasy: selenohomocysteina, selenocystationina, selenometyloselenocysteina, nie wchodzi w skład białek i są głównymi selenowymi składnikami roślin akumulujących selen. Natomiast selenometionina jest głównym składnikiem roślin nie akumulujących tego pierwiastka (Spallholz, 1994). Związki selenu, podobnie jak analogi siarki, często odznaczają się nieprzyjemnym zapachem, lotnością, brakiem stabilności (za IPCS, 1987).

Zawartość selenu w powierzchniowych warstwach gleb kuli ziemskiej waha się najczęściej w przedziale 0,2 - 0,6 ppm, przeciętnie jest równa 0,33 ppm (za Kabata-Pendias i Pendias, 1993). W meteorytach zawartość Se dochodzi do 300 ppm, natomiast w skałach jest go ok. 10-krotnie mniej aniżeli w glebach (Kabata-Pendias, 1997). Pierwotnym źródłem selenu w środowisku są wyziewy wulkaniczne i lava wulkaniczna, zawierająca siarczki metaliczne. Selen występuje w ok. 50 minerałach, rozproszonych w różnych skałach osadowych, głównie piaskowcach, wapieniach i fosforytach. Pierwiastek ten nie akumuluje się jednak w złożach siarki pochodzenia osadowego (za IPCS, 1987, Kabata-Pendias, 1997). Często jest silnie związany z tlenkami żelaza i glinu (za IPCS, 1987). Wtórne źródła selenu stanowią ścieki biologiczne, w których następuje nagromadzenie tego pierwiastka, emisje antropogenne, towarzyszące przemysłowemu spalaniu węgla i pochodnych ropy, przetwórstwu rud ołowiu, cynku, miedzi i uranu. Spowodowane są one także przez inne gałęzie przemysłu, głównie przemysł szklarski i ceramiczny oraz rolnictwo (IPCS, 1987, Umińska, 1990). Wymienione gałęzie przemysłu mają również spory udział w zanieczyszczaniu selenem wód powierzchniowych (IPCS, 1987).

Gleby ubogie w selen występują w Nowej Zelandii, Szwecji, Finlandii, Danii, Chinach (prowincje Heilongjiang, Yunnan i Sichuan), północno-zachodnim Zairze, Kanadzie (wschodnia Kolumbia Brytyjska, zachodnia Alberta, północne Ontario, południowowschodni

Quebec), zachodniej Australii, niektórych rejonach byłej Jugosławii. Dużą zawartość selenu w glebie (powyżej 5 ppm) odnotowano w następujących krajach: Wenezuela, USA (stany: Nebraska, Montana, Północna i Południowa Dakota, Wyoming), Irlandia Północna, Kolumbia, Izrael, Chiny (prowincja Hubei i część prowincji Shaanxi), Indie (prowincja Haryana). Ogólnie można stwierdzić, iż w glebach mało porowatych, o niskim pH [a więc zawierających selen na niższych stopniach utlenienia (Se^{-2} , Se^{+4}) silniej adsorbowany przez glebę], dostępność pierwiastka dla roślin jest mniejsza¹. W USA są to gleby pochodzące ze skał osadowych sprzed okresu kredowego lub z późniejszych skał wulkanicznych (za Litov i Combs, 1991, Beker i wsp., 1991, Maksimović i wsp., 1992, Oldfield, 1995). Wpływ pH jest szczególnie wyraźny dla minerałów tlenkowych i substancji ilastej a także ziem zawierających znaczny procent materii organicznej. Dużą zawartość Se stwierdzono w glebach alkalicznych, utworzonych z pyłów wulkanicznych o znacznym stężeniu siarczków, albo z czarnych łupków pochodzących z okresu jurajskiego i karbońskiego (za Piotrowska, 1984).

Bakterie, grzyby, drożdże i niektóre rośliny (*Astragalus*, *Haplopappas*, *Machaeranthera*, *Stanleya*) posiadają zdolność akumulacji selenu z otaczającego środowiska dzięki wiązaniu jego połączeń chemicznych zarówno w obrębie zespołu ścianowo-błonowego komórek jak i w ich wnętrzu. Wymienione rośliny są bioindykatorami gleb selenonośnych, wykazując zdolność gromadzenia Se w stężeniach do kilku tysięcy ppm. Niektóre rośliny wykazują odporność na wyższe stężenia Se w glebie, inne (np. niektóre zioła) nie wykształciły odpowiednich mechanizmów obronnych i ulegają toksycznemu działaniu pierwiastka. Selen ulega silnej bioakumulacji w łańcuchu troficznym (Kabata-Pendias, 1997).

W warunkach klimatycznych Polski gleby cechuje niedoborowa zawartość selenu, np. w województwie bydgoskim zawartość pierwiastka w poziomach orno-próchnicznych gleb uprawnych wynosi średnio ok. 0,120 mg/kg (zakres 0,011-0,410 mg/kg), w glebach leśnych 0,556 i 0,117 mg/kg, odpowiednio - w warstwie A_0 i A . Zawartość selenu ogólnego w glebach uprawnych wytworzonych z piasków gliniastych i glin oraz w warstwie A gleb leśnych koreluje znamienne z zawartością materii organicznej w tych glebach (Borowska i wsp., 1994). Udział przyswajalnych dla roślin form selenu, zbadany za pomocą ekstrakowania kwasem dietylenotriaminopentaoctanowym, w całkowitej zawartości selenu w tych glebach zawiera się w przedziale 0,43-5,92%, co świadczy o tym, że jest to pierwiastek trudno dostępny dla roślin (Borowska, 1996).

¹ Selen elementarny jest praktycznie niedostępny dla roślin.

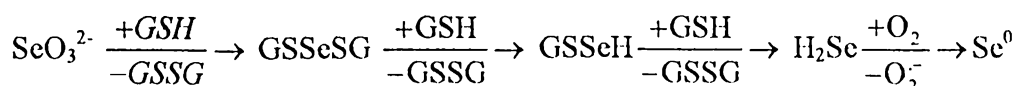
Do celów technicznych selen jest wyodrębniany ze szlamów powstałych w wyniku rafinacji elektrolitycznej innych metali, głównie miedzi. W szlamach selen występuje w postaci związków: CuAgSe , Ag_2Se , $\text{Cu}_{2-x}\text{Se}_x$ (gdzie $x < 1$). Czysty selen otrzymuje się przez destylację selenu surowego w temperaturze $310\text{--}400^\circ\text{C}$ (Madhavi i wsp. 1996). Roczna produkcja szacowana jest na 1500t (Kabata-Pendias, 1997).

Pierwiastek ten znajduje zastosowanie do produkcji elementów półprzewodnikowych, jako składnik niektórych gatunków szkła, emalii i glazury, smarów, dodatek do stali, katalizator hydrogenacji, składnik szamponów oraz środków przeciwzapalnych stosowanych dla zwierząt.

Na obieg biologiczny selenu w przyrodzie składa się pobranie tego pierwiastka przez ludzi i zwierzęta z roślin, głównie ze zbóż. W roślinach selen występuje w aminokwasach, selenoeterach i w dużo mniejszym stopniu - w selenianach(VI) i selenianach(IV) (Spallholz, 1994). Selen wydalany jest głównie w formie zredukowanej jako selen elementarny, selenki oraz jony TMSe^+ . Zredukowane związki selenu mogą ulegać ponownemu przekształceniu do selenianów(IV) i selenianów(VI) dzięki niektórym bakteriom glebowym lub chemicznemu utlenieniu (za Diplock, 1993). Oczywiście możliwy jest także proces odwrotny, tzn. redukcja związków selenu i powstawanie lotnych metylowych pochodnych, czemu sprzyja: podwyższona temperatura ($35\text{--}40^\circ\text{C}$) i wilgoć, natomiast przeciwdziała obecność w glebie w dużych ilościach takich pierwiastków jak: Mo, Hg, Pb, Cr (Spallholz, 1994).

2. REAKCJE REDOKS ZWIĄZKÓW SELENU

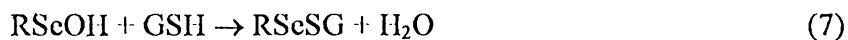
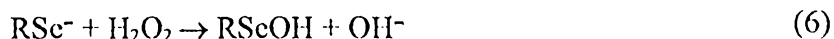
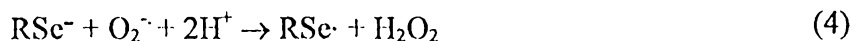
Selen może występować na różnych stopniach utlenienia, w związkach mających mostki selenkowe i mieszane selenkowo-siarczkowe (Schrauzer, 1992) oraz tworzyć mocne wiązania kowalencyjne z cząsteczkami aminokwasów (głównie cysteiny i metioniny). Biotransformacja selenianów(IV) odbywa się poprzez etapy pośrednie obejmujące powstanie selenotrisiarczków RS-Se-SR , selenodisiarczków (RS-SeR , RS-SeH), selenowodoru H_2Se , selenków, elementarnego selenu. Metylotransferazy przekształcają selenowodór i selenki do metyloselenu, dimetyloselenu i jonów TMSe^+ . Jeśli drugim substratem przemian selenianów(IV) *in vitro* jest glutation, to przebiegają one według następującego schematu (Spallholz, 1994):



Poza glutationem, analogicznie reagują merkaptocetanol i L-cysteina. Natomiast selenian(IV) może być zastąpiony tlenkiem SeO_2 . Reakcje redukcji katalizuje reduktaza glutationowa. Połączenie selenu (z selenowodoru) z cząsteczką seryny, katalizowane przez syntetazę selenocysteinową, powoduje powstanie selenocysteiny. Metabolitem selenocysteiny jest selenotauryna lub metyloselenocysteina, z której mogą powstać dimetyloselen i jony trimetyloseleniowe. Pod wpływem liazy selenocysteinowej, enzymu specyficznego dla metabolizmu związków selenu, następuje odszczepienie grupy HSe^- od cząsteczki selenocysteiny, która przechodzi w alaninę.

Odmienny schemat reakcji zaproponowano dla selenometioniny, która stanowi dla człowieka aminokwas egzogeny i jest dostarczana w diecie. Związek ten, pod wpływem odpowiednich transferaz, przechodzi najpierw w selenohomocysteinę, by następnie reagować z seryną i utworzyć selenocystationinę, rozkładaną przez β -cystationazę do selenocysteiny (za Favier, 1988).

Toksyczne działanie Se wiąże się z faktem, że w podanej powyżej reakcji utleniania selenowodoru powstaje anionorodnik ponadtlenkowy (O_2^-) (Seko i wsp., 1989), i być może również H_2O_2 , $\text{OH}^\cdot$, $\text{SH}^\cdot$. Także selenocystyna i selenocystamina mogą *in vitro* reagować z tiolami, powodując powstawanie produktów nadtlenkowych. Schemat przemian katalizowanych *in vitro* przez selenocystaminę, zaproponowany przez Chaudiere i wsp. (1992) podano poniżej ($\text{R} = -(\text{CH}_2)_2-\text{NH}_2$):



W reakcji (3) następuje przeniesienie jednego elektronu z grupy RSe^- na cząsteczkę tlenu z utworzeniem anionorodnika ponadtlenkowego. W następnym etapie RSe^- redukuje anionorodnik ponadtlenkowy do nadtlenku wodoru, poprzez transfer kolejnego elektronu (reakcja 4). Drugim produktem obu powyższych reakcji jest zapewne rodnik $\text{RSe}^\cdot$, który

szybko rekombinuje do diselenku RSe-SeR (reakcja 5a) lub poprzez reakcję z GSH przechodzi ponownie w jon RSe⁻ (reakcja 5b). Trzeci etap to dwuelektronowy transfer z RSe⁻ do H₂O₂ lub nadtlenu kumenu (reakcja 6), a prawdopodobnie powstający jako produkt pośredni, kwas selenenowy RSeOH, przechodzi w selenosiarczek RSeSG (reakcja 7). Możliwa jest również przemiana tego związku w reakcji z RSe⁻ (reakcja 8). Diselenek lub selenosiarczek są formami stabilnymi katalizatora. Należy podkreślić, że reakcje utleniania GSH katalizowane przez selenocystaminę przebiegają z udziałem wolnych rodników jako produktów przejściowych nie wymagając obecności żadnego metalu, który ułatwiałby transfer jednego elektronu z selenocystaminy do tlenu lub nadtlenu. Analogiczne reakcje katalizowane przez cysteinę lub ditiotreitol (2,3-dihydroksy-1,4-dimerkaptobutan, DTT) mogą zachodzić tylko w obecności jonów metali, np. Fe⁺³ lub Ce⁺⁴.

In vitro, nadmiar selenianu(IV), w obecności GSH, powoduje uszkodzenie łańcucha DNA i cząsteczki dezoksyrybozy. Jest to przypisywane głównie powstawaniu rodnika hydroksylowego (·OH), według nieznanego mechanizmu. To prooksydacyjne działanie związków selenu jest częściowo znoszone przez mannitol lub dimetylosulfotlenek, które są zmiataczami tego rodnika. Podobne uszkodzenia zaobserwowano w wątrobie myszy, którym podano selenocystynę. Jednak uszkodzenie cząsteczki dezoksyrybozy spowodowane in vitro przez selenocystynę mogło być zmniejszone nie tylko przez mannitol ale również przez dysmutazę ponadtlenną lub chelator żelaza. Taki wynik sugeruje w tym przypadku obecność anionorodnika ponadtlennego oraz udział reakcji Fentona w powstawaniu reaktywnych form tlenu (Imura, 1996).

3. SELENOBIAŁKA

3.1. Włączenie Se w strukturę selenobiałek

Mechanizm włączania Se do struktury peroksydazy glutationowej został wyjaśniony w drugiej połowie lat osiemdziesiątych. Na podstawie badań doświadczalnych ze znakowanymi związkami selenu, cysteiną oraz seryną, wykazano, iż prekursorem reszty selenocysteinowej w łańcuchu polipeptydowym peroksydazy glutationowej jest seryna. Serynylo-tRNA jest fosforylowany przez specyficzną kinazę, po czym fosforanowa część cząsteczki jest wymieniana samorzutnie lub enzymatycznie przez selen pochodzący z selenku dając selenocysteinyl-tRNA. Związek ten rozpoznaje kodony UGA w mRNA, co pozwala wbudować selenocysteinę z SeCys-tRNA w szkielet polipeptydowy. Kodon UGA jest jednocześnie jedną z sekwencji kodujących sygnał "stop" w kodzie genetycznym (Stadtman, 1987a).

3.2. Peroksydaza glutationowa zawierająca selen

3.2.1. Izoenzymy peroksydazy glutationowej zawierającej Se, ich występowanie i własności

Masa cząsteczkowa - najwcześniej rozpoznanej jako selenoenzym - komórkowej GSHPx (ang. cellular glutathione peroxidase, cGSHPx, EC 1.11.1.9) przyjmuje różną wartość dla różnych gatunków ssaków, np. w wątrobie szczurów 76 ± 1 kDa, w erytrocytach krów $83,8 \pm 1,2$ kDa, w erytrocytach ludzkich 95 ± 3 kDa. W obrębie tego samego gatunku różnice masy cząsteczkowej mogą wystąpić dla różnych tkanek (Deshpande i wsp., 1996). Enzym jest tetramerem - składa się z czterech identycznych podjednostek o masie 19-24,8 kDa, które tworzą płaską strukturę (Epp i wsp., 1983). Każda z podjednostek, o kształcie zbliżonym do kulistego, o średnicy 3,8 nm, zawiera atom selenu w aktywnym centrum, związany w cząsteczce selenocysteiny, w położeniu 40-47² (najczęściej 47) w łańcuchu peptydowym (licząc od N-końca) (Forstrom i wsp., 1978, za Levander, 1982). Odległość między atomami selenu dwóch podjednostek jest nie mniejsza niż 2 nm. Z badań krystalograficznych wynika, że selenocysteina znajduje się na końcu N α -helisy, związanym

² Położenie selenocysteiny w łańcuchu polipeptydowym, liczba reszt aminokwasowych w podjednostkach oraz masy cząsteczkowe izoenzymów GSHPx uzależnione są zarówno od gatunku biologicznego jak i od rodzaju tkanki, w której enzym został zidentyfikowany.

z dwoma równoległymi β -łańcuchami w stabilnym układzie $\beta\alpha\beta$. Wraz z glutaminą i tryptofanem, selenocysteina tworzy charakterystyczną triadę na powierzchni enzymu (Flohe i wsp., 1996). Miejsca aktywne enzymu znajdują się w płytkich zagłębieniach na powierzchni cząsteczki i są łatwo dostępne dla substratów. Miejsce wiążące substrat nadtlenkowy jest utworzone z dwóch reszt glutaminy i dwóch reszt histydyny. Cząsteczka glutationu jest wiązana w centrum aktywnym przez dwie reszty argininowe, które łączą się wiązaniami jonowymi z grupami $-\text{COOH}$ kwasu glutaminowego i glicyny z glutationu, oraz przez resztę glutaminową, która tworzy wiązanie wodorowe z grupą $-\text{NH}_2$ kwasu glutaminowego z glutationu. Selenocysteina z enzymu łączy się z glutationem tworząc wiązanie selenosiarczkowe (Epp i wsp., 1983).

Całkowita liczba reszt aminokwasowych w podjednostce waha się w granicach 190-205 (najczęściej 201). Homologia łańcuchów peptydowych wchodzących w skład peroksydaz glutationowych, pochodzących od różnych gatunków, ograniczona jest do kilkunastu aminokwasów poprzedzających selenocysteinę (za Zachara, 1992). Enzym nie zawiera hemu ani żadnego innego metalu poza selenem (za Combs i Combs, 1986).

Se zawarty w różnych formach peroksydazy glutationowej stanowi powyżej 30% całej puli tego pierwiastka w organizmie (Kiremidjian-Schumacher i Stotzky, 1987). Na pozostałą część składa się selen zawarty w wielu innych białkach. Sunde wysunął hipotezę, że cGSHPx spełnia w organizmie funkcję buforu selenowego, uniezależniając (do pewnego stopnia) aktywność innych selenoenzymów, np. phGSHPx, dejodazy jodotyroniny typu I (ang. type-I iodothyronine deiodinase, IDI), selenobiałka P, od dobowych wahań spożycia selenu. Równorzędną więc, o ile nie ważniejszą od roli przeciwutleniacza, byłaby homeostatyczna kontrola stężeń selenu przez ten enzym. Przesłanką dla powyższej hipotezy jest fakt, że wobec deficytu selenu, poziom ekspresji mRNA dla cGSHPx jest znacznie niższy niż mRNA dla innych selenoenzymów, co oznacza wbudowywanie selenu do tych właśnie enzymów (Sunde, 1994). Słabą stroną takiego rozumowania jest spostrzeżenie, że buforująca rola cGSHPx byłaby związana z dużym wydatkiem energii niezbędnej do zsyntezowania a następnie destrukcji tak skomplikowanej cząsteczki jak cGSHPx, która miałaby spełniać rolę jedynie "magazynu" selenu.

Komórkową peroksydazę glutationową znaleziono w cytozolu (Rotruck i wsp., 1973, Flohe i wsp., 1973) i w matriksie mitochondrialnej (Wendel, 1980). Ta izoforma enzymu może redukować przyłączone do błony komórkowej lub błon organelowych i zestryfikowane

wodoronadtlenki lipidowe - dopiero po ich uprzedniej hydrolizie dokonanej przez fosfolipazę A₂.

Druga forma enzymu, żołądkowo-jelitowa peroksydaza glutationowa (ang. gastrointestinal glutathione peroxidase, giGSHPx, EC 1.11.1.10) występuje w nabłonku przewodu pokarmowego, we frakcji cytozolowej. Enzym, przy współudziale glutationu, redukuje nadtlenek wodoru, wodoronadtlenki t-butyłu, kumenu, kwasu linolowego. Wykazuje on większą reaktywność w stosunku do substratów organicznych aniżeli do nadtlenku wodoru, nie redukuje jednak wodoronadtlenku fosfatydylocholiny. Posiada strukturę tetrameryczną, składające się na nią monomery mają masę cząsteczkową równą 22 kDa. Odpowiadający temu enzymowi mRNA stwierdzono tylko w komórkach układu pokarmowego gryzoni, oraz w ludzkiej wątrobie, okrężnicy, jelicie cienkim, żołądku. Nie stwierdzono obecności tego enzymu w nerkach, sercu, płucach, łożysku i macicy. giGSHPx wykazuje 66% homologii aminokwasowej i 61% nukleotydowej z cGSHPx. Kodon UGA zajmuje pozycje 152-154 w sekwencji nukleotydów cDNA. giGSHPx posiada podobną ruchliwość elektroforetyczną na żelu poliakryloamidowym jak cGSHPx. Przeciwciała przeciw giGSHPx nie strącają ani cGSHPx ani plGSHPx. Podczas identyfikacji odpowiednich kwasów cDNA i mRNA metodami Southerna i Northern nie stwierdzono krzyżowej hybrydyzacji dla sond giGSHPx i cGSHPx (Chu i wsp., 1993, Sunde, 1994).

Podobną budowę do izoformy komórkowej posiada osoczowa peroksydaza glutationowa (ang. plasma glutathione peroxidase, plGSHPx, EC 1.11.1.11) odkryta w osoczu krwi (Takahashi i wsp., 1987), homogenacie nerek (Yoshimura i wsp., 1980), mleku kobiecym (Avisar i wsp., 1994) oraz cieczy wodnistej oka (Huang i wsp., 1996), aczkolwiek jest ona, w odróżnieniu od cGSHPx - glikozylowanym białkiem. plGSHPx szczurów powstaje głównie w nerkach (Yoshimura i wsp., 1991), ponadto w płucach, sercu, najądrzach. Ludzka plGSHPx może być syntezowana przez komórki wątroby, łożyska, serca, mózgu, płuc, mięśni szkieletowych, trzustki i zapewne innych narządów, jednak największe ilości plGSHPx powstają - podobnie jak u szczurów - w nerkach. Analizy wykonywane metodą hybrydyzacji Northern wskazują na proksymalne kanaliki nerkowe i torebki ciała nerkowego jako najbardziej prawdopodobne miejsca wytwarzania i wydzielania enzymu przez nerki. Niewielka aktywność peroksydazy w osoczu rejestrowana u pacjentów beznerkowych może pochodzić od enzymu wytwarzanego w - innych niż nerki - narządach, które w takich warunkach mogą być stymulowane do wytwarzania i wydzielania enzymu.

Wreszcie źródłem aktywności enzymu w osoczu mogą być uszkodzone komórki, z których cGSHPx przenika do osocza (Avissar i wsp., 1994).

U osób zdrowych $37\pm4\%$ selenu w ludzkim osoczu wchodzi w skład tej izoformy GSHPx (Sataar i wsp., 1996), inni autorzy podają wartość znacznie niższą: $16\pm2,8\%$ (Huang i Åkesson, 1993). W cieczy wodnistej pacjentów operowanych ze względu na zaćmę, stężenie osoczowej peroksydazy glutationowej stanowi 18% stężenia tego enzymu w surowicy krwi (Huang i wsp., 1996).

plGSHPx, podobnie jak cGSHPx, jest tetramerem złożonym z czterech identycznych podjednostek o masie ok. 21,5-23,0 kDa, zawierających po jednym atomie selenu. W przypadku szczurów odpowiedni cDNA koduje 226 reszt aminokwasowych wchodzących w skład cząsteczki enzymu. Stała Michaelisa (K_m) dla reakcji plGSHPx z nadtlenkiem wodoru jest 10-krotnie niższa, a dla reakcji z organicznymi wodoronadtlenkami 30-krotnie niższa aniżeli odpowiednie wartości dla innych peroksydaz, co czyni tę formę bardziej efektywnym antyutleniaczem (Maddipati i Marnett, 1987).

plGSHPx odróżnia od komórkowej cGSHPx także odmienna reakcja na przeciwciała poliklonalne uzyskane z królików, przeciw cGSHPx uzyskanej z ludzkich erytrocytów. Przeciwciała te powodują wytrącenie całej cGSHPx zawartej w ludzkich erytrocytach oraz niemal całej zawartej w neutrofilach i płytkach krwi, podczas gdy plGSHPx nie jest przez nie wytrącana (Takahashi i wsp., 1987). To samo dotyczy przeciwciał przeciw plGSHPx: tylko plGSHPx jest przez nie strącana (ponad 90%). Enzym zawarty w osoczu przyłącza jodowaną konkanawalinę A. Reakcja taka nie zachodzi dla cGSHPx. plGSHPx wykazuje inną ruchliwość elektroforetyczną aniżeli izoforma komórkowa (Cohen i Avissar, 1994). Obie formy są syntezowane przez różne geny. Homologia reszt aminokwasowych w plGSHPx i komórkowej - ludzkiej lub zwierzęcej - GSHPx jest rzędu 40-50%. Homologia ludzkiej i szczurzej plGSHPx wynosi 90%.

plGSHPx odpowiada niemal za całą aktywność enzymatyczną osocza zorientowaną na redukcję wodoronadtlenków w tym medium. Wobec niewielkiego stężenia glutationu w osoczu nie jest jasne czy przeciwutleniająca rola plGSHPx jest główną funkcją tego enzymu w osoczu. Ok. 90% aktywności selenozależnej peroksydazy glutationowej zawartej w mleku kobiecym, oraz 50-75% aktywności enzymu zawartego w płucnym płynie płuczącym (gdzie stężenie glutationu wynosi 0,4 mM) również stanowi forma osoczowa tego enzymu. Nie jest wykluczone, że szczególnie ważnym miejscem wykorzystania enzymu są nerki, gdzie powstają jednocześnie duże ilości wolnych rodników i innych produktów stresu

oksydacyjnego (Cohen i Avissar, 1994). W normalnych warunkach nie stwierdza się obecności enzymu w moczu (Avissar i wsp., 1994).

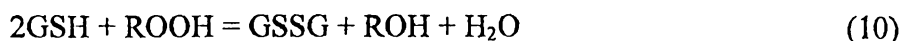
Czwarta forma - peroksydaza glutationowa nadtlenków fosfolipidów (phGSHPx, EC 1.11.1.12). Enzym został odkryty przez Ursiniego i wsp. w 1982 r. Jest on monomercem, zawierającym jeden atom selenu w jednej cząsteczce. Masa cząsteczkowa enzymu wynosi 18-20 kDa. Enzym występuje w różnych tkankach i narządach, m.in. w jądrach, ale (w wykrywalnych ilościach) tylko u osobników, którzy osiągnęli dojrzałość płciową. Aktywność phGSHPx w jądrach jest dwukrotnie wyższa niż w wątrobie, co może sugerować, że jest to główny selenoenzym występujący w jądrach (Sunde, 1994). Zarówno GSHPx jak i phGSHPx zawierają selen w centrum aktywnym i wykazują ten sam (pod względem kinetycznym) cykl katalityczny.

Obszar występowania selenocysteiny w cGSHPx i phGSHPx wykazuje wysoką homologię - aminokwasy w centrum aktywnym, wspólne dla obu izoform stanowią zdecydowaną większość w tym obszarze. Natomiast homologia całych łańcuchów cGSHPx i phGSHPx wynosi tylko 35%. W sercu myszy aktywność phGSHPx stanowi 20% całkowitej aktywności peroksydazy. Deficyt selenu powoduje spadek aktywności obu form peroksydazy do porównywalnych poziomów. Duże poziomy selenu w diecie powodują całkowite przywrócenie aktywności phGSHPx w sercu, ale nie cGSHPx (Sunde, 1994).

Istnieje forma cytozolowa (rozpuszczalna) i błonowa phGSHPx. Forma błonowa może być rozpuszczona za pomocą detergentów lub skombinowanego działania łagodnych detergentów oraz odczynników jonowych, co sugeruje, że enzym znajduje się w wewnętrznej warstwie i jest przyłączony dzięki oddziaływaniom elektrostatycznym. Obie formy wykazują znaczne podobieństwo w zakresie następujących cech: (1) ruchliwość elektroforetyczna, (2) reaktywność na przeciwciała, (3) przebieg fragmentacji, (4) specyficzność do substratów - zarówno tiolowych jak i nadtlenkowych. Z drugiej strony, wyniki uzyskane przy pomocy hydrofobowej interakcyjnej chromatografii oraz dwuwymiarowej elektroforezy z wybarwieniem monoklonalnymi przeciwciałami, wskazują na różnice pomiędzy obiema formami (Roveri i wsp., 1994a). Zawartość enzymu w błonach komórkowych oraz we frakcji rozpuszczalnej nie odpowiada rozkładowi jego aktywności. Dlatego poza pomiarem aktywności, zalecane jest również wykonanie testu ELISA. Między phGSHPx i wit. E występuje działanie synergistyczne: wit. E usuwa wolne rodniki lipidowe, tworząc przy tym wodoronadtlenki, które następnie są redukowane przez phGSHPx (Roveri i wsp., 1994b).

3.2.2. Reakcje katalizowane przez selenozależną peroksydazę glutationową

Selenozależna peroksydaza glutationu katalizuje reakcje redukcji nadtlenu wodoru (9) oraz nadtlenczków organicznych (10):



GSHPx wykazuje aktywność 1/2 cząsteczki GSH na jedno miejsce wiążące. W trakcie reakcji miejsca wiążące przestają być równouprawnione i tracą symetrię. Protomery nie działają więc jako odrębne całości (Epp i wsp., 1983). W trakcie reakcji redukcji nadtlenczków do mniej aktywnych alkoholi lub wody, Se w GSHPx zmienia stopnie utlenienia przechodząc od formy selenolowej (E-SeOH) poprzez formę kwasu selenenowego (E-SeOH) do postaci najbardziej utlenionej - kwasu seleninowego (E-SeOOH). Reakcja ma mechanizm ping-pongowy, w którym produkt jest uwalniany z kompleksu z enzymem, zanim następny substrat (nadtlenczek organiczny lub nadtlenczek wodoru) wejdzie w interakcję z enzymem. Redukcja utlenionych form enzymu za pomocą glutationu prowadzi do produktów pośrednich typu enzym-glutation (E-SeSG), w których występuje wiązanie selenosiarkowe. Jedynymi zidentyfikowanymi dotychczas formami pośrednimi enzymu są: E-SeH i E-SeSG, pozostałe mają znaczenie hipotetyczne, aczkolwiek wyniki analiz krystalograficznych wskazują na istnienie E-SeOOH (Epp i wsp., 1983). Związki te ulegają kolejnemu tioalkilowaniu glutationem. Rozerwaniu ulega wówczas wiązanie selen-siarka co prowadzi do odtworzenia form wyjściowych peroksydazy (odpowiednio): formy selenolowej lub formy kwasu selenenowego. Jednocześnie powstaje utleniony glutation GSSG. Utleniona wskutek reakcji z nadtlenczkami, peroksydaza, powraca więc - poprzez dwa kolejne etapy redukcji glutationen - do formy zredukowanej (za Combs i Combs, 1986).

Inny model przemian selenozależnej peroksydazy glutationowej, oparty na rozważaniach kinetycznych, w którym wykluczono kwas selenenowy na rzecz cyklicznej formy E-Se-S, przedstawiony został przez Chaudiere i wsp. (1984).

W przeciwieństwie do cyklu redoks niskocząsteczkowych związków selenu, w cyklu selenozależnej peroksydazy glutationowej nie stwierdzono występowania rodników jako produktów pośrednich (Chaudiere i wsp., 1992). Wobec nadmiaru glutationu w tkankach, reakcje redukcji utlenionych form peroksydazy zachodzą natychmiast po jej utlenieniu, dzięki

czemu selen występuje w warunkach fizjologicznego poziomu jonów wodorowych - jak to zostało wspomniane wcześniej - głównie w formie selenolowej (Epp i wsp., 1983).

Selenozależna peroksydaza glutationowa, w odróżnieniu do innych peroksydaz, nie jest hamowana przez cyjanki, o ile występuje w formie zredukowanej (Prohaska i wsp., 1977, Sunde, 1994). W przeciwnym razie możliwa jest reakcja, która powoduje uwolnienie selenu z cząsteczki i utratę aktywności przez enzym. Taka inaktywacja jest zależna od czasu reakcji, temperatury, stężenia cyjanku i pH. Własności te wynikają z braku hemu oraz innej grupy prostetycznej. Nie stwierdzono również współdziałania GSHPx z koenzymami flawinowymi (Deshpande i wsp., 1996). Próbkki zawierające nieoczyszczony enzym (np. próbki osocza) są odporne na hamujące działanie cyjanków, używanych np. do inhibicji katalazy podczas oznaczania aktywności GSHPx (Prohaska i wsp., 1977). Ponadto, następujące związki nie hamują enzymu: NaN_3 , KOCN , KSCN , KSeCN , KBr , KI , β -aminopropionitryl. Enzym w formie zredukowanej, jest natomiast inaktywowany przez jodooctan, dzięki reakcji z resztą selenocysteinową, oderwania tej reszty wraz z selenem i utworzenia pochodnych karboksymetylowych (Forstrom i wsp., 1978). Podobnie reaguje chlorooctan. GSHPx jest wrażliwa (podobnie jak IDI) na hamujące działanie tioglukozy złota (ang. aurothioglucose, ATG). Kwasy merkaptokarboksylowe również wykazują inhibujące działanie, konkurując z glutationem o przyłączenie do GSHPx (za Combs i Combs, 1986).

cGSHPx redukuje zarówno nadtlenek wodoru jak i organiczne wodoronadtlenki (Shamberger, 1983). Wykazuje natomiast dużą specyficzność wobec glutationu, który jest jedynym źródłem wodorów w tych reakcjach. cGSHPx nie akceptuje innych donorów, takich jak gwajakol lub benzydyna, które uczestniczą w reakcjach peroksydaz niezależnych od selenu. Organiczne wodoronadtlenki pochodzą z reakcji utleniania nienasyconych fosfolipidów błony komórkowej oraz metabolizmu ksenobiotyków, do których należą niektóre leki, insektycydy, chlorowcowe pochodne węglowodorów. Sądzi się, że GSHPx w cytozolu ochrania błonę cytoplazmatyczną a GSHPx w matriks mitochondrialnej - błonę organelłową (Combs i Combs, 1984).

phGSHPx cechuje zdolność metabolizowania wodoronadtlenków fosfolipidów, w tym wodoronadtlenku fosfatydylocholiny, który nie jest substratem klasycznej selenozależnej peroksydazy glutationowej. phGSHPx przejawia również aktywność w stosunku do wodoronadtlenków cholesterolu i jego estrów oraz wodoronadtlenków kumenu, t-butyłu i nadtlenu wodoru (trzy ostatnie związki są jednak redukowane znacznie mniej efektywnie). Tylko phGSHPx jest stymulowana działaniem detergentów, np. Tritonu X-100. phGSHPx

wykazuje większą odporność na deficyt selenu a także szybciej powraca do normalnej aktywności ze stanu deficytu tego pierwiastka w organizmie - aniżeli GSHPx. Aktywność phGSHPx w reakcji z nadtlenkiem wodoru wynosi 1/15, a w reakcji z nadtlenkiem t-butyłu 1/10 aktywności cGSHPx. Jednak aktywność phGSHPx w reakcji z wodorotlenkiem fosfatydylocholiny jest 3,5 wyższa niż w reakcji z nadtlenkiem wodoru (Sunde, 1994). W odróżnieniu do cGSHPx, specyficzność tiolowa phGSHPx obejmuje wiele związków (oprócz glutationu): 2-merkaptetoetanol, ditioerytritol (DTE) i cysteina (za Zachara, 1992).

3.3. Dejodazy jodotyroniny

3.3.1. Uznanie dejodazy jodotyroniny typu I za selenoenzym

Odkrycie, iż dejodaza jodotyroniny typu I zawiera selenocysteinę w centrum aktywnym, zostało dokonane pod koniec roku 1990 niemal równocześnie przez trzy grupy badaczy: (1) J. R. Arthur i współpracownicy (Rowett Research Institute, Aberdeen), (2) D. Behne i współpracownicy (Hahn-Meitner-Institut, Berlin), (3) M. Berry i współpracownicy (Howard Hughes Medical Institute Laboratory and the Thyroid Division, Boston). Behne i wsp. (1990) wykluczyli bezpośredni wpływ GSHPx na aktywność IDI a następnie ustalili identyczność IDI i wykrytego wcześniej selenoenzymu (oznaczanego dotąd jako protein No.7). Badania swoje prowadzili w oparciu o elektroforezę żelową w obecności dodecylsulfianu sodowego (SDS-PAGE), po której wykonano autoradiografię. Selenoenzym był znakowany ^{75}Se oraz $\text{BrAc}^{125}\text{IT4}$ w metodzie powinowactwa. Identyczność potwierdzona została również analizą autoradiograficzną fragmentów porównywanych enzymów, uzyskanych poprzez rozcinanie łańcuchów peptydowych bromocyjanem lub trypsyną. Stosując technikę *Xenopus oocyte expression*, Berry ze współpracownikami dokonali klonowania zawartej w wątrobach szczurów IDI. Analogicznie jak w przypadku peroksydazy glutationowej, tak i dla tego enzymu odkryto istnienie kodonu UGA w mRNA, służącemu wbudowaniu selenocysteiny do łańcucha polipeptydowego.

Odkrycie, iż selen jest niezbędny w metabolizmie hormonów tarczycy decyduje o szczególnym charakterze interakcji pomiędzy tym pierwiastkiem i jodem.

3.3.2. Metabolizm hormonów tarczycy .

W gruczole tarczycy wytwarzany jest w dużych ilościach nadtlenek wodoru, który służy jako utleniacz w przemianie jodków do jodu katalizowanej przez tyreoperoksydazę (TPO). Oksydaza katalizująca syntezę H_2O_2 zużywa NADPH jako koenzym. Przy

spożywaniu jodu w prawidłowych ilościach, wytwarzanie H_2O_2 jest etapem limitującym syntezę hormonów tarczycy. Na proces ten najsilniej wpływa stężenie TSH w osoczu. Hormon ten, poprzez cAMP i kaskadę kinaz białkowych, może powodować: (1) zwiększenie wartości stosunku stężeń $NADP^+/NADPH$, przyczyniając się do wzrostu aktywności cyklu pentożowego, oraz (2) wzrost poziomu mRNA dla IDI i poziomu mRNA dla innych selenoenzymów w tarczycy, co stanowi specyficzny dla tarczycy mechanizm regulacji aktywności selenoenzymów (Corvilain i wsp., 1991, Bermano i wsp., 1996).

W cząsteczce tyreoglobuliny zachodzi połączenie wytwarzanego jodu z resztami tyrozyny, dając jako produkty mono- i diiodotyrozyny, sprzęgane dalej do jodotyronin T3 i T4. Reakcje utleniania są katalizowane enzymatycznie i zachodzą w przestrzeni pozakomórkowej. Uwolniony, w wyniku hydrolizy tyreoglobuliny, prekursor hormonu tarczycy - 3,3',5,5'-tetrajodo-L-tyronina, może ulec odjodowaniu do: (1) aktywnej 3,3',5-trijodo-L-tyroniny, poprzez usunięcie jodu z pozycji 5' (z pierścienia fenolowego), (2) nieaktywnej, izomerycznej 3,3',5'-trijodo-L-tyroniny (rT3) - poprzez usunięcie jodu z pozycji 5 (z pierścienia tyrozyłowego). Reakcje te są katalizowane przez dejodazy jodotyroniny (Arthur i wsp., 1993a). Rozróżnia się dejodazy typu I, II i III. Uważa się powszechnie, że w tkankach obwodowych (szczurów i ludzi) powstaje - wskutek odjodowania - ok. 80% zawartego w osoczu hormonu T3, natomiast w tarczycy ok. 20-30% (Beckett i wsp., 1993). Inne proporcje znaleziono w pracy Chanoine'a i wsp. (1993). Wg. tych autorów, dzięki dejodacji tylko 20% T3 powstaje w tkankach obwodowych, a w tarczycy co najmniej 55% T3. IDI w wątrobie odpowiada także za klirens T3 i rT3 z surowicy (Köhrle, 1994).

Przy niedoczynności tarczycy, aktywność IDI w wątrobie spada. Ten sam efekt występuje w zespole niskiej trijodotyroniny oraz deficycie selenu, natomiast przy nadczynności tarczycy lub dodatkowej podaży hormonów tarczycy aktywność IDI podwyższa się (Köhrle, 1994). Również dawki selenu, wyższe od zalecanych (począwszy od 350 μg /dobę), zastosowane u ludzi, prawdopodobnie powodują zahamowanie aktywności enzymu, czego odbiciem jest spadek poziomów całkowitej i wolnej trijodotyroniny (Hawkes i wsp., 1996, Brätter i wsp., 1996). Aktywność IDI w tarczycy szczurów jest kontrolowana przez poziom TSH w osoczu. Istnieją przesłanki by sądzić, że poziom mRNA dla innych selenoenzymów (GSHPx, PHGPx) w tarczycy również zależy od stężenia TSH (Bermano i wsp., 1996). W wątrobie i nerkach aktywność enzymu zależy silnie od suplementowania związkami selenu (Arthur i Beckett, 1994a). W nowotworach tarczycy u ludzi - zwłaszcza

anaplastycznym i rdzeniastym - oraz w mniejszym stopniu w przypadku nowotworów - pęcherzykowego i brodawkowego, aktywność enzymu spada poniżej normalnych wartości lub nawet poniżej poziomu detekcji. W ludzkich komórkach tarczycy nie stwierdzono korelacji pomiędzy aktywnością IDI i GSHPx (Köhrle i wsp., 1996). Wychwyt i retencja selenu przez ludzkie tyrocyty (w kulturze) jest procesem zależnym od temperatury (są one wyższe w wyższej temperaturze), co sugeruje, że u ich podłoża leży proces wymagający energii (Beech i wsp., 1993).

Badania przeprowadzone *in vitro* na ludzkich tyreocytach wykazały, że czynnikiem najsilniej wpływającym na aktywność IDI w tarczycy jest TSH. W obecności tego hormonu (i tylko pod tym warunkiem) możliwa jest dalsza modulacja aktywności enzymu poprzez podaż selenianu(IV) (Beech i wsp., 1995).

3.3.3. Biochemiczna charakterystyka dejodazy jodotyroniny typu I

Masa zidentyfikowanego enzymu wynosi 27,0-27,8 kDa. Masa dimerycznego holoenzymu wynosi 52 kDa. Enzym ten - podobnie jak dejodazy typu II i III - jest zlokalizowany we frakcji mikrosomalnej. Zawiera on jeden atom selenu w każdej podjednostce holoenzymu. W centrum aktywnym znajdują się: selenocysteina (w pozycji 126 łańcucha polipeptydowego) i histydyna w pozycji 174 lub 158. Miejsce wiążące ligandy w IDI wykazuje duże podobieństwo do miejsca wiążącego T4 w prealbuminie wiążącej tyroksynę, różni się natomiast od miejsc wiążących w globulinie wiążącej tyroksynę oraz w receptorach jądrowych.

U szczurów, dejodaza jodotyroniny typu I zawarta jest głównie w wątrobie, nerkach, tarczycy. Występuje także w przysadce mózgowej (przy prawidłowej czynności tarczycy), błonach płodowych, gruczołach mlecznych ssaków, mięśniu sercowym, mięśniach szkieletowych, płucach, trzustce, śledzionie, jelitach, skórze, jądrzastych komórkach krwi, białej i brązowej tkance tłuszczowej, gruczołach ślinowych. W komórkach wątroby enzym występuje w siateczce śródplazmatycznej. Komórkowa lokalizacja w tarczycy nie jest znana.

Enzym katalizuje obie wymienione wcześniej reakcje odjodowania T4 a także odjodowanie T3 i rT3 do 3,3'-T2. K_m dla T4 jako substratu wynosi 1×10^{-6} M, a dla rT3 jest równa 6×10^{-9} M. Dzięki temu specyficzność IDI w wymienionych reakcjach spada w następującym porządku: rT3 >> T4 >> T3. Substratami IDI są również: tetrac (kwas L-3,5,3',5'-tetrajodotyreoctowy), triac (kwas L-3,5,3'-trijodotyreoctowy, pochodne związane z grupą

karboksylową jodotyronin lub 4'-O-siarczany jodotyronin. IDI nie katalizuje debrominacji ani dehalogenizacji innych halogenów poza jodem (za Köhrle, 1994). Analogicznie do reakcji katalizowanych przez selenozależną peroksydazę glutationową, reakcja odjodowania przebiega wg. mechanizmu ping-pong. Dejodaza reaguje najpierw z jodotyroniną T4 - z wytworzeniem odjodowanej jodotyroniny T3 i kompleksu dejodazy z jodem. Regeneracja aktywnego enzymu z kompleksu następuje wskutek reakcji z niezidentyfikowanym kofaktorem tiolowym, najprawdopodobniej jest to glutation. Jeśli enzym reaguje wg. mechanizmu samobójczego, który również nie jest wykluczony, obecność kofaktora jest zbędna. Biologiczny czas połowicznego zaniku dla IDI u szczurów jest rzędu 20-30 godzin, obrót metaboliczny wynosi 830 cząsteczek na minutę. U ludzi obrót metaboliczny wynosi 670 cząsteczek na minutę. W stosunku do metabolicznych możliwości enzymu, tyroksyna i inne jodotyroniny występują w dużym niedomiarze (Köhrle, 1994). Obecność fosfolipidów jest niezbędna dla zachowania aktywności enzymu. Aktywność ta hamowana jest działaniem następujących związków: ATG, 6-propylo-2-tio-uracyl (ang. 6-propyl-2-thio-uracil, PTU³), kwas jopanowy (kwas 3-[3-amino-2,4,6-trijodofenyl]-2-etylopropanowy), amiodaron (2-butylo-3-benzofuranylo-4-[2-(dietyloamino)etoksy]-3,5-dijodofenyl-keton), R-propranolol oraz flawonoidy, np. luteolina, EMD 21388. ATG jest bardziej specyficznym inhibitorem aniżeli PTU, który tworzy stabilne selenosiarczki z utlenioną formą IDI, natomiast ATG reaguje już z formami zredukowanymi. DTT lub DTE działają in vitro stymulująco na IDI i są niezbędne podczas pomiarów aktywności enzymu (Fekkes i wsp., 1983, Visser i wsp. 1978, Köhrle, 1994). In vivo podobne skutki są obserwowane przy diecie bogatej w węglowodany. Mechanizm leżący u podłoża tych zjawisk jest nieznany.

3.3.4. Dejodaza jodotyroniny typu II

Dejodaza jodotyroniny typu II (ang. type-II iodothyronine deiodinase, IDII) sklonowana z tkanki gadów jest selenoenzymem (Davey i wsp., 1995). Natomiast u ssaków, obecność selenocysteiny w cząsteczce enzymu nie jest ostatecznie udowodniona (Köhrle i wsp., 1996). Enzym ten posiada masę cząsteczkową równą 200 kDa, w tym podjednostka wiążąca substrat 29 kDa. Biologiczny okres półtrwania dla IDII u szczurów jest rzędu minut do godzin. Enzym, związany jest z błonami mikrosomalnymi, wytwarza T3 z T4 w korze

³ Terapeutyczne zastosowanie PTU i pochodnych tiouracylu jako tyreostatyków jest oparte głównie na inhibującym działaniu, jakie związki te wywierają na TPO, a tylko w części na inhibowaniu IDI w tkankach obwodowych (Köhrle, 1994).

mózgu, przysadce mózgowej, brązowej tkance tłuszczowej i łożysku. W przeciwieństwie do T3 produkowanej przez IDI i wydzielanej do krążenia, T3 wytwarzana przez IDII pozostaje w komórkach (ok. 50% T3 powstaje w ten sposób, reszta pochodzi z krążenia). Poprzez jądrowe receptory T3 w przysadce mózgowej ma to oczywiście znaczenie dla wytwarzania i wydzielania TSH. Podczas deficytu selenu, aktywność IDII spada, co jest spowodowane wzrostem T4 w osoczu. Tak samo zmienia się aktywność enzymu podczas nadczynności tarczycy, wzrasta natomiast podczas niedoczynności. Reakcja odjodowania, katalizowana przez ten enzym ma mechanizm sekwencyjny, niedokładnie jeszcze poznany. PTU, w stężeniach inhibujących IDI, nie wywiera wyraźnego wpływu na aktywność IDII, podobnie jak ATG. Natomiast bardziej skutecznymi inhibitorami IDII są: kwas jodoctowy, sole kwasu jopanowego, analogi jodotyroniny. Specyficzność IDII jest zbliżona dla T4 i rT3. Jądrowe receptory T3 nie mają wpływu na aktywność tego enzymu. Podobnie jak IDI, również IDII może być znakowana N-bromoacetylo-pochodnymi jodotyronin (za Köhrle, 1994).

3.3.5. Dejodaza jodotyroniny typu III

Dejodaza jodotyroniny typu III (ang. type-III iodothyronine deiodinase, IDIII), jest selenoenzymem o słabiej poznanej budowie cząsteczkowej. Enzym powoduje degradację T3 do T2 oraz T4 do rT3. Substratami reakcji katalizowanej przez IDIII mogą być również siarczanowe koniugaty T4, T3 oraz dijodo- i monojodotyroniny. Specyficzność enzymu w stosunku do T3 i T4 jest podobna. Reakcja odjodowania, katalizowana przez ten enzym ma mechanizm sekwencyjny. Enzym zlokalizowany we frakcji mikrosomalnej, wymaga obecności fosfolipidów dla zachowania aktywności katalitycznej. Hamująco działają na niego pochodne kwasu jopanowego oraz mniej efektywnie PTU i ATG. Enzym wykazuje aktywność w centralnym układzie nerwowym, łożysku i w większości innych tkanek, z wyjątkiem przedniego płata przysadki. Aktywność IDIII przejawiają również komórki nowotworowe: wątroby, tylnego płata przysadki, skóry, okrężnicy. Aktywność enzymu maleje podczas niedoczynności tarczycy, wzrasta podczas nadczynności oraz nie wykazuje zasadniczych zmian przy silnym deficycie selenu lub w zespole niskiej trijodotyroniny (Köhrle, 1994, Esfandiari i wsp., 1992).

3.4. Inne selenobiałka i związki wielkocząsteczkowe zawierające selen

Pojęcie "selenobiałka" obejmuje białka, które zawierają selen nieusuwalny z cząsteczki za pomocą techniki SDS-PAGE, poprzedzonej redukcją i gotowaniem. Natomiast białka łatwiej tracące ten pierwiastek, określane są mianem "białek-wiążących-selen" (ang. selenium-binding-proteins). Ważniejsze selenobiałka i „białka-wiążące selen” zebrano w Tabeli 1.

Tabela 1. Selenobiałka i „białka-wiążące selen”.

Nazwa lub masa cząsteczkowa	Występowanie w organizmie	Piśmiennictwo
<u>Selenobiałka</u>		
Selenobiałko P	osocze	Herrman 1977, Hill i Burk, 1994
Selenobiałko W	mięśnie	Vendeland i wsp., 1993
[Se]MCP	jądra, sperma	Kleene 1994
15 kDa	prostata	Behne i wsp., 1996
34 kDa	jądra	Behne i wsp., 1996
Reduktaza tioredoksynowa	wszystkie tkanki	Liu i Stadtman, 1997
<u>„Białka-wiążące selen”</u>		
14kDa	wszystkie tkanki	Sinha i wsp., 1993
56 kDa		
58 kDa		

Istnieją również enzymy występujące u niższych organizmów (*Schistosoma mansoni*, *Chlamydomonas reinhardtii*, *Euglena gracilis*) zawierające selen (lub niezależne od selenu), które wykazują stosunkowo wysoką homologię sekwencji aminokwasowych z ludzką cGSHPx (powyżej 30%). Świadczyć to może o ewolucyjnej adaptacji organizmów do środowiska tlenowego. Selen został odkryty również w niektórych zasadach kwasów tRNA, zarówno u prokariotów jak i eukariotów. Faktu tego nie skojarzono dotychczas z żadną funkcją biochemiczną selenu (Stadtman, 1987b).

Pewne efekty związane ze zmianą statusu selenowego badanych zwierząt (metabolizowanie leków w wątrobie, modyfikacja toksycznego działania herbicydów, zmienione funkcje białych krwinek obojętnochłonnych) nie zostały dotychczas przypisane poznanym już selenoenzymom (Arthur i Beckett, 1994b)

4. SPOŻYCIE SELENU

4.1. Zawartość selenu w żywności

Selen pobierany jest głównie drogą pokarmową. Podstawowe źródła selenu w diecie to: zboża (36%⁴), mięso, przetwory mięsne, jaja (w sumie 30%), produkty mleczarskie (14%), ryby i skorupiaki (4%). Udział owoców w dobowym dowozie selenu jest niewielki - dostarczają one poniżej 10% selenu (Veer i wsp., 1990). Zawartość Se w wybranych artykułach spożywczych podano w Tabeli 2.

Tabela 2. Zawartość selenu [$\mu\text{g/kg}$ suchej masy] w wybranych artykułach spożywczych w niektórych krajach europejskich (na podstawie: Kumpulainen i wsp., 1996, Stacchini i wsp., 1989).

Artykuł spożywczy	Kraj	
	Niemcy*	Włochy
jaja	863	409
drób	573	29
mięso wieprzowe	502	62
mięso wołowe	214	34
mleko w proszku	58	-
chleb	34	77
ryż	11	10
ryby i skorupiaki	-	670
ser podpuszczkowy	-	90

* - po okresie suplementowania pasz zwierzęcych

W gatunkach ryb takich jak: pstrąg, makrela, łupacz, wilk morski, stężenie Se jest rzędu 280 $\mu\text{g/kg}$, jednak niska dostępność biologiczna pierwiastka zawartego w rybach czyni

⁴ Podany procent wyraża udział danego składnika w dobowym spożyciu selenu, na podstawie badań w Holandii; w innych krajach procent ten może być zupełnie odmienny, np. w Kanadzie udział zbóż w dziennym dowozie pierwiastka wynosi 75%, w Finlandii poniżej 10% (WHO, 1996).

je mało znaczącym źródłem selenu (Meltzer i wsp., 1993). Łatwiej wchłaniany jest selen w krewetkach, krabach, śledziach bałtyckich (WHO, 1996).

Dla różnych gatunków grzybów, zebranych w Finlandii w roku 1993, zakres wartości średnich [$\mu\text{g Se/kg}$ suchej masy] wynosił 50-9500 (Merja i wsp., 1996). Również wysokie stężenia Se, rzędu od kilku do kilkudziesięciu mg/kg odkryto w niektórych gatunkach orzechów hodowanych w krajach Ameryki Łacińskiej: *Lecythis ollaria* (Wenezuela), *Lecythis elliptica* (Honduras), *Lecythis paraensis* (Brazylia) (za IPCS, 1987). Dostępność biologiczna selenu z orzeszków brazylijskich dochodzi do ponad 90% (za WHO, 1996).

Inne źródła selenu (woda, powietrze) mają mało znaczący udział w dobowej podaży, rzędu kilku μg . Gotowanie niektórych warzyw oraz smażenie potraw mięsnych może powodować straty na skutek powstawania i wydzielania się lotnych związków selenu. Straty mogą dochodzić do kilkudziesięciu procent. Przemysłowe mielenie ziaren zbóż obniża zawartość pierwiastka o 10-30% (za IPCS, 1987).

Zawartość selenu, nawet w tym samym rodzaju żywności pochodzenia roślinnego, jest zależna od obecności pierwiastka w środowisku, w którym ją wyprodukowano. Kukurydza wyhodowana na terenach Chin, gdzie występuje chroniczna selenoza, zawiera średnio 8100 $\mu\text{g Se/kg}$, wyższe wartości występują w Wenezueli, natomiast na terenach Chin ubogich w pierwiastek - kukurydza zawiera tylko 5 $\mu\text{g Se/kg}$ (IPCS, 1987). Selen w ziarnach pszenicy, mące pszennej, kukurydzy i ziemniakach występuje w krajach europejskich często na poziomie poniżej 10-35 $\mu\text{g/kg}$ (Szwecja, Norwegia, Niemcy, Serbia), ale już w mące pszennej wzbogaconej przez 30-procentowy dodatek amerykańskiej mąki z terenów selenonośnych (zawierającej od 260 do 600 $\mu\text{g Se/kg}$) sięga wartości ponad 200 $\mu\text{g/kg}$ (Szwajcaria) (Hansson i wsp., 1994, Kumpulainen, 1993, Maksimović i wsp., 1992). Chleb z niską zawartością fenyloalaniny, przeznaczony dla chorych na fenyloketonurię (PKU) zawiera 2 $\mu\text{g Se/kg}$ suchej masy, zwykły biały chleb - 15 $\mu\text{g Se/kg}$ suchej masy (McKenzie i wsp., 1978). Dzięki importowi amerykańskiego zboża do Norwegii, obywatele tego państwa mają najwyższe w Europie stężenia selenu w surowicy (średnie wartości w przedziale 110 - 127 $\mu\text{g Se/L}$) (Meltzer i wsp., 1990).

Osobnym problemem jest niska zawartość selenu w odżywkach dla dzieci. W preparatach wyprodukowanych na bazie mleka krowiego wynosi ona 3,5 $\mu\text{g/L}$ (mediana z 16 wyników dla różnych odżywek) (Tiran i wsp., 1993a), co stanowi 11-35% przeciętnej zawartości selenu w ludzkim mleku. Wpływ na to mają dwie okoliczności: 1) niska zawartość Se w mleku krowim (niższa w porównaniu z innymi mikroelementami); 2) straty selenu

podczas pasteryzacji. W porównaniu z modyfikowanym mlekiem krowim, wyższą zawartość selenu znaleziono w odżywkach produkowanych z soi, serwatki (Alaejos, Romero, 1995) lub mięsa (IPCS, 1987). Tiran i wsp. (1993b) nie stwierdzili różnicy zawartości selenu w odżywkach przeznaczonych dla dzieci w wieku 0-3 miesiące i dla dzieci starszych. Oczywistym skutkiem mniejszej zawartości Se w odżywkach w stosunku do mleka ludzkiego jest mniejsze spożycie pierwiastka przez dzieci nie karmione piersią, co odbija się następnie na jego znamienne niższym stężeniu w osoczu tych dzieci (Alaejos i Romero, 1995). Dieta białkowa oparta na białku jaja kurzego zawiera więcej selenu aniżeli dieta oparta na hydrolizatach kazeinowych. Bardzo niewielkie ilości selenu zawierają płyny stosowane w odżywianiu parenteralnym (IPCS, 1987).

4.2. Zalecane i rzeczywiste spożycie selenu

Zalecane dawniej dobowe spożycie selenu dla osób dorosłych wahało się w granicach 50-250 μg Se/dobę i stanowiło ekstrapolacją wyników uzyskanych w badaniach na zwierzętach (za Levander i Whanger, 1996). Bardziej szczegółowe wartości podane zostały przez Food and Nutrition Board of US National Research Council (1989). Dla dzieci zaleca się tam 20-50 μg Se/dobę, zaś dla kobiet i mężczyzn odpowiednio - 55 μg Se/dobę i 70 μg Se/dobę⁵ (dla szczupłych osób odpowiada to ok. 1 μg /1 kg masy ciała). Liczby te oparte są głównie na badaniach Levandera i Morrisa (1984) nad zbilansowaniem spożywanego i wydalanego selenu oraz na badaniach Yanga i wsp. (1989). W tych ostatnich przyjęto jako kryterium poziom selenu w diecie zapewniający maksymalną aktywność peroksydazy glutationowej w osoczu, a wartości tak uzyskane pomnożono przez czynnik bezpieczeństwa (uwzględniający różnice w indywidualnym zapotrzebowaniu na Se) równy 1,3 oraz czynnik uwzględniający różnicę masy ludzi żyjących w Chinach i w USA. W trzecim trymestrze ciąży oraz w okresie laktacji, dodatkowe spożycie selenu powinno wzrosnąć odpowiednio o wartości 18 μg /dobę i 16 μg /dobę. Wartości te oparte są o badania zawartości selenu w mleku kobiet i tkankach płodu w Ameryce Północnej.

Litov i Combs (1991) proponują dla dzieci w wieku 7-10 lat 25-35 μg Se/dobę a dla dzieci w wieku 11-14 lat 40-55 μg Se/dobę. Dawki rekomendowane przez The Standing Nordic Committee on Food's Nordic Nutrition Recommendations wynoszą w tych samych przedziałach wiekowych, odpowiednio: 20-30 μg Se/dobę, 30-60 μg Se/dobę. The British

⁵ Rozróżnienie to wynika z założenia o mniejszej masie ciała kobiet.

Panel on Dietary Reference Values zaproponował 75 μg Se/dobę dla mężczyzn i 60 μg Se/dobę dla kobiet. Niemieckie Towarzystwo Żywnościowe uważa za wystarczające spożycie selenu w zakresie 20-100 μg Se/dobę dla osób powyżej 10 roku życia (za Levander i Whanger, 1996).

Normy zapotrzebowania na selen dla ludności Polski, opracowane w Instytucie Żywności i Żywienia w Warszawie (Ziemlański i wsp., 1995), podano w Tabeli 3.

Tabela 3. Normy zapotrzebowania na selen dla ludności Polski.

Grupy ludności	Dobowe zapotrzebowanie na selen [μg Se/dobę]	
	Poziom bezpieczny	Norma zalecana
Dziewczęta 10-12 lat	40	45
Dziewczęta >12 lat i kobiety	50	60
Kobiety ciężarne	60	65
Kobiety karmiące	70	75
Chłopcy 10-12 lat	40	45
Chłopcy 13-15 lat	50	60
Chłopcy >15 lat i mężczyźni	60	70

W Raporcie Grupy Ekspertów WHO/FAO/IAEA z 1996 roku rozróżnia się podstawowe (minimalne) zapotrzebowanie na Se, niezbędne dla uniknięcia klinicznych objawów choroby Keshan, równe dla mężczyzn - 21 μg /dobę i dla kobiet - 16 μg /dobę. Ponadto wprowadza się zapotrzebowanie prawidłowe, niezbędne dla uzyskania 2/3 maksymalnej wartości aktywności peroksydazy glutationowej w osoczu, równe - odpowiednio - 40 μg /dobę i 30 μg /dobę. Wartości powyższe uwzględniają 16% współczynnik zmienności osobniczej związanej z pobieraniem tego pierwiastka. Dla niemowląt (0-3 miesiąca życia) ekstrapolowane wartości wynoszą 3 μg /dobę (zapotrzebowanie podstawowe) i 6 μg /dobę (zapotrzebowanie prawidłowe). U kobiet w okresie ciąży zapotrzebowanie podstawowe wynosi 18 μg /dobę, zapotrzebowanie prawidłowe jest równe 39 μg /dobę. W rocznym okresie laktacji zapotrzebowanie podstawowe wzrasta od 21 μg /dobę do 26 μg /dobę, zapotrzebowanie prawidłowe wzrasta od 42 μg /dobę do 52 μg /dobę (WHO, 1996).

Niedobory pierwiastka w populacjach ludzi zdrowych wynikają z małej zawartości Se w lokalnych artykułach spożywczych albo ze spożywania głównie tych artykułów, które zawierają niewielkie ilości tego mikroelementu. Zapotrzebowanie na selen uzależnione jest w

pewnym stopniu od wcześniejszego (uwarunkowanego środowiskowo) spożywania tego pierwiastka i może być nieco mniejsze od zalecanego (Levander, 1989). Dla przykładu: w Wenezueli dobowe spożycie selenu u dorosłych waha się w granicach 80-500 $\mu\text{g}/\text{dobę}$ (Brätter i wsp., 1993), w Nowej Zelandii 5-70 $\mu\text{g}/\text{dobę}$ (McKenzie i wsp., 1978), we Francji 40 - 60 $\mu\text{g}/\text{dobę}$ (Simonoff i wsp., 1988), w Szwecji ok. 38 $\mu\text{g}/\text{dobę}$ (Kumpulainen, 1993), w USA 60-216 $\mu\text{g}/\text{dobę}$, w ubogich w selen rejonach Chin 7-11 $\mu\text{g}/\text{dobę}$ (za Litov i Combs, 1991). Pobranie Se przez niemowlęta karmione piersią, na terenach selenonośnych, przekracza 200 $\mu\text{g}/\text{dobę}$, natomiast na terenach ubogich w selen - spada poniżej 3 $\mu\text{g}/\text{dobę}$ (Alaejos i Romero, 1995). We Francji najwyższe spożycie Se odnotowano u farmerów, 59,5 $\mu\text{g}/\text{dobę}$, najniższe u pracowników z wyższym wykształceniem, 39,8 $\mu\text{g}/\text{dobę}$ (Simonoff i wsp., 1988).

Dobowe spożycie Se w skali całej populacji można zwiększyć poprzez bezpośrednie suplementowanie ludzi związkami selenu (np. selenianem(IV) sodu, selenometioniną) lub dodając te związki do nawozów sztucznych, pasz lub bezpośrednio zwierzętom w postaci iniekcji domięśniowych. W przypadku przeżuwaczy stosuje się również tabletki, które rozpuszczając się powoli w przedżołądku zwierzęcia, zapewniają ciągłą infuzję selenu w dłuższym okresie (Oldfield, 1987). W Finlandii, gdzie po raz pierwszy dodano związki selenu do nawozów sztucznych, dobowe spożycie selenu przez ludzi wzrosło z 30 μg w roku 1976 do 113 μg w roku 1987 a stężenie Se w mleku matek karmiących wzrosło z 6 $\mu\text{g}/\text{L}$ do 15 $\mu\text{g}/\text{L}$ (Kumpulainen, 1993). Tę samą tendencję dla mieszkańców Finlandii, wyrażoną nieco innymi liczbami podają Mussalo-Rauhamaa i wsp. (1993): wzrost spożycia z 12-23 $\mu\text{g}/\text{dobę}$ w roku 1980 do 69-82 $\mu\text{g}/\text{dobę}$ w roku 1986, zaś wzrost stężenia Se w osoczu w różnych grupach wiekowych o średnio 45%.

Obliczanie spożycia selenu oparte na krótkoterminowych (jedno- lub kilkudniowych) obserwacjach może być obarczone błędem dochodzącym do 90%. Zalecane są obserwacje ok. trzytygodniowe (WHO, 1996).

5. WYNIKI OZNACZEŃ STĘŻENIA Se I AKTYWNOŚCI GSHPx

5.1 Stężenie selenu w pełnej krwi

U zdrowych, dorosłych osób stężenie selenu w pełnej krwi waha się w granicach ok. 60-230 $\mu\text{g Se/L}$ (za Burtis i Ashwood, 1994) i podobnie jak w erytrocytach, odzwierciedla długookresowy status pacjenta. Rozkład stężenia Se w zależności od wieku zdrowych pacjentów jest wg. Bratakosa i wsp. (1990), rozkładem normalnym, istnieją jednak sprzeczne doniesienia z różnych krajów dotyczące zmiany stężenia Se w pełnej krwi wraz z wiekiem (za Valentine i wsp., 1989). Wciąż niejasny jest również wpływ płci na stężenie Se (McKenzie i wsp., 1978, Wąsowicz i Zachara, 1987, McMaster i wsp., 1990, Kliś i wsp., 1993). Clausen i wsp., (1988) stwierdzili, że palenie papierosów obniża stężenie selenu. Stężenie Se we krwi wykazuje dużą zmienność geograficzną i nawet w obrębie jednego kraju, o stosunkowo jednolitym poziomie Se, różnice średnich stężeń u mieszkańców różnych rejonów mogą sięgać kilkudziesięciu procent (za IPCS, 1987).

Stężenie Se w pełnej krwi jest na ogół o 20-25% wyższe niż w osoczu lub surowicy, między tymi wielkościami istnieje znamienna statystycznie korelacja. To pozwala na wzajemne przeliczenie stężenia Se w pełnej krwi na stężenie w osoczu lub surowicy, o ile są one wyrażone w tych samych jednostkach, zazwyczaj $\mu\text{g/L}$ (Zachara i wsp., 1989, Robberecht i wsp., 1990, Baj i wsp., 1992, Cser i wsp., 1993). Spośród składników krwi, erytrocyty zawierają 39,7% całkowitej ilości Se we krwi, osocze 29,9%, trombocyty 24,9%, leukocyty⁶ jednojądrzaste <3,7%, leukocyty wielojądrzaste <1,9% (Rükgauer i wsp., 1995). Średnie stężenie Se w pełnej krwi jest większe od stężeń metali toksycznych (ołowiu, rtęci, kadmu) i mniejsze od stężenia innych pierwiastków śladowych (żelaza, cynku, miedzi) (Abdulla i Chmielnicka, 1990).

5.2. Aktywność GSHPx, korelacja ze stężeniem selenu

Spadek aktywności GSHPx w warunkach deficytu Se może postępować szybciej aniżeli spadek stężenia enzymu, co sugeruje istnienie jakiejś jego nieaktywnej formy. Obie wielkości (aktywność, stężenie w surowicy) są z sobą silnie skorelowane (Huang i Åkesson, 1993). U ssaków radykalnie zubożonych w selen, aktywność GSHPx spada w erytrocytach do

⁶ Trudność uzyskania czystej frakcji leukocytów a także niskie stężenie Se w tych krwinkach są przyczynami stosunkowo rzadkich oznaczeń stężenia pierwiastka w nich.

20% a w wątrobie do wielkości niemierzalnych. Spadek aktywności GSHPx w wątrobie szczurów poniżej 1% wartości kontrolnej nie wywołuje szkodliwych efektów klinicznych. Mniejsze spadki aniżeli w wątrobie odnotowano w nerkach, sercu, śledzionie, płucach i osoczu. Jedynie w mózgu aktywność enzymu utrzymuje się na zbliżonym poziomie (Corvilain i wsp., 1993).

Aktywność cGSHPx u szczurów osiąga plateau (we wszystkich tkankach i komórkach - z wyjątkiem erytrocytów) przy podaży selenu 0,1 $\mu\text{g Se/g}$ diety. Aktywność enzymu zmierzona dla tych samych narządów różnych ssaków przyjmuje zazwyczaj odmienne wartości (za Zachara, 1992).

W przypadku szczurów najwyższą aktywność GSHPx stwierdzono w wątrobie a następnie w: erytrocytach (82% selenu wbudowane jest w cGSHPx), nerkach, śledzionie, nadnerczach, sercu, płucach. Natomiast niska aktywność enzymu występuje w mięśniach, mózgu i jądrach. W wątrobie szczurów 48% całkowitej aktywności GSHPx wykazuje enzym zawierający selen. Jednocześnie 63% selenu wbudowane jest w GSHPx, przy czym ok. 30-75% aktywności komórkowej GSHPx występuje w cytozolu, pozostała część w matriks mitochondrialnej. Brak aktywności enzymu stwierdzono w jądrze komórkowym, liposomach, peroksosomach i mikrosomach (Behne i Wolters, 1983, Shamberger, 1983).

W organizmie człowieka aktywność GSHPx układa się w następującym porządku: wątroba (110-190 U/g białka), nerki, węzły chłonne, mózg, serce, śledziona, trzustka, żołądek, płuca, mięśnie poprzecznie prążkowane (10-38 U/g białka) (Zduńska i wsp., 1994, Deshpande i wsp., 1996). Aktywność enzymu w osoczu stanowi ok. 3% całkowitej aktywności enzymu w pełnej krwi (McMaster i wsp., 1990). Enzym występuje również w nasieniu zwierząt i ludzi, a jego aktywność może być modyfikowana poprzez suplementowanie pacjentów drożdżami selenowymi (za Iwanier i Zachara, 1995).

Pomiar aktywności cGSHPx lub plGSHPx we krwi, połączony na ogół z pomiarem stężenia selenu, wskazuje (ale tylko do pewnego stopnia) na zasoby i metabolizm pierwiastka w organizmie. Użyteczność takiego podejścia ograniczona jest m.in. brakiem dokładnych, ilościowych przewidywań dotyczących włączania Se z podawanej diety w strukturę enzymu oraz wielorakich uwarunkowań długości okresu wpływającego od momentu podania Se do ewentualnej zmiany biologicznej aktywności pierwiastka *in vivo* (Diplock, 1993). Współczynniki korelacji pomiędzy stężeniem Se a aktywnością GSHPx, ułożone w porządku wzrastających wartości tych współczynników, zebrano w Tabeli 4.

Tabela 4. Współczynniki korelacji pomiędzy stężeniem Se a aktywnością GSHPx.

Rodzaj populacji*	Współczynnik korelacji	Poziom istotności	Piśmiennictwo
<u>Stężenie Se i aktywność GSHPx w pełnej krwi</u>			
Zdrowe kobiety (Norwegia), 23-50 lat, n=56, Se: 144,3-190,2 µg/L pełnej krwi	r=0,31	p=0,02	Meltzer i wsp., 1990
Zdrowi mężczyźni (Irlandia Płn.), n=48	r=0,36	p=0,01	McMaster i wsp., 1990
Zdrowe kobiety (Irlandia Płn.), n=52	r=0,47	p<0,001	McMaster i wsp., 1990
Dzieci zdrowe oraz leczone na PKU (Nowa Zelandia), od niemowlęctwa do ok. 14 lat; n=107, Se: 42-68 µg/L pełnej krwi	r=0,62	p<0,001	McKenzie i wsp., 1978
<u>Stężenie Se i aktywność pIGSHPx w osoczu</u>			
Zdrowe dzieci, 2 miesiące - 15 lat, n=285, Se: 34-74 µg/L osocza	r=0,350	p<0,001	Zachara i wsp., 1989
Dzieci z młodzieńczym reumatoidalnym zapaleniem stawów, 3-15 lat, n=64	r=0,35	p<0,001	Gromadzińska i wsp., 1996
Chorzy z rakiem okrężnicy i odbytnicy, n=29	r=0,35	p<0,05	Pawłowicz i wsp., 1993
Dzieci chore na cukrzycę (Węgry), 5-18 lat, n=40	r=0,377	p<0,01	Cser i wsp., 1993
Zdrowe osoby, 20-55 lat, n=48, Se: 37-118 µg/L osocza	r=0,39	p<0,01	Baj i wsp., 1992
Chorzy z rakiem żołądka, n=23	r=0,41	p<0,05	Pawłowicz i wsp., 1993
Dzieci z chorobami rozrostowymi układu krwiotwórczego, 1-16 lat n=54, Se: 16-85 µg/L osocza	r=0,495	p<0,001	Popadiuk i wsp., 1995
Zdrowe osoby, 20-74 lat, n=35	r=0,51	p<0,002	Pawłowicz i wsp., 1993
Zdrowe kobiety, 30-80 lat, n=29, Se: 44,6-95,4 µg/L osocza	r=0,607	p<0,05	Wąsowicz i wsp., 1993
Zdrowe osoby, n=18, Se: 44,3-57,6 µg/L osocza	r=0,85	p<0,001	Marchaluk i wsp., 1996
Dzieci leczone na PKU, suplementowane Se (Belgia); 6-18 lat, n=10, Se: < 54 µg/L osocza	r=0,93	p<0,001	Calomme i wsp. 1995a
<u>Stężenie Se i aktywność pIGSHPx w surowicy</u>			
Zdrowi mężczyźni (Irlandia Płn.), n=48	r=0,36	p=0,01	McMaster i wsp., 1990
Zdrowe kobiety (Irlandia Płn.),	r=0,58	p<,001	McMaster i wsp., 1990

n=52			
Pacjenci w różnym wieku, z różnymi chorobami (Szwecja), n=17, Se: 7,9-229,1 µg/L surowicy	r=0,64,	p<0,01	Huang i Åkesson, 1993

Stężenie Se i aktywność plGSHPx w erytrocytach

Zdrowe dzieci, 2 miesiące - 15 lat, n=285, Se: 78-130 µg/L erytrocytów	r=0,178	p<0,005	Zachara i wsp., 1989
Zdrowe kobiety, 20-75 lat, n=38, Se: 130-154 µg/L erytrocytów	r=0,41	p<0,01	Pleban i wsp., 1982
n=30	r=0,875	p<0,001	Zamorski i wsp., 1995

^{*)} W kolumnie pierwszej powyższej tabeli podano kolejno: opis zbadanej populacji, przedział wiekowy osób tej populacji, liczebność populacji (n), zakres stężeń selenu w pełnej krwi lub w odpowiedniej części składowej krwi (Se), jeśli był podany w oryginalnej pracy. W przypadku populacji spoza Polski podano kraj, w którym przeprowadzono badania.

Korelacja między tymi wielkościami (GSHPx, Se), mierzonymi w pełnej krwi, osoczu i erytrocytach występuje z reguły dla małych stężeń Se (<80-100 µg/L surowicy). Wyższym stężeniom Se nie odpowiada większa aktywność GSHPx (Thomson i wsp., 1977, Zachara i wsp., 1987). Znalezione zależności, aczkolwiek statystycznie istotne, charakteryzują się często niewielką wartością współczynnika korelacji, na ogół poniżej 0,5.

Selen w pełnej krwi często nie koreluje statystycznie istotnie z aktywnością GSHPx w pełnej krwi (lub w erytrocytach)⁷, z wyjątkiem osób o obniżonym stężeniu Se lub mieszkańców krajów selenodeficytowych, do których należy Nowa Zelandia (Thomson i wsp., 1977, McKenzie i wsp., 1978). Korelację pomiędzy Se w pełnej krwi a aktywnością cGSHPx w erytrocytach znaleziono w pracy Zachary i wsp. (1989): r=0.279, p<0,001, dla grupy składającej się z 285 dzieci w wieku od 2 miesięcy do 15 lat, którym pobrano krew do analizy w latach 1981-1983 (146 dzieci) i 1986-1988 (139 dzieci).

Stężenie Se w pełnej krwi, zapewniające maksymalną aktywność GSHPx w erytrocytach, podane w różnych pracach, zawarte jest w przedziale 60-160 µg/L. Aktywność cGSHPx w erytrocytach zmierza do plateau przy stężeniu Se w osoczu w zakresie 60-70 µg/L⁸ (za Marchaluk i wsp., 1995). U noworodków aktywność GSHPx w erytrocytach jest znacznie niższa aniżeli u dorosłych i stopniowo rośnie w ciągu kolejnych miesięcy (Necheles i wsp., 1968, Whaun i Oski, 1970). Zachara i wsp. (1989) stwierdzili łagodny

⁷ Część aktywności GSHPx mierzonej w pełnej krwi może pochodzić od hemoglobiny, która utlenia się do methemoglobiny (Litov i Combs, 1991).

⁸ Odpowiadającym zakresowi stężeń w pełnej krwi: 75-88 µg Se/L.

wzrost aktywności GSHPx w erytrocytach i osoczu wraz z wiekiem zdrowych dzieci, od okresu niemowlęctwa do wieku 15 lat.

W grupie nieplodnych mężczyzn, suplementowanych drożdżami selenowymi lub selenianem(IV) współczynniki korelacji pomiędzy stężeniem Se w pełnej krwi i aktywnością GSHPx w erytrocytach wynosiły odpowiednio: $r=0,620$ ($p<0,0001$), $r=0,356$ ($p<0,002$) (Iwanier i Zachara, 1995). Podobne wyniki uzyskali inni autorzy (Thomson i Robinson, 1980).

Wartości współczynnika korelacji pomiędzy stężeniem Se w erytrocytach a aktywnością w nich peroksydazy glutationowej, podane przez Zamorskiego i wsp., (1995) oraz Zacharę i wsp., (1989) są bardzo rozbieżne. Inni autorzy nie znaleźli tej korelacji ani korelacji z selenem w osoczu (Kok i wsp., 1987, Sando i wsp., 1992, Rannem i wsp., 1992). Należy jednak podkreślić, że wymienieni powyżej autorzy badali znacznie różniące się populacje, o odmiennym statusie selenowym.

Wysoką zależność między stężeniem Se w erytrocytach a aktywnością w nich cGSHPx odkryto u innych ssaków, np. małp amerykańskich, owiec, królików, szczurów, krów, świń, koni, świnek morskich. W gatunkach tych 75-85% selenu w erytrocytach wbudowane jest do GSHPx. W przypadku organizmu ludzkiego, analogiczny udział selenu w GSHPx wynosi zaledwie ok. 10% (Beilstein i Whanger, 1983). Różne gatunki ssaków mają na ogół wyższe poziomy selenu w erytrocytach aniżeli ludzie, zgodnie z następującym porządkiem: szczury > lisy > psy > króliki > świnki morskie > świny > owce > ludzie > krowy > konie. Podobnie, aktywność GSHPx w erytrocytach jest największa dla szczurów i najmniejsza dla koni. U większości z tych gatunków stężenie selenu w erytrocytach koreluje ze stężeniem pierwiastka w osoczu i aktywnością GSHPx w erytrocytach (Zamorski i wsp., 1995).

Pomiar aktywności GSHPx w płytkach krwi wydaje się być bardziej czułym i miarodajnym dla oznaczenia chwilowego statusu Se w organizmie aniżeli analogiczny pomiar w krwinkach czerwonych (lub w osoczu), ponieważ w tych ostanich zmiany aktywności (np. pod wpływem suplementowania Se) dokonują się znacznie wolniej (Behne i Wolters, 1979, Néve i wsp., 1988, Meltzer i wsp., 1993). Nie można również wykluczyć, że enzym z uszkodzonych komórek (np. wątroby lub nerek) może być wprowadzany do osocza, zawyżając tym samym oszacowanie statusu selenowego w organizmie (za Combs i Combs, 1986).

Stężenie selenu w osoczu, przy którym enzym w płytkach krwi osiąga plateau, podane przez różnych autorów, zawarte jest w przedziale 99-135 $\mu\text{g/L}$ (za Marchaluk i wsp., 1995). Néve i wsp. (1988) znaleźli korelacje: (1) pomiędzy stężeniem Se w osoczu a aktywnością GSHPx w płytkach krwi: $r=0,49$, $p<0,001$, $n=56$ (grupa kontrolna otrzymująca placebo); $r=0,32$, $p<0,05$, $n=48$ (grupa suplementowana selenometioniną); (2) pomiędzy aktywnością GSHPx w osoczu i płytkach krwi: $r=0,31$, $p<0,05$, $n=48$ (grupa suplementowana selenometioniną). Nie znaleziono natomiast korelacji pomiędzy stężeniem Se w pełnej krwi lub osoczu a stężeniem Se w płytkach krwi (Rükgauer i wsp., 1995).

W pracach Clausena i wsp. (1988) oraz McMastera i wsp. (1990) stwierdzono wpływ płci na aktywność GSHPx w częściach składowych krwi. Zbadano również znaczenie takich czynników jak: wiek, palenie papierosów, spożywanie napojów zawierających kofeinę i napojów alkoholowych, stosowanie doustnych środków antykoncepcyjnych. Tylko w ostatnim przypadku odnotowano niewielki wzrost aktywności peroksydazy (Pleban i wsp., 1982), natomiast spadek stwierdzono u osób palących papierosy (Ellis i wsp., 1984). Clausen i wsp. (1988) nie potwierdzili wpływu palenia papierosów na aktywność GSHPx w erytrocytach. Zagadnienie to wymaga więc dalszych badań.

W krajach, w których dieta bogata jest w selen (np. USA), aktywność GSHPx osiąga plateau u większości mieszkańców i dlatego parametr ten traci walor użyteczności dla wyznaczania statusu selenowego pacjentów (WHO, 1996).

5.3. Stężenia selenu w różnych tkankach i narządach człowieka

Pobranie selenu z zewnątrz przez organizm człowieka zmienia jego stężenia w różnych tkankach i narządach, przy czym zmiany te, kontrolowane homeostatycznie, zachodzą z różną szybkością. Najwolniejsze zmiany stężenia przy stałej dawce Se występują w nerkach, gdzie stężenie pierwiastka jest największe. Do szybszych zmian aniżeli w nerkach dochodzi w wątrobie i mięśniach szkieletowych. Te ostatnie zawierają ok. 50% całego selenu w organizmie człowieka. W erytrocytach znajduje się ok. 0,5 mg Se, w osoczu - 0,3 mg Se, w mięśniach - 4 mg Se, w wątrobie - 3 mg Se (Favier i wsp., 1988).

Całkowita zawartość Se w organizmie człowieka oszacowana przez różne grupy badaczy podana została w Tabeli 5.

Tabela 5. Całkowita zawartość Se w organizmie człowieka (zakres, wartość średnia).

Zawartość Se w organizmie człowieka [mg]	Kraj/ liczba zbadanych osób	Znacznik zastosowany w metodzie radioizotop. lub metoda analit.	Piśmiennictwo
2,1-5,0 3,0	Nowa Zelandia/ n=3	[⁷⁵ Se]selenian(IV)	Stewart i wsp., 1976
4,1-10,0 6,1	Nowa Zelandia/ n=4	[⁷⁵ Se]selenometionina	Stewart i wsp., 1976
6,63	Niemcy/ n=19	ADHG-AAS ¹	Oster i Prellwitz, 1988
13-20 14,6	USA / n=6	ADF ²	Schroeder i wsp., 1970

¹⁾ - atomowa spektrometria absorpcyjna z kwaśną mineralizacją i generacją wodorków (ang. acid digestion-hydride generation atomic absorption spectrometry; ²⁾ spektrofлуorymetria z kwaśną mineralizacją (ang. acid digestion fluorimetry)

Bardzo szeroki zakres całkowitej zawartości Se w organizmie człowieka wynika głównie z różnych ilości spożywanego pierwiastka w różnych krajach, w których prowadzono badania. Ponadto, w pracy Schroedera i wsp. (1970) liczba tych samych tkanek pobranych podczas autopsji, w których zmierzono stężenie selenu była często poniżej 6. Na przykład zbadano tylko jedną próbkę kości, 2 próbki mózgu i tylko 3 próbki jelita cienkiego. Względne odchylenia standardowe stężeń Se w dwóch ostatnich tkankach wynosiły odpowiednio: 96% i 50%. Wysoka zawartość Se oszacowana w tej pracy wymaga więc weryfikacji przy użyciu większego materiału.

Stężenie Se w niektórych narządach ludzkich osób dorosłych, w krajach europejskich i w Ameryce Północnej zebrano w Tabeli 6.

Tabela 6. Stężenie Se w niektórych narządach ludzkich osób dorosłych.

Nazwa narządu	Stężenie Se [µg Se/g mokrej tkanki]
mięśnie szkieletowe	0,048 - 0,24
mięsień sercowy	0,17 - 0,33
śledziona	0,150 - 0,900
tarczyca	0,34 - 0,72
wątroba	0,166 - 1,100
jądra	0,27-0,30
płuca	0,13-0,15
nerki	0,435 - 2,500

(na podstawie Schroeder i wsp., 1970, Oster i Prellwitz, 1988, Yoshinaga i wsp., 1990, Kvicala i wsp., 1991, Néve, 1991a, Zduńska i wsp., 1994, Tiran i wsp., 1995).

Dla zawartości selenu w wątrobie, nerkach i tarczycy nie stwierdzono statystycznie znamiennych różnic pomiędzy kobietami i mężczyznami. W czasie pierwszych miesięcy życia, zawartość Se w wymienionych tkankach jest mniejsza - zarówno w stosunku do zawartości pierwiastka w tkankach płodu jak i zawartości pierwiastka w tkankach osób dorosłych, nie jest to jednak różnica statystycznie znamienna (Tiran i wsp., 1995). Podczas całego życia stężenie Se w wątrobie utrzymuje się na zbliżonym poziomie. Natomiast stężenie pierwiastka w nerkach i tarczycy rośnie, by ustabilizować się w wieku ok. 20 lat (nerki) bądź osiągnąć szczyt w wieku ok. 50 lat i następnie nieznacznie spadać (tarczyca). Stwierdzono, że stężenia Se w różnych narządach są ze sobą skorelowane, np. w wątrobie i tarczycy: $r=0.416$, $p=0.01$; w nerkach i tarczycy: $r=0.494$, $p<0.001$ (Tiran i wsp., 1995).

6. WPŁYW NIEDOBORU SELENU NA AKTYWNOŚĆ SELENOENZYMÓW

Objawy niedoboru selenu występują przy dobowym spożyciu rzędu 10 μg (Chen i wsp., 1980) i manifestują się najwyraźniej w chorobach Keshan i Kashin-Beck. W zależności od zawartości selenu w regularnie spożywanej diecie a także od wieku osobniczego, u mieszkańców różnych rejonów wykształciły się pewne cechy adaptacyjne - np. już ok. 20 $\mu\text{g}/\text{dobę}$ nie wywołuje klinicznych objawów deficytu u osób zamieszkujących rejon Keshan lub obszar Nowej Zelandii (Néve, 1991a). Na niedobór pierwiastka narażone są osoby na terenach ubogoselenowych, spożywające dietę składającą się głównie z lokalnych produktów. Zupełnie wyjątkową - pod tym względem - grupę stanowią wegetarianie w Szwecji, u których, pomimo spożywania selenu w ilości 5-10 $\mu\text{g}/\text{dobę}$, stężenie Se w osoczu nie różni się od wartości w grupie Szwedów nie-wegetarian (70-80 $\mu\text{g}/\text{L}$). W takich przypadkach stężenie selenu jest zapewne kontrolowane homeostatycznie poprzez zwiększone lub zmniejszone wydalanie z moczem, o czym świadczy odmienny klirens nerkowy dla selenu (Meltzer i wsp., 1990).

W warunkach deficytu selenu, jak wykazano w doświadczeniach na zwierzętach, preferencyjnie chronione są następujące narządy: nerki, jajniki, mózg, nadnercza, gruczoł tarczycy, gruczoł ślinowy (Thompson i wsp., 1995). Natomiast wątroba, serce, mięśnie szkieletowe, erytrocyty, osocze najszybciej tracą selen (Behne i wsp., 1995). Zmiana reżimu eksperymentalnego, np. dodatkowe suplementowanie drożdżami selenowymi szczurów, którym wcześniej podawano normalną dietę, pozwoliła ułożyć narządy i tkanki w następującym szeregu (od najwyższych do najniższych wzrostów stężenia selenu): mózg,

śledziona, nadnercza, jądra, przysadka mózgowa, mięśnie udowe, włosy, krew, wątroba, nerki, serce (Djujic i wsp., 1992).

W obrębie tego samego narządu, deficyt selenu najszybciej wpływa na aktywność cGSHPx, następnie phGSHPx i ostatecznie - IDI, której aktywność nawet rośnie w stymulowanej tarczycy, kosztem innych selenoenzymów, czyli także kosztem ochrony antyutleniającej (Contempre i wsp., 1994). Nie wydaje się jednak, aby ta prosta hierarchia zapotrzebowania i wykorzystania selenu ściśle obowiązywała, o czym przekonują wyniki badań nad ekspresją genów kodujących następujące selenoenzymy w komórkach wątroby: phGSHPx, IDI, cGSHPx. Transkrypcja tych genów nie jest zaburzona deficytem selenu a o ograniczeniu syntezy selenoenzymów decyduje prawdopodobnie stabilność odpowiednich kwasów mRNA (zmniejszająca się w kolejności: mRNA dla phGSHPx, mRNA dla selenobiałka P, mRNA dla IDI, mRNA dla cGSHPx). Selektywne zmniejszenie stabilności kwasów mRNA autorzy tłumaczą jako efekt wtórny w stosunku do - wywołanego deficytem selenu - zróżnicowanego ograniczenia translacji tych kwasów.

W różnych narządach także inne czynniki, na przykład hormony, mogą wpływać na aktywność selenoenzymów i decydować o tym, który z nich zachowa ją najdłużej. Przykładem jest wpływ TSH na aktywność IDI w tarczycy. W warunkach odpowiedniej podaży selenu, niestabilność kwasów mRNA przestaje być widoczna (Arthur i wsp., 1996, Bermanno i wsp., 1996).

Ponadto wspomnianą hierarchię poddają w wątpliwość badania na pacjentach chorych na PKU, u których - po 46 tygodniach suplementowania selenem - zaprzestano dalszego suplementowania, skutkiem czego aktywność - zarówno GSHPx (zmierzona bezpośrednio) - jak i IDI [o której wnioskowano na podstawie pomiarów tyroksyny (T4) i odwrotnej trijodotyroniny (T3)] spadła w tym samym okresie - następnych trzech tygodni (Calomme, 1995a).

7. SUPLEMENTOWANIE SELENEM

Selen podawany jest najczęściej w postaci tabletek lub kapsułek, zawierających selenian(IV) sodu, selenometioninę lub selenowane drożdże, które odznaczają się mniejszą toksycznością. Drożdże stosowane do celów farmaceutycznych są bogatym źródłem białek, kwasów nukleinowych oraz witamin grupy B a także soli mineralnych i mikroelementów. W drożdżach selenowanych, selen znajduje się głównie pod postacią selenometioniny (ponad

50%), selenoglutationu, selenodiglutationu, selenocysteiny i selenianu(IV). Zawartość Se w drożdżach jest rzędu 1,0 mg Se/g suchej masy. Niekiedy preparatem selenu bywa sama selenometionina w żelatynowych kapsułkach, rozcieńczona laktozą. Aminokwas ten wydaje się być szczególnie dogodnym środkiem do suplementowania (Néve, 1991, Chmielowski, 1994, Ip i Ganther, 1994).

Ogólnie - stężenie selenu w stosowanych preparatach mieści się w granicach 20-1500 ppm. Oprócz związków selenu, środki suplementujące zawierają talk, tlenek krzemu(IV), krzemian magnezu, tlenki żelaza i tytanu. Zwykle pacjentom podaje się dawkę selenu w zakresie 20-125 μg Se/dobę, niekiedy w granicach 200-300 μg Se/dobę (Larsen i Ekelund, 1989, Rajca 1990), a pacjentom żywionym pozajelitowo 200-900 μg Se/dobę (Schrauzer, 1991). Clausen i wsp., (1988) podawali pacjentom ze stwardnieniem rozsianym aż 3000 μg Se/dobę przez pięć tygodni.

Optymalny poziom aktywności GSHPx można uzyskać suplementując pacjentów o niskim statusie selenowym dawką 1 μg Se/kg masy ciała/dobę przez okres ok. 26 tygodni (Calomme i wsp., 1995a).

Zwiększenie podaży selenu pozwala odnotować stały wzrost jego zawartości w płytkach krwi, osoczu, włosach, moczu i nasieniu. W osoczu pacjentów z deficytem Se wzrost ten jest szybszy i dłużej trwający, jeżeli są oni suplementowani selenem organicznym.

W porównaniu z suplementowaniem samym selenianem(IV) lub mieszaniną selenianu(IV) i selenometioniny, suplementowanie drożdżami selenowanymi powoduje na ogół znacznie szybszy, wyższy i dłużej trwający wzrost stężenia Se w pełnej krwi, osoczu i erytrocytach. Na przykład w badaniach Zachary i Łabędzkiej (1994) stwierdzono, że po miesięcznym suplementowaniu zdrowych dorosłych osób dawką 200 μg Se/dobę (w postaci drożdży selenowych) nastąpił wzrost stężenia Se o ponad 40% w pełnej krwi, erytrocytach i osoczu, oraz wzrost aktywności pIGSHPx o 18% - przy braku zmian aktywności pIGSHPx w przypadku suplementowania selenianem(IV) lub mieszaniną selenianu(IV) i selenometioniny. Po trzynastu tygodniach stężenie Se w pełnej krwi i erytrocytach były niemal dwukrotnie wyższe od pierwotnych a podwyższona aktywność cGSHPx w erytrocytach, po zakończeniu suplementowania selenowanymi drożdżami, nadal rosła. Autorzy tłumaczą ten wzrost, odnotowany w ciągu kilku tygodni po zakończeniu suplementowania, uwalnianiem Se z białek (z którymi był związany niespecyficznie), na skutek ich katabolizmu i wbudowaniem Se w strukturę enzymu. Należy jednak pamiętać, że różne preparaty zawierające drożdże

selenowe wywołują odmienne efekty w odniesieniu do zasobów pacjenta, co jest uzależnione od zawartości pierwiastka i jego dostępności biologicznej (Meltzer i wsp., 1990).

Szczególnie skuteczne okazało się suplementowanie osób dorosłych chlebem bogatym w selen (selenometioninę). Spożywanie przez 6 tygodni dziennej porcji chleba odpowiadającej 200 µg Se powodowało wzrost stężenia pierwiastka, zmierzony w surowicy krwi do poziomu 145 - 160 µg/L, bez względu na wyjściowe stężenie Se w osoczu (Meltzer i wsp., 1992).

Suplementowanie dawką 100 µg Se/dobę w postaci selenometioniny powoduje wzrost stężenia Se w moczu do uzyskania plateau w 30-60 dniu od rozpoczęcia suplementowania, na poziomie 1,4 wartości pierwotnej, równej 24 µg Se/g kreatyniny (Néve i wsp., 1988). Normalny klirens nerkowy równy ok. 0,180-0,300 mL/min może być podniesiony na skutek suplementowania selenem do wartości ok. 0,400-0,700 mL/min (Oster i Prellwitz, 1990, Meltzer i wsp., 1992).

W ostatnich latach zwrócono uwagę na czosnek dodatkowo wzbogacony selenem. Wydaje się, że może on spełniać podwójną rolę w diecie: środka dostarczającego selen w stopniu zapewniającym maksymalną aktywność selenoenzymów oraz skutecznego antykarcynogenu (Ip i Ganther, 1994, Yang i wsp., 1996). Analogi selenowe związków siarki (zawartych w czosnku i działających antykarcynogennie) są bardziej aktywne w zapobieganiu rozwojowi nowotworu. Jednak czosnek wyhodowany na terenach ubogich w selen może zawierać nawet poniżej 10 µg Se/kg (Maksimović i wsp., 1992).

Suplementowanie selenem zwierząt utrzymywanych uprzednio, przez kilka pokoleń, na diecie ubogiej w selen, wykazało, że jest on głównie zatrzymywany w mózgu, narządach reprodukcyjnych i narządach wydzielania wewnętrznego, a w małym stopniu w wątrobie, co pozwala wnioskować, że wątroba odgrywa rolę "magazynu" zasilającego inne, ważniejsze dla życia narządy.

Równocześnie ze wzrostem stężenia Se we krwi następuje powolne zwiększenie aktywności GSHPx w częściach składowych krwi aż do osiągnięcia plateau, na poziomie ok. 30-50% wyższym od pierwotnej aktywności enzymu, niezależnie od postaci chemicznej (organicznej lub nieorganicznej) selenu, którym prowadzono suplementowanie (Iwanier i Zachara, 1995). U osobników wykazujących deficyt selenu a następnie suplementowanych tym pierwiastkiem, aktywność pIGSHPx powraca do poziomu takiego jak w grupie kontrolnej po upływie 7-10 dni, natomiast cGSHPx w krwinkach czerwonych potrzebuje ok. 3-4 miesięcy, aby odzyskać taką samą aktywność (Cohen i Avissar, 1994). U zdrowych osób

suplementowanych 200 µg Se/dobę znaczące zmiany aktywności pIGSHPx mogą następować wolniej, tzn. w ciągu kilku tygodni (Zachara i Labeledzka, 1994). W Tabeli 7 zestawiono niektóre preparaty farmaceutyczne zawierające selen.

Tabela 7. Preparaty farmaceutyczne zawierające selen.

Nazwa preparatu	Zawartość selenu w 1 tabletkie [µg]	Producent
Bio-sélénium	35	Laboratoires Herbaxt
Bio-Selenium-Zinc	100	Pharma-Nord
Centrum	25	Lederle Laboratories Division of American Cyanamid Corporation
Dolovit Multimineral	10	Rhône-Poulenc Rorer
Ekovit	50	Curtis Healthcare
Multi-tabs	125	Ferrosan
Multi-tabs children	20	Ferrosan
Selenminerase		G.N.Pharm
Multisal	5	Kutnowskie Zakłady Farmaceutyczne
Nutridrink	6,4 ¹⁾	Ovita Nutricia
Selenium bonus	100	Lifeplan Products Ltd.
Triovit	50	KRKA
Vita-Fem	12,5	Purian's Pride

¹⁾ w 100 mL płynu.

8. ZATRUCIA SELENEM

W przypadku zwierząt (szczurów, królików, kotów) LD₅₀ zawarta jest w przedziale 1,5 - 3 mg/kg masy ciała (Madhavi i Salunkhe, 1996). Gryzonie wykazują większą odporność na zatrucia selenem niż przeżuwacze. Stężenie selenu w paszy na poziomie 0,5-5 mg/kg może dawać objawy toksyczności (Umińska, 1990). Chroniczna selenoza powoduje u zwierząt: zmniejszone pobieranie pokarmu, wychudzenie, łysienie, uszkodzenie kopyt (lub pazurów), zaczerwienienie skóry połączone ze swędzeniem, wybroczyny, niedowład kończyn, marskość wątroby i inne uszkodzenia (Mihailović i wsp., 1992). Odnotowano wiele przypadków toksycznego działania selenu na zwierzęta (IPCS, 1987), ostatnie dwa, szerzej znane,

dotyczyły zatrucia płactwa wodnego w dolinie San Joaquin (California, USA, 1989) oraz prosiąt w komercyjnej tuczarni (Serbia, 1991) (Oldfield, 1995, Mihailović i wsp., 1992). Największą toksyczność (przy tej samej dawce podawanego selenu szczurom) stwierdzono dla selenianu(IV), selenianu(VI) (bardziej toksyczny po redukcji do selenianu(IV)) oraz selenocysteiny, mniejszą dla: selenometioniny, selenometyloselenocysteiny, dimetyloselenu, jonu TMSec^+ , selenobetainy. Selenoctery są znacznie mniej toksyczne (Spallholz, 1994).

Maksymalna dopuszczalna dobową dawkę selenu dla ludzi (podobnie jak dawka minimalna) nie jest precyzyjnie wyznaczona i waha się w granicach 350 - 850 $\mu\text{g}/\text{dobę}$, w różnych krajach, zaproponowana przez różne grupy badaczy (za Néve, 1991a). W Raporcie Grupy Ekspertów WHO/FAO/IAEA z 1996 sugerowana maksymalna dopuszczalna dobową dawkę selenu jest równa 400 $\mu\text{g}/\text{dobę}$ (WHO, 1996). Selen nie jest klasyfikowany jako czynnik teratogeny w odniesieniu do ludzi (Burtis i Ashwood, 1994).

Nie ustalono dotychczas odpowiednio specyficznego i czułego wskaźnika podwyższonej, ale nie prowadzącej jeszcze do objawów klinicznych, ekspozycji na związki selenu. Proponuje się wyznaczanie stosunku stężenia Se w osoczu do stężenia Se w erytrocytach, wymaga to jednak dalszych badań (WHO, 1996). Na przełomie lat 60-tych i 70-tych próbowano monitorować zawodowe narażenie na intoksykację selenem za pomocą pomiarów Se w moczu pracowników, przyjmując wartość 100 $\mu\text{g}/\text{L}$ jako progową. Jednak pomiary stężenia Se w moczu są niekiedy niereprezentatywne dla statusu tego pierwiastka w organizmie, zwłaszcza przy jego umiarkowanym pobraniu. Ponadto, w przypadku bardzo toksycznych związków selenu, jak np. selenowodór, tlenochlorek selenu czy niektóre związki selenoorganiczne, wzrost stężenia pierwiastka w moczu następuje zbyt wolno, by stanowić miarę rzeczywistego zagrożenia (za IPCS, 1987, Néve, 1991a; Diplock, 1993). Na podstawie wyników (głównie z lat '80 i '90) dla różnych populacji z całego świata, Alacjos i Romero (1993) ustalili wszakże następującą korelację: $\log(\text{ilości Se wydalonej z moczem } [\mu\text{g}/24 \text{ h}]) = 0.971 \times \log(\text{spożycia Se } [\mu\text{g}/\text{dzień}]) + 0.398$; $r=0.962$, $p<0,001$, $n=37$).

Objawami chronicznego zatrucia nadmierną dawką selenu (szacowaną na ok. 1-5 $\text{mg}/\text{dobę}$) u ludzi są: zapach czosnku w oddechu, uczucie podrażnienia i zmęczenia, niestrawność, biegunka, kurcze mięśni brzucha, brak łaknienia, utrata masy ciała, zażółcenie i swędzenie skóry, na której tworzą się pęcherze prowadzące niekiedy do owrzodzenia, łamliwość i przebarwienie paznokci, wypadanie i łamliwość włosów, zapalenie skóry i stawów, przyspieszona próchnica zębów, nieprawidłowości w układzie nerwowym, zaburzenia czucia (za IPCS, 1987, Bluhm, 1990; Litov i Combs, 1991, Rajca 1990, Madhavi i

Salunkhe, 1996). Stężenie selenu we krwi może wynosić wówczas powyżej 1000 µg/L (Yang i wsp., 1989).

Większość przypadków zatrucia dotyczy populacji żyjących na terenach bogatych w związki selenu (dobowa podaż rzędu kilku mg) oraz zawodowej ekspozycji na aerozole, roztwory i proszki, zawierające najczęściej elementarny selen, tlenek selenu(IV), selenowodór⁹. Ma to miejsce w hutach miedzi, cynku i ołowiu, zakładach rafinacji selenu oraz, w mniejszym stopniu, w fabrykach szkła i wyrobów ceramicznych, przemyśle półprzewodnikowym, przy produkcji maści selenowych stosowanych miejscowo. Do intoksykacji dochodzi poprzez inhalację lub kontakt przez skórę. W latach 80-tych zanotowano w USA kilkanaście przypadków zatruc selenem u osób suplementowanych komercyjnie dostępnymi tabletkami, zawierającymi ilość pierwiastka blisko 200 razy większą aniżeli podana na opakowaniu (IPCS, 1987). W ZSRR ostre zatrucia związkami selenu stanowiły ok. 3% ogółu zatruc w tym kraju (Markiewicz, 1990).

Toksyczne działanie selenu, odnotowane w chińskich prowincjach Hubei i Shaanxi, jest prawdopodobnie spowodowane stosowaniem podczas gotowania gatunku węgla bogatego w Se (300 mg/kg) i F (Oldfield, 1995) oraz uwalnianiem selenu do gleby z pokładów tego paliwa na skutek procesów wietrzenia i perkolacji (IPCS, 1987). Odnotowano także kilkadziesiąt przypadków zatruc wskutek omyłkowego spożycia preparatów selenowych. Również szampony przeciwłupieżowe zawierające trudno rozpuszczalny SeS₂, wchłonięte doustnie, działają toksycznie. Ciężkie zatrucia kończą się zejściem śmiertelnym (Markiewicz, 1990).

⁹ Tlenek selenu(IV) i selenowodór są znacznie bardziej toksyczne aniżeli elementarny selen, niebezpieczny dopiero po utlenieniu lub redukcji. Wymienione związki powodują podrażnienie układu oddechowego, czego konsekwencją może być obrzęk płuc (IPCS, 1987).

9. WPŁYW NIEDOBORU JODU NA POWSTAWANIE WOLA ENDEMICZNEGO

9.1. Rozpoznanie i charakterystyka wola endemicznego

Wypłukiwanie jodu z gleb przez wody lodowców, powodzie i obfite opady atmosferyczne powodują wystąpienie niedoboru tego pierwiastka. Jest to szczególnie widoczne w terenach górskich oraz obszarach odległych od słonej wody. U dzieci szkolnych narażonych na niedostateczną podaż jodu może wystąpić powiększenie tarczycy (wole, struma), niedoczynność tarczycy oraz pewne zaburzenia w rozwoju intelektualnym (Delange, 1995).

Wole może być rozpoznane przez oglądanie oraz przez badanie palpacyjnie lub ultrasonograficznie. Zgodnie z klasyfikacją WHO z 1986 rozróżnia się następujące stopnie wielkości wola: stopień 0 - brak wola, stopień IA - wole wyczuwalne palpacyjnie lecz niewidoczne przy odchyleniu głowy do tyłu, stopień IB - wole wyczuwalne palpacyjnie i widoczne przy odchyleniu głowy do tyłu; stopień II - wole widoczne w normalnej pozycji szyi, badanie palpacyjne nie jest konieczne dla zdiagnozowania, stopień III - bardzo duże wole, widoczne z daleka. Klasyfikacja powyższa została uproszczona przez WHO/UNICEF/ICCIDD w następujący sposób: stopień 0 - wole niewidoczne i niewyczuwalne palpacyjnie; stopień 1 - wole wyczuwalne palpacyjnie, lecz niewidoczne w normalnej pozycji szyi; przy przełykaniu przesuwają się ku górze, stopień 2 - wole widoczne w normalnej pozycji szyi, wyczuwalne palpacyjnie (WHO/Nut/94.6).

Błąd oszacowania wielkości tarczycy za pomocą pomiaru palpacyjnego w stosunku do wyniku pomiaru ultrasonograficznego jest może być rzędu 30% (Rybakowa i wsp., 1990, Borawski i wsp., 1996).

Poza oszacowaniem wielkości tarczycy, wskazane jest zmierzenie poziomu jodu w moczu, które stanowi miarę dowodu tego pierwiastka. Ponadto należy uwzględnić częstość występowania wola w całej populacji oraz zawartość jodu w środowisku (Gołkowski i wsp., 1993).

Stan czynnościowy tarczycy jest oceniany najczęściej w oparciu o pomiary stężeń hormonów tarczycy (wolnych lub całkowitych) i TSH. U dzieci z wolem, stężenia T4 często występują w pobliżu dolnego zakresu normy, natomiast stężenia T3 i TSH w górnych zakresach normy lub nawet mogą je przekraczać (Dytkowska-Późniak i Krawczyńska, 1990, Brzostek, 1996). Mechanizm odpowiedzialny za zmiany poziomu T3 w niedoborze jodu

polega na preferencyjnym wydzielaniu T3 przez tarczycę lub wzmożoną przemianę T4 do T3 w tkankach obwodowych (za Delange, 1996).

Dany rejon uznany jest za obszar występowania wola endemicznego jeśli u ponad 5% populacji dziecięcej stwierdza się obecność wola (WHO/Nut/94.6). Częstość występowania wola zależy głównie od ilości jodu w środowisku, zawartości tego pierwiastka w pożywieniu oraz płci i wieku osobników populacji narażonej na jego niedobór (za Delange, 1996).

Pewne znaczenie w powstawaniu wola mają również uwarunkowania genetyczne, zaburzenia autoimmunizacyjne a także leki i substancje o działaniu goitrogennym oraz wchodzące z jodem w rozmaite interakcje (za Kalicka-Kasperczyk i Dziatkowiak, 1997). Ważniejsze goitrogeny zebrane zostały w Tabeli 8.

Tabela 8. Ważniejsze substancje wolotwórcze (goitrogeny) występujące w środowisku (na podstawie: Bourdoux, 1997)*.

Nr	Nazwa chemiczna	Występowanie
1	Tiocyjaniany	kapusta, rzepa, nasiona rzepaku, nasiona gorczycy
2	Cyjanki	kassawa, len, gorzkie migdały
3	Izotiocyjaniany	cebula, czosnek, gorczyca
4	Tiomocznik i jego pochodne	tyreostatyki
5	L-5-winylo-2-tiooksazolidyna	kapusta, rzepa.
6	Fenole i flawonoidy	powszechnie w świecie roślinnym (np. w prosie)
7	Disiarczki alifatyczne	cebula, czosnek.
8	Jod (w nadmiarze)**	niektóre leki, środki kontrastowe, niektóre wody mineralne, jadalne wodorosty.
9	Lit	leki przeciwdepresyjne i przeciwmaniakalne

* 1-3 - goitrogeny hamujące transport jodku do tarczycy, 4-7 - goitrogeny zaburzające organifikację jodu w tarczycy i sprzęganie jodotyrozyn, 8-9 - goitrogeny zaburzające proteolizę tyreoglobuliny i uwolnienie hormonów tarczycy; ** nadmiar jodu powoduje również zahamowanie wychwytu i organifikacji (efekt Wolffa-Chaikoffa).

Wole endemiczne, początkowo niewielkie i jednorodne (miąższowe) może ulec rozwojowi poprzez kolejne fazy: wola rozlanego miąższowego, rozlanego hiperplastycznego i koloidalnego do wola guzkowego, w którym występują pojedyncze lub mnogie guzki. Zarówno wole miąższowe jak i guzkowe może osiągnąć duże rozmiary. Górne zakresy normy objętości tarczycy w ocenie USG podano w Tabeli 9.

Tabela 9. Górne zakresy normy objętości tarczycy w ocenie USG.

Wiek (lata)	Płeć	Objętość tarczycy [mL]		
		wg. Delange'a (1996)	wg. Gołkowskiego i wsp. (1993)	wg. Gutekunsta (1991)
6	chłopcy dziewczeta	5,5 4,9	6,1	3,5
7	chłopcy dziewczeta	5,9 5,9	6,1	4,0
8	chłopcy dziewczeta	6,1 6,9	6,1	4,5
9	chłopcy dziewczeta	6,8 8,0	7,2	5,0
10	chłopcy dziewczeta	7,8 9,2	7,2	6,0
11	chłopcy dziewczeta	8,9 10,2	8,4	7,0
12	chłopcy dziewczeta	10,4 11,7	8,4	8,0
13	chłopcy dziewczeta	12,0 13,1	9,1	9,0
14	chłopcy dziewczeta	13,9 14,6	-	10,5
15	chłopcy dziewczeta	16,0 16,1	-	12,0
>15	mężczyźni kobiety	20,0 18,0	-	14,0*; 16,0**

* - dla 16 lat, ** - dla 17 lat.

Normy podane przez różnych autorów powstały w oparciu o badania populacji z różnych rejonów geograficznych, o odmiennej podaży jodu, co ma wpływ na zakres wartości prawidłowych objętości tarczycy (za Borawski i wsp., 1996).

Wole endemiczne zapoczątkowane w okresie wczesnego dzieciństwa i nie leczone natychmiast, znacznie trudniej poddaje się terapii w okresie późniejszym, tzn. u osób młodocianych i dorosłych. Zachowawcze leczenie wola endemicznego oparte jest na stosowaniu preparatów jodku potasu, lewoskrętnej tyroksyny, lub skojarzonym stosowaniu obu tych środków jednocześnie (za Gembicki, 1997).

9.2. Zawartość jodu w żywności¹⁰

Jod pobierany jest głównie drogą pokarmową. Pierwiastek ten występuje w żywności i wodzie najczęściej w formie jodku. Bogatymi źródłami jodu w diecie są: świeże ryby morskie (11-193)¹¹ i słodkowodne (1,5-80), ryby wędzone (4,5-40), skorupiaki i mięczaki (58-150), mleko i napoje mleczne (0,9-60,4), żółtka jaj kurzych (ok. 57), napoje alkoholowe (0,7-70). Bardzo niewielkie ilości jodu zawierają owoce i jarzyny (Szponar i wsp., 1997).

W niektórych krajach europejskich ważnym źródłem jodu jest chleb i wyroby piekarnicze a także artykuły mięsne wyprodukowane z użyciem soli jodowanej (Groppel i Hötzel, 1993, Van der Heide i wsp., 1993).

W odżywkach dla dzieci zawartość jodu waha się w szerokich granicach od 7 do 417 µg/L (mediana 57 µg/L). Zmienna zawartość jodu występuje nawet w przypadku tej samej odżywki, pochodzącej z różnych serii (Tiran i wsp., 1993b).

9.3. Zalecane i rzeczywiste spożycie jodu

Dobowe zapotrzebowanie na jod w diecie wg. zaleceń US National Research Council z roku 1989 wynosi dla dzieci w wieku 7-10 lat 120 µg I/dobę, dla starszych dzieci i dorosłych 150 µg I/dobę, dla kobiet w ciąży zalecane jest dodatkowo 25 µg I/dobę, a dla kobiet karmiących - dodatkowo 50 µg I/dobę (Recommended Dietary Allowances, 1989).

Przy spożywaniu prawidłowych ilości jodu, średnie stężenie tego pierwiastka w moczu powinno wynosić >100 µg I/dL (>0.79 µmol I/L, >50 µg I/g kreatyniny). Jest to zasadnicze i powszechnie akceptowane kryterium spożycia jodu (Delange, 1995, Levander i Whanger 1996). Spożywanie jodu na poziomie 50 µg I/dobę powoduje u większości osób rozwój wola. Spożycie jodu w niektórych krajach europejskich przedstawiono w Tabeli 10.

¹⁰ Badania nad poziomem wiadomości o zasadach racjonalnego żywienia, ze szczególnym uwzględnieniem zagadnień związanych z jodem, przeprowadzono w Polsce w roku 1993 na grupie 6411 losowo wybranych dzieci, w tym 2644 uczęszczających do szkół podstawowych. Spośród tych ostatecznie tylko 27% udzieliło poprawnych odpowiedzi na wszystkie pytania, przeciętnie zaś aż 37% udzielanych odpowiedzi było błędnych, co należy uznać za wynik zdecydowanie niezadawalający (Szponar i wsp., 1994).

¹¹ Liczby bezwzględne w nawiasach oznaczają zawartość I w µg/100g produktu spożywczego.

Tabela 10. Spożycie jodu w krajach europejskich (Delange, 1995)

Kraj	Ilość spożywanego jodu [$\mu\text{g I/dobę}$]
Finlandia	>300
Szwecja	150-330
Norwegia	150-250
Szwajcaria	130-160
Austria	150
Czechy i Słowacja	30-80
Polska	40-70
Niemcy	20-70

Zaburzenia z Niedoboru Jodu (IDD, ang. Iodine Deficiency Disorders) są niemal nieobecne w krajach skandynawskich, oraz w Szwajcarii i Austrii, gdzie odpowiednie programy jodowania soli zapewniają prawidłowy dowóz pierwiastka. Jednak w wielu krajach w Europie Środkowej oraz na południu kontynentu, w tym także w Polsce, dobowe spożycie jodu waha się w granicach od 30 do 90 $\mu\text{g I/dobę}$, a więc znacznie poniżej zalecanych dawek.

9.4. Suplementowanie jodem

Jodowanie soli kuchennej, poprzez dodanie do niej jodku potasu lub (rzadziej) jodanu(V) potasu, jest najbardziej zalecanym sposobem zapobiegania niedoborom jodu. Zgodnie z rezolucją WHO z roku 1990 (WHA43.2) a także wytycznymi UNICEF i Międzynarodowej Komisji ds. Kontroli Zaburzeń z Niedoboru, powinno ono posłużyć całkowitemu wyeliminowaniu IDD w skali globu do roku 2000. W Polsce, po okresie zaniechania jodowania soli w latach osiemdziesiątych, przywrócono obowiązkowo ten rodzaj profilaktyki zarządzeniem Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej z 24 lipca 1996. Zgodnie z tym dokumentem system profilaktyki oparty jest obecnie na jodowaniu soli na poziomie $30 \pm 10 \text{ mg KI/ 1 kg soli}$.

Systematyczne jodowanie soli przez okres kilkudziesięciu lat pozwala wykluczyć wpływ niedoboru jodu na danym obszarze na wielkość tarczycy u osób tam zamieszkujących (Brush i Altland, 1952, Podoba i wsp., 1996). Jodowanie soli w różnych krajach przebiega jednak nierównomiernie. W 374 próbkach soli uzyskanych z 68 państw stwierdzono

zawartość jodu w zakresie 0-810 mg/kg, przy czym aż 45% próbek nie zawierało jodu w ilościach mierzalnych. Zdecydowana większość próbek soli bez jodu pochodziła z krajów Trzeciego Świata. Wśród próbek jodowanych tylko 10% zawierało prawidłowe ilości tego pierwiastka, w pozostałych jego ilość była zbyt mała lub nadmierna (Bourdoux i wsp., 1996). Do rzadziej stosowanych metod suplementowania tym pierwiastkiem należy jodowanie wody lub podawanie dużych jednorazowych dawek jodu w postaci iniekcji domięśniowych jodowanego oleju. Ten sam preparat może być także przyjmowany doustnie (za Delange, 1996).

W celu eliminacji niedoborów jodu w niektórych krajach prowadzi się również skarmianie zwierząt hodowlanych jodowanymi mieszankami mineralnymi.

Należy podkreślić, że suplementowanie jodem przynosi dobre wyniki w warunkach jego niedoboru oraz w celu usunięcia kompetycyjnego działania niektórych jonów, np. tiocyjanianów. Natomiast zaburzenia czynności tarczycy spowodowane obecnością w pożywieniu takich goitrogenów jak fenole, flawonoidy, disiarczki, nie mogą być skompensowane za pomocą suplementowania jodem.

9.5. Zaburzenia spowodowane niedoborem jodu w Polsce południowschodniej oraz w krajach ościennych.

W badaniach prowadzonych w latach 1986-89 przez Rybakową i wsp. (1992) stwierdzono, metodą palpacyjną, że częstość występowania wola w populacji dzieci szkolnych na terenie woj. tarnobrzeskiego mieściła się w przedziale 52,9 - 82,2%, w zależności od grupy wiekowej i płci. Wole częściej występowało u dzieci starszych, powyżej 14 roku życia oraz częściej u dziewcząt aniżeli u chłopców - w każdej grupie wiekowej i w każdej miejscowości. Jedynym wyjątkiem jest miejscowość Ulanów, gdzie w grupie wiekowej powyżej 14 lat rozpoznano wole u 93,1% chłopców i 87,2% dziewcząt. Wśród dzieci z wolem, odsetek ze stopniem I wynosił 68,6%, u pozostałych stwierdzono stopień II lub III (Rybakowa i wsp., 1992).

Badania przeprowadzone na przełomie lat 1992/1993 w Polsce południowo-wschodniej ujawniły częstość występowania wola w grupie wiekowej dzieci 6 - 13 lat równą 38,1%. Nie stwierdzono korelacji z wiekiem. W grupie dzieci z wolem 84% przypadków zakwalifikowano palpacyjnie jako stopień Ib, reszta odpowiadała stopniowi II lub III. Tylko 10% badanych dzieci wydalało jod w moczu w ilości odpowiadającej normie (Rybakowa i wsp., 1993a).

Stan umiarkowanego niedoboru jodu na obszarze Polski południowej został udokumentowany w latach 1992/94 i w roku 1995 w ramach krajowego i międzynarodowego programu badań epidemiologicznych nad niedoborem jodu. Stwierdzona wówczas częstość występowania wola u uczniów szkół podstawowych wahała się w województwie tarnobrzeskim w zakresie 32,0-55,4% i była najwyższa w kraju (Szybiński i Żarnecki, 1993, Szybiński i wsp., 1996).

Niedobór jodu w Polsce południowej-wschodniej, w szczególności w woj. tarnobrzeskim, na początku lat dziewięćdziesiątych, został potwierdzony przez wyniki badań przesiewowych wrodzonej niedomogi tarczycy u noworodków na tym obszarze (Rybakowa i wsp., 1993b). W porównaniu do grup kontrolnych z terenów bogatych w jod (Nowa Południowa Walia w Australii, Alberta w Kanadzie) rozkład wartości TSH (w kropli krwi) w woj. tarnobrzeskim był przesunięty w prawo a wartości odpowiadające 95 percentylowi dla powyższych grup wynosiły odpowiednio (mU/L): 2,5; 5,3; 15,2. Odsetek wyników TSH powyżej 20 mU/L (czyli mogących sugerować wrodzoną niedoczynność tarczycy) wynosił w tym województwie 3,5%, a odsetek wyników TSH powyżej 5 mU/L (charakteryzujący IDD) został oszacowany na 31-45% (Nordenberg i wsp., 1994).

Do stosunkowo częstych zaburzeń funkcji tarczycy występujących u noworodków w Polsce południowo-wschodniej, spowodowanych niedoborem jodu, należą: hipotyroksynemia, hipertyreotropinemia przemijająca bez wola, hipertyreotropinemia przemijająca z wolem, hipotyreoza przemijająca oraz wole z eutyreozą kliniczną i biochemiczną (Ratajczak, 199x, Zagrodzki i wsp., 1996, Romer i wsp., 1997).

Deficyt jodu stwierdzono także w innych częściach Polski (Szybiński i Żarnecki, 1993) oraz w niektórych państwach ościennych: Niemcy (Groppel i Hötzel, 1993), Litwa (Drebickas, 1993) jak również w pojedynczych punktach w Czechach i Słowacji (Delange, 1995). W Niemczech 50% wszystkich przypadków z wolem powstaje do 20 roku życia, następne 20% do 30 roku życia (Groppel i Hötzel, 1993). Na niedobory jodu, spowodowane zmniejszonym spożyciem jodowanej soli, są szczególnie narażone dziewczęta pozostające na diecie odchudzającej oraz osoby starsze - na diecie niskosolnej (Van der Heide i wsp., 1993). Liczba przypadków z wolem w grupie dziewcząt w okresie pokwitania lub w grupie kobiet jest zazwyczaj znacznie większa od liczby takich przypadków w analogicznych grupach płci męskiej (Groppel i Hötzel, 1993, Van der Heide i wsp., 1993, Adameczyk i wsp., 1997). W Austrii, pomimo pobierania jodu na poziomie 140 - 200 µg/dobę, u 25% dzieci w wieku 15 -

18 lat, stwierdzono obniżony poziom jodu wydalanego w moczu. Przyczyna tego zjawiska pozostaje niewyjaśniona (König i wsp., 1993).

10. WPŁYW NIEDOBORU SELENU NA METABOLIZM HORMONÓW TARCZYCY

10.1. Badania na zwierzętach¹²

W przypadku szczurów, szybkość syntezy IDI w wątrobie i nerkach jest silnie ograniczona przy drastycznie obniżonym poziomie selenu (spadek stężenia selenu do ok. 1-3% i aktywności GSHPx do 0,5-1,2% odpowiednich wartości kontrolnych w wątrobie; zawartość selenu w diecie zwykle poniżej 0,02 µg Se/g diety¹³) (Meinhold i wsp., 1993, Chanoine i wsp., 1993, Arthur i Beckett, 1994a). Pociąga to za sobą zahamowanie odjodowania zarówno zewnętrznego (5') jak i wewnętrznego (5) pierścienia jodotyroniny, spadek aktywności IDI w wątrobie o ponad 90% (Arthur i Beckett, 1994a). Jednakże wytwarzanie hormonu T3 postępuje wówczas dalej - na skutek utrzymania aktywności IDI wewnątrz tarczycy, która może nawet wzrosnąć (do 25%-42%, proporcjonalnie do wzrostu stymulującego działania TSH i odpowiednich immunoglobulin, poprzez cAMP) oraz kontynuowania syntezy hormonu de novo w tym gruczole (Beckett i wsp., 1993, Arthur i wsp., 1993b). Tarczyca wykazuje bowiem dużą odporność na deficyt selenu - wychwyt jodu nie ulega poważniejszemu zaburzeniu a stężenia T2, T3 i T4 pozostają prawie niezmiennione - spadek stężeń hormonów i jodu w tarczycy wynosi 10-20% (Arthur i Beckett, 1994a). Spadek stężenia selenu w tarczycy jest mniejszy aniżeli w tkankach obwodowych i nie przekracza 30%¹⁴ (Chanoine i wsp., 1993). Analogicznie - spadek aktywności GSHPx w tarczycy, aczkolwiek istotny (ok. 30-50%), jest znacząco niższy aniżeli w innych tkankach (Beech i wsp., 1995). Nie odnotowano zmian morfologicznych tarczycy (Contempre i wsp., 1993).

Inne efekty ostrego deficytu selenu to: (1) zwiększone stężenie T4 w osoczu (T4 całkowita - wzrost o 50-100%, wolna T4 (fT4) - wzrost o 300-400%) (Arthur i wsp., 1992); (2) brak zmian lub tylko niewielkie zmniejszenie stężenia T3 w osoczu i wątrobie (spadek o 0-23%) (Arthur i wsp., 1992, Meinhold i wsp., 1993, Vadhanavikit i Ganther, 1993,

¹² Przytoczone w tym rozdziale - szerokie - zakresy zmian parametrów wynikają (oczywiście - do pewnego stopnia) z różnic w zakresie: 1) reżimu dietetycznego; 2) wieku szczurów (zwykle w przedziale 14-140 dni); 3) płci szczurów, 4) pokolenia szczurów poddanych selenodeficytowej diecie (zwykle 1-4 pokoleń). Warunki eksperymentalne, stosowane przez różnych autorów nie są standaryzowane.

¹³ Dieta zapewniająca właściwy rozwój szczurów powinna zawierać nie mniej niż 0,06 µg Se/g diety (Rahim i wsp., 1986).

¹⁴ Np. w wątrobie sięga 80% (Bermano i wsp., 1996).

Thompson i wsp., 1995), (3) częściowe zahamowanie - katalizowanego przez dejodazę - rozkładu T3 i rT3 do T₂, wzrost stężenia - niemal dwukrotny - siarczanów T3 i ponowne wchłanianie T3 z jelita (co stanowi próbę stabilizowania stężenia T3) (za Meinhold i wsp., 1993), (4) wzrost aktywności S-transferaz glutationowych w wątrobie o 114-210% (Thompson i wsp., 1995), (5) zahamowanie dejodazy typu II w przysadce, mózgu i brązowej tkance tłuszczowej (efekt wywołany bezpośrednio zwiększonym stężeniem T4 w osoczu, który, obok rT3, jest głównym fizjologicznym sygnałem dla IDII) (Arthur i wsp., 1992), (6) upośledzenie czynności termoregulacyjnych (za Arthur i wsp., 1992), (7) zmniejszenie szybkości wzrostu masy ciała (15-63%) (Thompson i wsp., 1995).

Wzrost stężenia T4 w osoczu, poprzez obniżenie aktywności IDII w przysadce powoduje zwiększenie wydzielania hormonu tyreotropowego. Pociąga to za sobą wzmożenie: (1) jodowania tyreoglobuliny w tarczycy, (2) syntezy monojodotyrozyny, diiodotyrozyny, T4, T3, (3) aktywności enzymów lizosomalnych z następnym uwolnieniem hormonów tarczycy, co może być przyczyną dalszego spadku stężeń hormonów w tym gruczole (Arthur i wsp., 1993a). Spadek aktywności GSHPx w tarczycy, rzędu kilkudziesięciu procent w stosunku do grupy kontrolnej, zapewne odbija się na cytotoksycznym wzroście stężenia nadtlenu wodoru, wywołanym stymulującym działaniem TSH. Rola katalazy jako przeciwutleniacza jest w tej sytuacji niewielka, o czym świadczy brak zaburzeń tarczycy podczas akatalazemii (Contempre i wsp., 1994). Natomiast aktywność phGSHPx w tarczycy oraz poziomy mRNA dla GSHPx i mRNA dla phGSHPx w tym narządzie nie ulegają większym zmianom (Bermano i wsp., 1996). Obniżona wskutek deficytu selenu, aktywność IDI w tkankach obwodowych szczurów, może być radykalnie przywrócona do normalnego poziomu w ciągu kilku dni przez jednorazowe wewnątrztrzewnowe wstrzyknięcie dawki Se rzędu 100-200 µg/kg masy ciała (Arthur i wsp., 1987, Thompson i wsp., 1995).

10.2. Badania na ludziach

U chorych na fenyloketonurię, z powodu genetycznie uwarunkowanego braku hydroksylazy fenyloalaninowej, fenyloalanina nie ulega hydroksylacji prowadzącej do tyrozyny. Stosowana dieta eliminacyjna (pozbawiona fenyloalaniny) składa się głównie z półsyntetycznych mieszanin aminokwasów i hydrolizatów białkowych zawierających znikome ilości selenu. Dzieci chore leczone z powodu PKU spożywają Se w zakresie 1 - 11,6 µg/dobę, podczas gdy spożycie u zdrowych dzieci wynosi 9 - 33,5 µg/dobę (Lombeck i wsp., 1978). Wskutek tego, po 10-12 tygodniach stosowania diety, poziom selenu w surowicy może

spaść w skrajnych przypadkach do 20% wartości początkowej (przed zastosowaniem diety) a aktywność GSHPx w erytrocytach może obniżyć się do 50% wartości początkowej. W erytrocytach i we włosach spadek zawartości Se wynosi ok. 40-50% wartości początkowej (Wilke i wsp., 1992).

Spadek stężenia Se w pełnej krwi, osoczu i włosach w ciągu pierwszych kilku miesięcy życia, jest znacznie szybszy u dzieci leczonych z powodu PKU, aniżeli u dzieci zdrowych lub wcześniaków, żywionych nawet ubogimi w selen odżywkami z mleka krowiego. Dla suplementowanych dzieci znaleziono dodatnią korelację między stężeniem Se a aktywnością GSHPx w erytrocytach (Zachara i wsp., 1987).

W porównaniu z grupą kontrolną wartości obu parametrów (stężenie Se w surowicy oraz aktywność GSHPx w erytrocytach) są znacząco niższe (dla Se stosunek median stężenia wynosi 1:3,9, stosunek wartości średnich 1:3,4; dla GSHPx: stosunek średnich aktywności wynosi ok. 1:1,9) (Lombeck i wsp., 1978, Wilke i wsp., 1992). W pracy Zachary i wsp. (1987) różnica pomiędzy stężeniem Se w pełnej krwi pacjentów PKU w wieku od 3 miesięcy do 2 lat i w grupie kontrolnej, wynosiła 8%, natomiast różnica pomiędzy aktywnością GSHPx w erytrocytach była równa 33%. W badaniach Terwolbeck i wsp. (1993) porównano poziom selenu, aktywność peroksydazy glutationowej, poziom hormonów tarczycy oraz ważne diagnostycznie parametry w grupie dzieci z PKU i w grupie kontrolnej. Pierwsza grupa charakteryzowała się niższym stężeniem Se w pełnej krwi ($33.34 \pm 15.14 \mu\text{g Se/L}$) i osoczu ($22.51 \pm 12.08 \mu\text{g Se/L}$) oraz niższą aktywność GSHPx w krwinkach czerwonych ($3.44 \pm 1.49 \text{ U/g Hb}$) i osoczu ($40.71 \pm 26.84 \text{ U/L}$) aniżeli grupa kontrolna (odpowiednie wartości dla grupy kontrolnej były równe: $83.68 \pm 16.18 \mu\text{g Se/L}$; $66.53 \pm 14.46 \mu\text{g Se/L}$; $5.87 \pm 1.55 \text{ U/gHb}$; $117 \pm 25 \text{ U/L}$). Poziom tyroksyny u dzieci z PKU był podwyższony w stosunku do grupy kontrolnej ($9.9 \pm 2.3 \mu\text{g/dL}$) i wynosił $11.2 \pm 2.2 \mu\text{g/dL}$. Zaobserwowano ujemną korelację między stężeniem Se a stężeniem tyroksyny ($r = -0.3210$, $p = 0.012$ w pełnej krwi; $r = -0.2355$, $p = 0.023$ w osoczu). Pozostałe parametry związane z metabolizmem tarczycy (T3 i TSH) nie wykazywały statystycznie istotnych różnic w badanych grupach. Wszystkie parametry diagnostyczne (a także poziom apolipoprotein A1 i B zmierzony w analogicznej pracy Calomme i wsp. (1995a) pozostawały w normalnych zakresach dla dzieci z PKU. Spośród nich tylko AspAT korelował z Se w osoczu ($r = -0.2552$, $p = 0.037$) i Se w pełnej krwi ($r = -0.4635$, $p = 0.004$).

Brak jakichkolwiek korelacji pomiędzy parametrami związanymi z metabolizmem selenu (stężenie Se w osoczu, aktywność pIGSHPx w osoczu) i jodu (stężenie tyroksyny T4 i

odwrotnej trijodotyroniny rT3) stwierdzono w grupie dzieci chorych na PKU w Belgii (Calomme i wsp., 1995b). Natomiast stwierdzono taką korelację pomiędzy zmianą stężenia¹⁵ T4 i rT3 w osoczu a zmianą stężenia Se w osoczu, odpowiednio $r=0,47$, $p<0.001$ i $r=0,53$, $p<0.001$ (Calomme i wsp., 1995a).

Doustne suplementowanie dzieci dawką 10,3 $\mu\text{g Se/kg/dobę}$ powodowało, że po 10 dniach stężenie Se w osoczu dzieci chorych i z grupy kontrolnej wyrównywało się, po miesiącu to samo następowało dla aktywności pI GSHPx, po następnym miesiącu nie było różnic statystycznie istotnych dla stężenia Se w erytrocytach. Po czterech miesiącach - aktywności GSHPx w erytrocytach wyrównywały się (Wilke i wsp., 1992).

Po doustnym suplementowaniu dzieci dawką 1 $\mu\text{g Se/kg/dobę}$ zaobserwowano znamieny statystycznie spadek stężenia T4 i rT3 w osoczu (już po trzech tygodniach), i następnie - utrzymywanie się tych parametrów na stałym poziomie podczas dalszego podawania selenu (zmiany w kolejnych tygodniach do 42 tygodnia nie były statystycznie znamienne). Świadczy to o uzyskaniu w tym czasie maksymalnej aktywności przez IDI. Natomiast wzrost aktywności GSHPx w osoczu odnotowano jeszcze w 26 tygodniu, a stężenia Se w osoczu - w 14 tygodniu suplementowania (Calomme i wsp., 1995a, Calomme i wsp., 1995b).

W badaniach przeprowadzonych w USA, opartych na stosunkowo małej liczbie badanych, stwierdzono, iż dieta z niewielką zawartością Se (13 $\mu\text{g Se/dobę}$) spowodowała u zdrowych ludzi wzrost stężenia T3 w osoczu, natomiast dieta z dużą zawartością Se (356 $\mu\text{g Se/dobę}$) spowodowała spadek stężenia tego hormonu. Nie odnotowano przy tym istotnych zmian stężeń T4 i rT3, ale w grupie bogatoselenowej wzrost stężenia TSH przekroczył 30% i był znacznie wyższy w stosunku do grupy ubogoselenowej. Począwszy od szóstego tygodnia eksperymentu, osoby z grupy bogatoselenowej przybierały na wadze, co jest charakterystycznym zaburzeniem w przebiegu niedoczynności tarczycy. W związku z tym autorzy sugerują, że wyniki badań nad skutkami deficytu selenu i jodu u zwierząt mogą nie być adekwatne w odniesieniu do człowieka (Hawkes i Keim, 1995, Hawkes i wsp., 1996).

¹⁵ Zmiana stężenia T4 jest definiowana jako różnica pomiędzy stężeniem T4 zmierzonym w danym momencie eksperymentu a stężeniem tego hormonu zmierzonym przy stacjonarnym stężeniu Se (czyli powyżej 60 $\mu\text{g/L}$ osocza). Analogicznie dla rT3.

11. WPŁYW RÓWNOCZESNEGO DEFICYTU SELENU I JODU NA METABOLIZM HORMONÓW TARCZYCY

11.1. Badania na zwierzętach

Silny spadek aktywności dejodazy jodotyroniny typu I odnotowany w tkankach obwodowych szczurów, w warunkach równoczesnego deficytu jodu i selenu, jest wyłącznie spowodowany brakiem drugiego z wymienionych pierwiastków, deficyt jodu nie wpływa bowiem istotnie na aktywność tego enzymu (Meinhold i wsp., 1993). Deficyt jodu sprawia jednak, że różnice aktywności dejodazy w grupie selenoadekwatnej i selenodeficytowej są znacznie mniejsze aniżeli w przypadku porównania analogicznych grup, ale o prawidłowych zasobach jodu (Wu i wsp., 1996).

Podanie chloranu(VII) sodu, środka hamującego wychwyt jodu w tarczycy, szczurom powodowało powstanie niedoczynności tarczycy i wola hiperplastycznego, czemu nie zapobiegało suplemetowanie selenem (Contempre i wsp., 1993). W warunkach deficytu selenu, obniżona znacznie aktywność pIGSHPx nie uległa dalszej zmianie pod wpływem NaClO_4 . Stężenie T4 w osoczu było znacząco niższe w porównaniu do grupy, której nie podawano NaClO_4 . Jeśli w grupie szczurów poddanych działaniu NaClO_4 wyróżnić podgrupę selenodeficytową oraz podgrupę selenoadekwatną, to stężenie T4 w podgrupie selenodeficytowej było wyższe niż w grupie selenoadekwatnej. Odwrotnie układały się poziomy TSH w tych dwóch podgrupach. Ponadto masa tarczycy zmniejszyła się o 30% zaś wychwyt i związanie jodu w komórkach tarczycy (zbadane *in vitro*) wzrosły o ok. 40% w podgrupie selenodeficytowej w porównaniu z grupą szczurów selenoadekwatnych (Golstein i wsp., 1988). Ostatnie wyniki pozostają w niezgodzie z niektórymi rezultatami innych autorów, którzy stwierdzili, że niedobór selenu zwiększa obrzmienie gruczołu wywołane niedoborem jodu, powoduje dalszy wzrost stężenia TSH w surowicy oraz spadek stężeń: T4 w surowicy i jodu wewnątrz tarczycy (Wu i wsp., 1996, Arthur i wsp., 1992). Poważnym mankamentem pracy Golsteina i wsp., (1988) było wprowadzenie deficytu witaminy E w diecie wszystkich szczurów selenodeficytowych, co mogło - w pewnym stopniu - przesłonić efekty wywołane deficytem selenu.

Martwica komórek tarczycy, spowodowana podaniem nadmiernej dawki jodu szczurom uprzednio zubożonym w ten pierwiastek stawała się bardziej wyraźna wtedy, gdy dieta szczurów była również deficytowa w selen. Równoczesny deficyt selenu i jodu indukuje

uszkodzenie błon komórkowych, przy czym efekty te kumulują się (Contempre i wsp., 1993, Contempre i wsp., 1994).

11.2. Badania na ludziach

Badania nad równoczesnym deficytem selenu i jodu u ludzi przeprowadzone zostały po raz pierwszy w latach osiemdziesiątych w Zairze. Goyens i wsp. (1987) ustalili, że na terenach endemicznego kretynizmu stężenie selenu w surowicy oraz aktywność pIGSHPx były znacznie niższe aniżeli wartości najczęściej podawane dla Europy lub USA. Ponadto dalszy spadek tych parametrów wystąpił na terenach charakteryzujących się zarówno endemicznym kretynizmem jak i endemicznym wolem (tzw. kretynizm tarczycowy). Autorzy sugerują, że bardzo delikatna tkanka tarczycy płodu i noworodka, narażona na stymulujące działanie TSH na terenach deficytowych w jod, może zostać zdegenerowana, co prowadzi do niedoczynności tarczycy. Dodatkowym czynnikiem przyczyniającym się do powstanie kretynizmu tarczycowego może być uszkodzenie mechanizmów chroniących komórki tarczycy przed działaniem reaktywnych form tlenu, głównie na skutek wzmożonej produkcji nadtlenu wodoru i zmniejszenia aktywności GSHPx, co doprowadza do nicodracalnego zniszczenia tych komórek (Corvilain i wsp., 1993). Hipoteza powyższa poparta jest ustaleniem składu geologicznego terenów, na których żyła badana populacja - bardzo mała zawartość selenu w glebach odpowiada rozmieszczeniu przypadków z przewagą kretynizmu tarczycowego.

W następnych pracach Contempre i wsp. (1991) oraz Thilly i wsp. (1991) zbadali dzieci w wieku szkolnym w trzech rejonach Zairu, odznaczających się występowaniem endemicznego wola o przebiegu ciężkim lub umiarkowanym oraz brakiem wola. Status selenowy pacjentów ustalony został na podstawie pomiarów stężenia Se w surowicy oraz aktywności GSHPx w krwinkach czerwonych. Jednocześnie dokonano pomiarów zawartości jodu wydalanego z moczem ($\mu\text{g/dL}$). Wartości tych parametrów zmieniały się następująco: od wartości najwyższych dla rejonu bez występowania wola, do najniższych dla rejonu z przypadkami ciężkiego wola. Suplementowanie grupy 23 dzieci dawką dobową $50 \mu\text{g}$ Se (pod postacią selenometioniny), przez 2 miesiące, przyniosło następujące wyniki: 1) wzrost stężenia Se w surowicy (od $27 \pm 15 \mu\text{g/L}$ do $74 \pm 22 \mu\text{g/L}$, $p < 0.001$), 2) wzrost aktywności GSHPx w krwinkach czerwonych (od $3,0 \pm 1,9 \text{ U/g Hb}$ do $5,8 \pm 2,2 \text{ U/g Hb}$, $p < 0.001$, - a więc wciąż poniżej ustalonego przez tych autorów normalnego poziomu dla dzieci wynoszącego 9-

16 U/g Hb), 3) spadek stężenia tyroksyny w surowicy (od $5,7 \pm 3,5$ $\mu\text{g/dL}$ do $3,8 \pm 1,8$ $\mu\text{g/dL}$, $p < 0.001$), 4) spadek stężenia rT3 (od $8,1 \pm 7,5$ ng/dL do $5,9 \pm 4,7$ ng/dL , $p < 0.001$), 5) spadek stężenia fT4 (od $11,8 \pm 6,7$ nmol/L do $8,4 \pm 4,1$ nmol/L), 6) brak zmian stężeń T3 oraz TSH w surowicy (odpowiednio na poziomie: 146 ± 26 ng/dL i $7,2$ ($5,6-9,3$) $\mu\text{U/mL}$). Jeśli stężenie tyroksyny na poziomie $4,0$ $\mu\text{g/dL}$ przyjąć za wartość progową, to podgrupa dzieci ($n=16$) posiadająca przed suplementowaniem stężenie tyroksyny powyżej tej wartości, reagowała spadkiem stężenia tyroksyny w odpowiedzi na suplementowanie selenem, czemu nie towarzyszyły zmiany T3 lub TSH. Pogłębienie hypotyroksynemii wskutek suplementowania selenem w tej podgrupie nie oznaczało więc pogłębienia niedoczynności tarczycy. Statystycznie istotna zmiana poziomu TSH (od 39 ($10-163$) $\mu\text{U/mL}$ do 13 ($9-18$) $\mu\text{U/mL}$) występowała w podgrupie dzieci ($n=7$) o stężeniu tyroksyny poniżej wartości progowej. W tym wypadku zmiana stężenia samej tyroksyny nie była statystycznie istotna.

Analogiczne zmiany zaobserwowano u kretynów z tego samego obszaru (Vanderpas i wsp., 1993). Różnice dotyczyły tylko poziomu TSH, który wzrósł od 262 $\mu\text{U/mL}$ do 363 $\mu\text{U/mL}$ oraz stężenia T3, które spadło pod wpływem suplementowania Se. Bardziej intensywna przemiana T4 do T3 w przypadku kretynów nie mogła być kompensowana wzmożonym wydzielaniem (uszkodzonego) gruczołu tarczycy. Gruczoł ten nie mógł bowiem zwiększyć wychwyty jodu, co w połączeniu ze wzmożonym katabolizmem hormonów tarczycy oznaczało utratę - i tak bardzo niewielkich - zasobów tego pierwiastka. W efekcie, pogorszenie stanu hypotyroksynemii pogłębiało niedoczynność tarczycy. Dodatkowym czynnikiem sprzyjającym powstawaniu kretynizmu tarczycowego był nadmiar tiocyjanianu zawartego w kassawie, która jest rośliną powszechnie spożywaną w niektórych rejonach Zairu (Thilly i wsp., 1993).

Na podstawie obserwacji częstości występowania kretynizmu tarczycowego w niektórych rejonach Zairu, wysunięto hipotezę o łagodzącym działaniu deficytu selenu na hypotyroksynemię ciężarnych kobiet, co ma dalsze konsekwencje w postaci większej dostępności T4 dla płodu, zwłaszcza w krytycznym okresie rozwoju mózgu. Z kolei deficyt selenu u płodu może ograniczać przemianę T4 w tkankach obwodowych i sprzyjać przemianie T4 do T3 w ośrodkowym układzie nerwowym, w którym rolę katalizatora przemiany spełnia dejodaza typu II. Dlatego przypadki kretynizmu neurologicznego przesłonięte są kretynizmem tarczycowym (Moreno-Reyes i wsp., 1993, Vanderpas i wsp., 1993).

Omówione powyżej wyniki nie znalazły potwierdzenia w badaniach prowadzonych na obszarze Chin, gdzie nie stwierdzono zależności pomiędzy statusem selenowym populacji a częstością występowania kretynizmu tarczycowego. Zauważono tam natomiast, że na terenach ubogich w selen zawsze występują IDD, które jednak mogą również występować, przybierając bardzo poważną postać, na terenach bogatych w selen (Ma i wsp., 1993).

Obszar bardzo głębokiego, równoczesnego deficytu obu pierwiastków odkryto ostatnio w Tybecie, w prefekturze Lhasa. Prewalencja wystąpienia wola, choroby Kashin-Beck i kretynizmu wśród dzieci w wieku 5-15 lat wynosiła na tym terenie odpowiednio: 46,4%, 48,7%, 0,9%. U znacznego odsetka dzieci stwierdzono poważną niedoczynność tarczycy. Ponad 20% osobników miało stężenie TSH w surowicy powyżej 10 mU/L a stężenie T4 poniżej 6 µg/dL. Wydalanie jodu z moczem było skrajnie niskie i u ponad 95% dzieci nie przekraczało 50 µg/L. Stężenie Se w surowicy było poniżej granicy oznaczalności metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej u blisko 38% dzieci, a u pozostałych nie przekraczało 20 µg Se/L. W odróżnieniu od terenów endemicznych w Afryce, w Tybecie nie znaleziono dotychczas żadnego goitrogenu, który miałby wpływ na niedobór jodu. Pomimo opisanego powyżej niedoboru jodu i selenu, wzmożona stymulacja tarczycy przez TSH nie spowodowała atrofii tego gruczołu i dlatego wszystkie przypadki kretynizmu rozpoznano jako formę neurologiczną (Moreno-Reyes i wsp., 1996).

Pierwsza praca poświęcona nadmiernemu suplementowaniu selenem pacjentów będących w stanie eutyreozy, aczkolwiek wykazujących subtelne zaburzenia wiązania jodu w tarczycy, ukazała się w 1993 roku (Roti i wsp.). Przed okresem suplementowania pacjenci spożywali w pokarmach prawidłowe ilości selenu oraz tylko nieznacznie mniejsze od prawidłowych ilości jodu. W przeciwieństwie do wyników suplementowania selenem na terenach endemicznego wola w Zairze, pierwiastek ten podawany w postaci selenometioniny, w dawce 100 µg Se/dobę, nie powodował u tych pacjentów żadnych zaburzeń syntezy hormonów tarczycy. Fluktuacje stężenia TSH były niewielkie i mieściły się w zakresie normy, co wyklucza zagrożenie hypotyreozą.

W pracy Kvicaly i wsp. (1995) zbadana populacja składała się z 380 osób, przypadkowo wyselekcjonowanych wśród mieszkańców Pragi, w wieku 6-65 lat. W grupie tej zmierzono następujące parametry: stężenie selenu w surowicy i moczu, stężenie jodu i kreatyniny w moczu, poziom TSH oraz T4 i T3 w surowicy, objętość tarczycy a także tętno i czas odruchu ze ścięgna Achillesa. Parametry związane z metabolizmem związków selenu i jodu dla tej grupy wykazywały niskie wartości średnie: stężenie Se w surowicy 63 µg/L,

zakres 20-89 $\mu\text{g/L}$, stężenie selenu w moczu 9,1 $\mu\text{g/L}$, zakres 3-24 $\mu\text{g/L}$, odsetek łagodnej jodopenii wynosił 33 - 69% a ciężkiej jodopenii 5 - 18% (odpowiednie wartości progowe 100 i 50 $\mu\text{g/L}$ moczu) i zmieniał się w zależności od płci i wieku, dobowe spożycie Se ok. 20 $\mu\text{g/dobę}$. Dla całej grupy stwierdzono występowanie statystycznie istotnych, lecz słabych korelacji pomiędzy parametrami związanymi z czynnością tarczycy (stężenie jodu w moczu, objętość tarczycy, poziom hormonów tarczycy) i niektórymi parametrami dotyczącymi zasobów selenowych (stężenie selenu w moczu, w surowicy, stosunek stężenia selenu w moczu do kreatyniny (Se/kreatynina)). Wartości bezwzględne współczynników korelacji zawarte były w przedziale od 0,1120 do 0,3067. Najwyższą wartość współczynnika korelacji stwierdzono dla parametrów: selen w moczu - jod w moczu. Te dwa parametry wykazywały korelację w każdej z podgrup rozpatrywanych ze względu na wiek lub płeć. Wyjątek wśród parametrów związanych z metabolizmem jodu stanowił TSH, który nie korelował z parametrami selenowymi w całej grupie, natomiast wykazywał dodatnią korelację z selenem w surowicy lub osoczu, tylko w niektórych grupach wiekowych i tylko dla jednej lub drugiej płci. Objętość tarczycy korelowała z (Se/kreatynina), natomiast nie korelowała ze stężeniem selenu w surowicy lub stężeniem selenu w moczu. Ponadto stężenie Se w surowicy i moczu korelowało ujemnie z T4, zarówno dla całej populacji jak i dla poszczególnych podgrup (co było wynikiem spodziewanym), natomiast (Se/kreatynina) korelował czasem dodatnio z T4, niekiedy zaś ujemnie lub wcale nie korelował w różnych podgrupach, co nie znajduje dotychczas wyjaśnienia. O ile znaleziona przez autorów, ujemna korelacja pomiędzy Se w surowicy a T3 w surowicy może być do pewnego stopnia wyjaśniona w oparciu o badania na zwierzętach, to wynikająca z tych zależności, dodatnia korelacja pomiędzy Se w surowicy a stosunkiem T4/T3, nie znajduje analogicznego uzasadnienia.

Połączony efekt niedoboru selenu i jodu zbadano również u chronicznie chorych, geriatrycznych pacjentów o średniej wieku 78,3 lat (Dohán i wsp., 1996). Średnie stężenie Se w osoczu było równe 61,8 $\mu\text{g Se/L}$ a stężenie jodu w moczu - 132,7 $\mu\text{g I/g}$ kreatyniny. Nie znaleziono bezpośredniej korelacji pomiędzy fT4 a stężeniem Se w osoczu lub jodurią w obrębie całej grupy, natomiast dla pacjentów z jodurią poniżej 150 $\mu\text{g I/g}$ kreatyniny korelacja pomiędzy fT4 i stosunkiem joduria/stężenie Se w osoczu, była statystycznie istotna ($r=0,23$, $p<0,02$). Taki wynik u ludzi, uzyskany w warunkach łagodnego niedoboru obu pierwiastków, mogący świadczyć o pewnym wpływie Se na metabolizm hormonów tarczycy, odnotowano po raz pierwszy. Se nie korelował wprawdzie z TSH, T3 lub rT3, ale przypisać

to należy zarówno zmianom spowodowanym wiekiem jak i zmianom patologicznym nie związanym bezpośrednio z tarczycą.

12. INTERAKCJE SELENU Z SIARKĄ

Szczególna rola oddziaływań pomiędzy selenem i siarką wynika z podobieństwa wielu własności fizykochemicznych (np. zbliżone: elektroujemność, potencjał jonizacyjny, energia wiązań, etc.). Istnieją jednakże dwie zasadnicze różnice, dotyczące zachowania się związków obu pierwiastków w organizmie. Po pierwsze, oksyaniony zawierające selen ulegają redukcji, a zawierające siarkę wykazują tendencję do utleniania. Seleniany(IV) mogą reagować z grupami sulfhydrylowymi białek lub tiolami niebiałkowymi (glutation, cysteina) tworząc produkty typu RS-Se-S-SR. Po drugie, selenowodór jest znacznie mocniejszym kwasem aniżeli siarkowodór (odpowiednie pK wynoszą 3,8 i 7,0). W związku z tym, przy fizjologicznym poziomie jonów wodorowych, grupy sulfhydrylowe (np. w cząsteczkach cysteiny) ulegają protonowaniu, natomiast grupy selenohydrylowe w takich warunkach dysocjują, dlatego pI (punkt izoelektryczny) cysteiny wynosi 8,3 natomiast pI selenocysteiny jest równy 5,5. Dzięki temu selen jest bardziej aktywnym katalizatorem reakcji redoks aniżeli siarka (za Combs i Combs, 1986, Piskorska i Grabowska-Bochenek, 1995).

Stwierdzone w doświadczeniach na zwierzętach, interakcje pomiędzy związkami siarki i selenu (o nieznanym mechanizmie) są przyczyną zwiększonego, niekiedy niemal trzykrotnie, wydalania selenu z moczem oraz wydychanym powietrzem, co oczywiście może mieć znaczenie podczas zatrucia tym pierwiastkiem.

Organizm nie odróżniając aminokwasów zawierających siarkę od aminokwasów zawierających selen, może wbudowywać te ostatnie niespecyficznie w strukturę białek. I tak na przykład wobec deficytu siarki, część pobieranego selenu jest wbudowywana niespecyficznie do białek flory układu pokarmowego, co opóźnia lub uniemożliwia wchłanianie selenu. Status siarkowy ma więc wpływ na gospodarkę selenową pacjenta (Shamberger, 1983; Combs i Combs, 1986).

CEL PRACY

Jak wspomniano we wstępie, badania nad interakcjami pomiędzy I i Se przeprowadzono dotychczas głównie na zwierzętach doświadczalnych. U ludzi, większość - stosunkowo nielicznych - prac poświęconych temu zagadnieniu, wykonano w specyficznych warunkach geograficznych, np. w Zairze lub w Tybecie, albo w oparciu o populacje ludzi chorych, np. na fenyloketonurię lub zaburzenia układu moczowego. Z drugiej strony, pomimo stwierdzonego w niektórych rejonach Europy, równoczesnego niedoboru obu pierwiastków, problem interakcji pomiędzy nimi u ludzi zdrowych, zamieszkujących takie tereny nie został dotychczas całościowo opracowany. Dlatego celem niniejszej pracy jest, przynajmniej częściowe, wypełnienie tej luki.

Jako szczegółowe cele pracy przyjęto:

- określenie statusu selenowego i jodowego dzieci z województwa tarnobrzeskiego, u których stwierdzono obecność wola;
- porównanie parametrów związanych z czynnością tarczycy w grupach o odmiennym statusie selenowym i jodowym;
- poszukiwanie uwarunkowań czynności tarczycy w grupie badanej w zależności od miejsca zamieszkania, płci i statusu selenowego.

Podstawowe zerowe hipotezy statystyczne (H_0), których weryfikację podejmie się w niniejszym opracowaniu zakładają, że:

- silne, lokalne skażenie środowiska związkami siarki nie wpływa na pogłębienie, występującego w Polsce, niedoboru selenu u dzieci;
- status selenowy dzieci zamieszkujących województwo tarnobrzeskie nie ma wpływu na metabolizm hormonów tarczycy;
- w warunkach niedoboru selenu i jodu, płeć nie stanowi czynnika determinującego funkcje tarczycy.

BADANIA WŁASNE

1. MATERIAŁY I METODY

1.1. Badana populacja dzieci

Badaniami objęto populację dzieci uczęszczających do szkół publicznych w czterech miejscowościach na terenie województwa tarnobrzckiego: Janowie Lubelskim (JL), Rudniku (R), Nowej Dębie (ND) i Sandomierzu (S) (Mapa 1 w Aneksie). Dane dotyczące stanu niedoboru jodu na obszarze badawczym zebrano w Tabeli 11, a dane związane z zanieczyszczeniem środowiska związkami siarki na tym obszarze - w Tabeli 12.

Tabela 11. Niektóre kryteria niedoboru jodu oraz sytuacja na obszarze badawczym.

Wskaźnik	Norma WHO/Nut/94.6, (1994)	Obszar badawczy
stężenie jodu w moczu [$\mu\text{g/L}$]	> 100 ($>0,79 \mu\text{mol/L}$)	54,6-93,1*
częstość występowania wola w USG u dzieci w wieku szkolnym (>97 . percentyla) [%]	<5	32,0-55,4*
częstość występowania stężeń TSH u noworodków $>5 \text{ mU/L}$ pełnej krwi [%]	<3	10,28**

*) na podstawie: Szybiński i wsp., 1996; **) na podstawie: Ratajczak i Oltarzewski, wyniki niepublikowane dla woj. tarnobrzckiego.

Tabela 12. Zawartość siarki i siarczanów w częściach składowych środowiska przyrodniczego na obszarze badawczym¹⁾.

Parametr	Średnia wartość ²⁾ dla Polski	Obszar badawczy
zawartość siarki w glebie [%]	0,012	$<0,01-0,08$ ³⁾
zawartość siarczanów w wodach powierzchniowych [mg/L]	58	$<25-400$ ⁴⁾
zawartość siarczanów w osadach wodnych [%]	0,047	$<0,1-4$ ⁵⁾

¹⁾ na podstawie: Lis i Pasieczna, 1995; ²⁾ średnia geometryczna; ³⁾ w Nowej Dębie: 0,04-0,08%; ⁴⁾ w Sandomierzu: 200-400 mg/L; ⁵⁾ w Rudniku: 2-4%.

Dotychczas nie jest opracowana szczegółowa mapa zawartości selenu w glebach Polski południowej. Wiadomo jednak, że w województwie tarnobrzckim przeważają lessy i gleby pyłowe (Dutka, 1992), a stężenie selenu w takich glebach na terenie Polski waha się w granicach 0,16-0,46 mg/kg (poziomy A₁), 0,16-0,40 mg/kg (poziomy A₃), 0,18-0,32 mg/kg (poziomy C). Widać więc, że nie ma zasadniczej różnicy w rozkładzie selenu pomiędzy tymi poziomami

(Piotrowska, 1984). Zawartość Se poniżej 0,2 lub 0,3 mg/kg w glebach województwa tarnobrzckiego stwierdzono w pracy Dutki (1992).

Badane dzieci (n=136, 90 dziewcząt, 46 chłopców) zostały wyselekcjonowane na podstawie wcześniejszych badań epidemiologicznych, podczas których stwierdzono u nich metodą palpacyjną obecność wola stopnia IA lub wyższego (Szybiński i wsp., 1996). Dzieci znajdowały się w przedziale wiekowym 7-16 lat (średnia wieku $11,1 \pm 2,1$). Od dzieci pobrano krew w celu oznaczenia stężenia selenu, aktywności peroksydazy glutationowej, stężenia hormonu tyreotropowego i wolnej tyroksyny. Pobrano również mocz w celu oznaczenia stężenia jodu. Grupę porównawczą stanowiły dzieci leczone z powodu drobnych urazów w Oddziale Ortopedii Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii CMUJ w Krakowie (n=38, 19 dziewcząt, 19 chłopców). Dzieci te wolne były od klinicznych symptomów chorób tarczycy i zaburzeń metabolicznych. Nie stosowano u nich żadnych leków zawierających jod. Nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy między wiekiem dzieci grupy badanej i wiekiem dzieci grupy porównawczej, który zawarty był w przedziale 5-19 lat (średnia wieku $11,5 \pm 3,0$).

Uzyskano zgodę Komisji Etycznej d/s Eksperymentalnych Badań Klinicznych przy Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego na prowadzenie badań (KEEBK/V/108/96). Pisemną zgodę na badanie dzieci wyrazili również ich rodzice.

1.2. Pobieranie próbek krwi i moczu

1.2.1. Pobieranie i zabezpieczanie próbek krwi

Krew pobierano z żyły zgięcia łokciowego igłami jednorazowymi w systemie zamkniętym do probówek próżniowych typu vacutainer (Beckton Dickinson) zawierających heparynian sodu jako antykoagulant. Po wymieszaniu, krew dzielono na dwie części. Pierwszą zamrażano natychmiast w suchym lodzie, drugą wirowano w temperaturze 4°C, z przyspieszeniem 1500g, przez 10 minut, w celu wydzielenia osocza, które następnie przenoszono pipetą do polipropylenowych probówek Eppendorfa i zamrażano. Próbki były przechowywane w stanie zamrożonym do momentu wykonania analiz.

1.2.2. Pobieranie i zabezpieczanie próbek moczu

Próbki moczu (ok. 50 mL) były pobierane do zamykanych naczyń plastikowych, zamrażane i przechowywane w stanie zamrożonym do momentu wykonania analiz.

1.3. Metody zastosowane do oznaczania badanych parametrów

1.3.1. Oznaczanie stężenia selenu we krwi (Se)

Stężenie selenu w pełnej krwi oznaczono metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej w kuwecie grafitowej przy użyciu aparatu Perkin Elmer® Model 5100 ZL, wyposażonego w korekcję tła Zeemana oraz automatyczny dozownik AS-70. Oznaczenia zostały wykonane w Zakładzie Bromatologii CMUJ.

Przygotowanie próbek krwi do oznaczania selenu:

modyfikatory:

A: 0,1% (obj.) kwas azotowy(V) zawierający 0,1% (obj.) Tritonu X 100

B: 0,4% azotan(V) palladu(II)

próbka do analizy: 100 μ L krwi + 200 μ L modyfikatora A (1:2)

modyfikator B наносzono na platformę kuwety bezpośrednio przed naniesieniem próbki

Warunki pomiaru:

źródło promieniowania: lampa z katodą węglikową

analityczna długość fali: 196 nm

szerokość szczeliny monochromatora: 0,7 nm

układ pomiarowy: powierzchnia piklu

objętość próbki: 20 μ L

zakres krzywej kalibracyjnej: 0-90 μ g/L

wodny roztwór wzorcowy: Selenium standard firmy Merck,
1000 mg/L

W celu wyeliminowania wpływu matrycy, krzywa kalibracyjna została wykonana w oparciu o próbkę ludzkiej krwi, do której dodawano znane ilości wzorca selenu. Prawidłowość otrzymywanych wyników w każdej serii oznaczeń była sprawdzana przy użyciu standardu (wzorec krwi: Human Blood, Batch No. 205053, Nycomed Pharma AS, Oslo, Norway). Średnia wartość uzyskana dla tego standardu wynosiła $80,3 \pm 1,3$ μ g/L, wartość certyfikowana 82 μ g/L, certyfikowany zakres 76-88 μ g/L.

Zastosowany program nagrzewania kuwety podano w Tabeli 13. Odczytu absorbancji dokonywano w temperaturze 2100°C.

Tabela 13. Program nagrzewania kuwety stosowany przy oznaczeniu selenu we krwi.

Etap nagrzewania	Temperatura [°C]	Czas nagrzewania kuwety do określonej temperatury [s]	Okres utrzymywania kuwety w określonej temperaturze [s]
1	90	1	50
2	120	1	2
3	550	15	15
4	600	1	15
5	1100	10	15
6	50	15	5
7	2100	0	4
8	2400	1	3
9	90	10	5

Precyzja pomiaru sygnału analitycznego wynosiła: 8,0%; precyzja postępowania analitycznego wynosiła: 7,8%.

1.3.2. Oznaczanie aktywności peroksydazy glutationowej w osoczu (pIGSHPx)

Oznaczenie aktywności peroksydazy glutationowej w osoczu krwi przeprowadzono w oparciu o metodę Paglii i Valentine'a (1967) z modyfikacjami Günzlera i wsp. (1974). Pomiary wykonywano w Instytucie Fizyki Jądrowej, przy użyciu spektrometru Spekol 11 (Carl-Zeiss-Jena), wyposażonego w termostatowaną przystawkę dla kuwet.

Warunki pomiaru:

długość fali:	340 nm
temperatura:	25°C
pH buforu:	7,6
czas pomiaru:	30 s

Zasada metody:

Metoda oparta jest na reakcji reduktazy glutationowej i NADPH z utlenioną formą glutationu i odtworzeniu formy zredukowanej glutationu. Reakcję zapoczątkowuje dodatek t-butylu do badanej próbki. Pod wpływem pIGSHPx zawartej w próbce, t-butyl utlenia GSH do GSSG. Jest on następnie redukowany do GSH kosztem NADPH, co powoduje zmianę absorbancji, proporcjonalną do ubytku NADPH. Niespecyficzną aktywność w czasie pomiaru,

która mogłaby pochodzić od katalazy usuwa się przez dodatek azydku sodu. Efekt nieenzymatycznego utleniania GSH do GSSG jest oznaczany w odrębnym pomiarze, w którym próbkę zawierającą pIGSPHx zastępuje się wodą. Aktywność pIGSHPx wyrażoną w jednostkach odpowiadających utlenieniu 1 mikromola NADPH w czasie 1 minuty przelicza się na 1 L osocza (U/L).

Precyzja pomiaru sygnału analitycznego wynosiła: 7,6%.

1.3.3. Oznaczenie stężenia hormonu tyreotropowego w osoczu krwi (TSH)

Oznaczenia zostały wykonane w Zakładzie Biochemii Klinicznej Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii CMUJ, przy użyciu licznika promieniowania gamma - Gamma 4000 firmy Beckman (USA) stosując zestaw odczynników firmy Orion Diagnostica (Finlandia).

Warunki pomiaru:

czas pomiaru:	1 min
błąd pomiaru:	<1%
zakres pomiarowy:	0-50,0 mU/L

Zasada metody:

Metoda immunoradiometryczna. Próbkę osocza wraz z nadmiarem przeciwciał monoklonalnych przeciw TSH znakowanych ^{125}I , przenoszone są do probówek, opłaszczonych innymi przeciwciałami monoklonalnymi przeciw TSH. Po zmieszaniu i inkubowaniu próbki są dekantowane i przemywane. Radioaktywność związana z powierzchnią probówek, zmierzona licznikiem gamma, jest proporcjonalna do stężenia TSH w próbkach.

Precyzja pomiaru sygnału analitycznego wynosiła: 3,0%; precyzja postępowania analitycznego wynosiła: 5%.

1.3.4. Oznaczenie stężenia wolnej tyroksyny w osoczu krwi (fT₄)

Oznaczenia zostały wykonane w Zakładzie Biochemii Klinicznej Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii CMUJ przy użyciu licznika promieniowania gamma -

Gamma 4000 firmy Beckman (USA) stosując zestaw odczynników firmy Immunonotech (Francja).

Warunki pomiaru:

czas pomiaru:	1 min
błąd pojedynczego pomiaru:	<1%
zakres pomiarowy:	0-100 pmol/L

Zasada metody:

Metoda radioimmunologiczna. Próbkę osocza jest inkubowana z przeciwciałami monoklonalnymi przeciw fT4 znakowanymi ^{125}I w obecności biotynylowanego analogu tyroksyny, w probówkach opłaszczonych awidyną (która jest białkiem wiążącym biotyne). fT4 i jej analog współzawodniczą o cząsteczki przeciwciał. Frakcja przeciwciał, związana z analogiem tyroksyny, łączy się z awidyną. Ilość radioaktywności związana z powierzchnią probówek po okresie inkubacji jest odwrotnie proporcjonalna do stężenia fT4 w próbkach.

Precyzja pomiaru sygnału analitycznego wynosiła: 4,4%, precyzja postępowania analitycznego wynosiła: 6,5%.

1.3.5. Oznaczenie stężenia jodu w moczu (IU)

Oznaczenia zostały przeprowadzone metodą Drożdża (1992) w oparciu o reakcję Sandella-Kolthoffa. Pomiary wykonywano w Katedrze Biochemii Klinicznej CMUJ, przy użyciu spektrofotometru DU 5 firmy Beckman.

Warunki pomiaru:

długość fali:	405 nm
temperatura:	25°C
czas pomiaru:	30 s
zakres pomiarowy:	0,1-5,0 $\mu\text{mol/L}$

Zasada metody:

Jod katalizuje utlenianie arsenu(+3) do arsenu(+4) przez jony Ce^{4+} , w środowisku kwaśnym. Powstające równocześnie jony Ce^{3+} , w odróżnieniu od jonów Ce^{4+} , nie mają

zabarwienia. W warunkach nadmiaru substratów tej reakcji, jej postęp, który można zmierzyć jako zmniejszanie się absorbancji roztworu, zależy wyłącznie od stężenia katalizatora (jodu).

Precyzja pomiaru sygnału analitycznego wynosiła: 1,8%.

1.3.6. Pomiar ultrasonograficzny objętości tarczycy (TV)

Przenośny ultrasonograf Kontron Sigma 1L z liniowym przetwornikiem 7,5 MHz (51 mm) użyty został do zmierzenia objętości tarczycy. Badanie przeprowadzono w pozycji siedzącej. Zmierzono szerokość, głębokość i długość każdego płata tarczycy. Objętość każdego płata była obliczona przez pomnożenie iloczynu tych trzech parametrów przez czynnik korekcyjny równy 0,5. Całkowita objętość tarczycy była obliczona jako suma objętości obu płatów. Pomiary zostały wykonane przez specjalistów endokrynologów w ramach programu ThyroMobil wyłącznie dla dzieci z obszaru badawczego (Szybiński i wsp., 1996).

1.4. Obliczenia statystyczne

Analizę statystyczną przeprowadzono przy pomocy programu STATISTICA.

1. Dla wszystkich parametrów sprawdzono zgodność ich rozkładu z rozkładem normalnym. Ocenę zgodności przeprowadzono testem chi-kwadrat oraz testem Kołmogorowa-Smirnowa. Jako krytyczny poziom istotności przyjęto $p=0,05$.
2. Dla wszystkich parametrów obliczono następujące statystyki opisowe: średnią arytmetyczną, medianę, minimum, maksimum, dolny kwartył, górny kwartył, odchylenie standardowe, błąd standardowy,
3. Istotność różnic wartości średnich w dwóch populacjach, dla parametrów o rozkładzie normalnym i o jednorodnych wariancjach, sprawdzono testem t-Studenta.
4. Jednorodność wariancji sprawdzono testem Bartletta.
5. Istotność różnic wartości średnich w więcej niż dwóch populacjach, dla parametrów o rozkładzie normalnym i o jednorodnych wariancjach, sprawdzono analizą wariancji (ANOVA). Dla zweryfikowania różnic pomiędzy wartościami średnimi zastosowano test Tukeya.
5. Istotność różnic wartości średnich w dwóch lub więcej populacjach, dla parametrów o rozkładzie różnym od normalnego lub o niejednorodnych wariancjach, sprawdzono testem nieparametrycznym Kruskala-Wallisa.

6. Dla par parametrów o rozkładach normalnych obliczono współczynniki korelacji Pearsona; dla par parametrów o rozkładach różnych od normalnego (przynajmniej jeden z parametrów miał rozkład różny od normalnego) obliczono współczynniki korelacji Spearmana; gdy korelacja Pearsona była istotna statystycznie, wyznaczano funkcję liniową regresji.

7. Analizę składowych głównych (PCA) zastosowano dla zbadania współzależności między parametrami oraz dla znalezienia składowych tłumaczących te współzależności. Przed zastosowaniem analizy składowych głównych, parametry były logarytmowane oraz unormowane na średnią 0 i odchylenie standardowe 1. Redukcja liczby składowych była przeprowadzona w oparciu o następujące reguły: 1) uwzględnia się tylko składowe o wariancjach większych od jedności; 2) uwzględnia się tylko te składowe, dla których suma wariancji względem wariancji łącznej wszystkich składowych jest większa od 50%. Współczynniki składowych głównych zostały unormowane tak, aby suma ich kwadratów była równa 1. Rotacji składowych głównych dokonano metodą Varimax. Zrzutowanie punktów, reprezentujących poszczególne dzieci w przestrzeni parametrów, wykonano w celu porównania rozmieszczenia grupy badanej i porównawczej w układzie wspólnych głównych składowych (Wold, 1987, Furdal, 1989, Morrison, 1990, Jajuga, 1993).

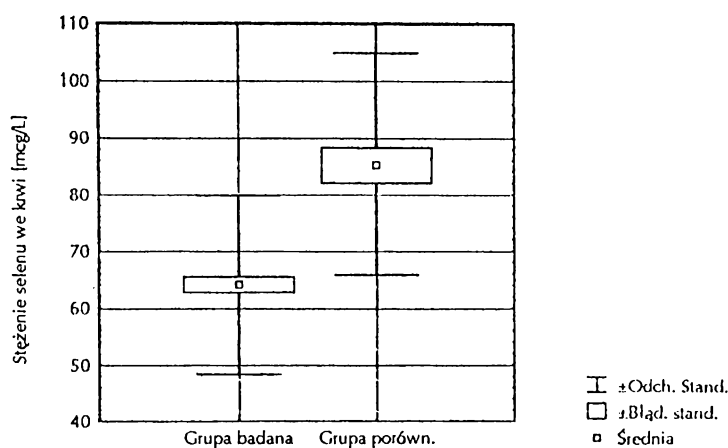
2. WYNIKI BADAŃ

2.1. Wyniki pomiarów badanych parametrów

2.1.1. Wyniki analizy stężenia selenu we krwi

Stężenie selenu we krwi zostało oznaczono u 136 dzieci z grupy badanej (100% grupy badanej) oraz u 37 dzieci z grupy porównawczej (97% grupy porównawczej). Wartości średnie w obu grupach wynosiły odpowiednio (wartość średnia $\pm$ odchylenie standardowe): $64,1 \pm 15,7$ $\mu\text{g/L}$ oraz $85,3 \pm 19,6$ $\mu\text{g/L}$.

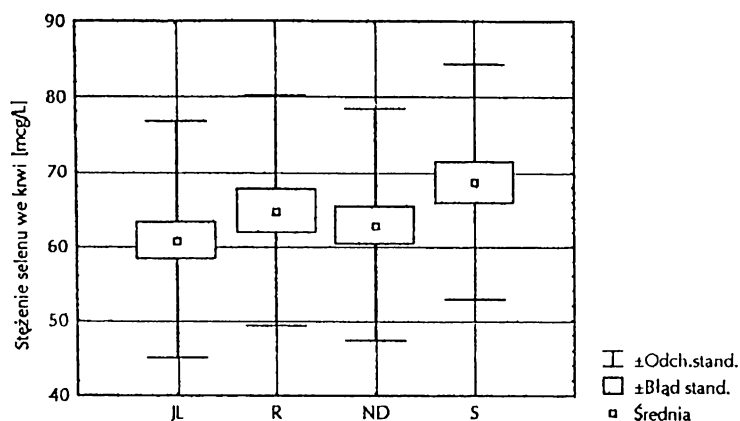
Wyniki oznaczeń, z uwzględnieniem poszczególnych miejscowości oraz podziału na płeć, przedstawiono w Tabeli A1 w Aneksie. Do oceny istotności różnicy wartości średnich w grupie badanej i porównawczej wykorzystano test t-Studenta. Wartości te różniły się znacząco. Wynik oceny przedstawiono na Rycinie 1.



Rycina 1. Stężenie selenu we krwi [µg/L] dzieci w grupie badanej i grupie porównawczej ($p < 0,001$).

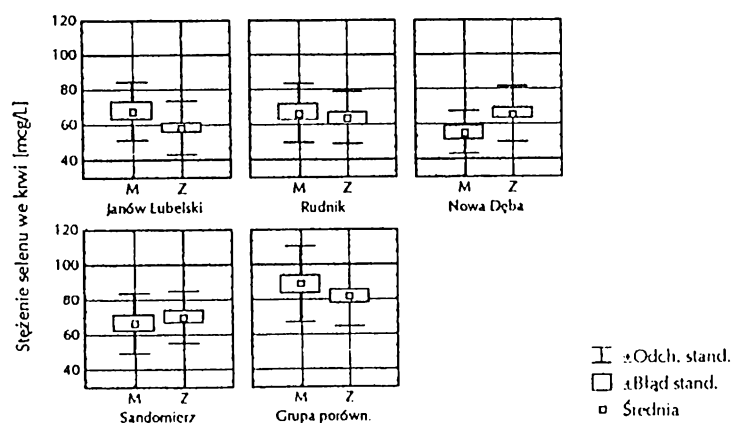
Do oceny wpływu miejsca zamieszkania dzieci na stężenie selenu we krwi wykorzystano jednoczynnikową analizę wariancji. Wykazano brak statystycznie istotnych różnic w stężeniu selenu ze względu na miejsce zamieszkania. Jednak ta sama analiza, przeprowadzona z uwzględnieniem płci, wykazała, że grupa dziewcząt z Janowa Lubelskiego miała znamienne niższe stężenie selenu aniżeli grupa z Sandomierza ($p < 0,05$).

Wynik analizy przedstawiono na Rycinach 2 i 3.



Rycina 2. Stężenie selenu [µg/L] we krwi dzieci z różnych miejscowości (JL - populacja z Janowa Lubelskiego, R - populacja z Rudnika, ND - populacja z Nowej Dęby, S - populacja z Sandomierza).

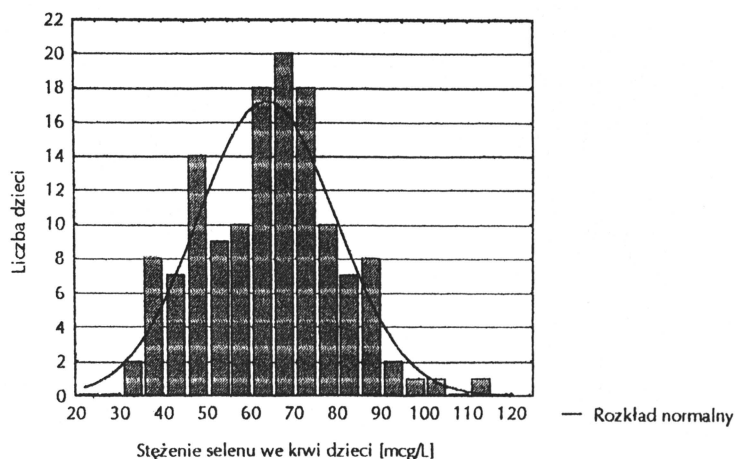
Do oceny wpływu płci dzieci na stężenie selenu we krwi zastosowano test t-Studenta. Wykazano brak statystycznie istotnych różnic w stężeniu selenu ze względu na płeć zarówno w grupie badanej ($p=0,866$) jak i w grupie porównawczej ($p=0,322$). Największe różnice pomiędzy dziewczętami i chłopcami stwierdzono w Janowie Lubelskim (wartości średnie $\pm$ odchylenie standardowe: chłopcy - $67,5 \pm 16,6$ µg/L, dziewczęta - $58,2 \pm 15,0$ µg/L) oraz w Nowej Dębie (wartości średnie $\pm$ odchylenie standardowe: chłopcy - $55,0 \pm 12,1$ µg/L, dziewczęta - $65,5 \pm 15,8$ µg/L). Jednak także te różnice nie były statystycznie istotne (odpowiednie poziomy istotności: $p=0,099$ i $p=0,079$). Wynik analizy przedstawiono na Rycinie 3.



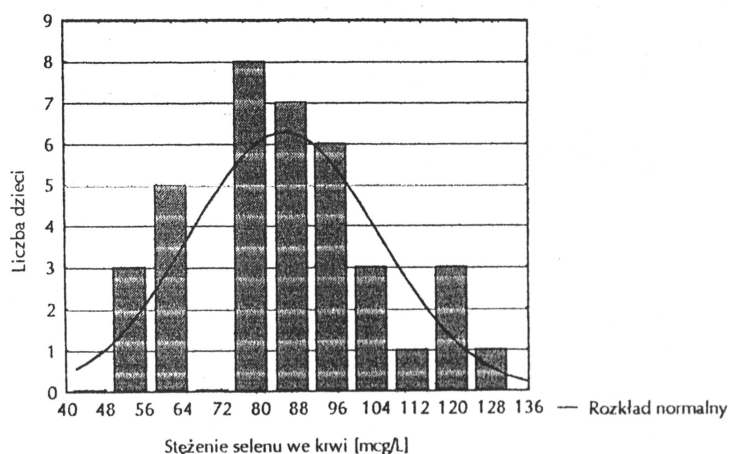
Rycina 3. Stężenie selenu [µg/L] we krwi dzieci z różnych miejscowości w grupie badanej i w grupie porównawczej z uwzględnieniem podziału na płeć. M - chłopcy, Z - dziewczęta.

W grupie badanej 85% dzieci miało stężenie selenu we krwi poniżej 80 µg/L. W poszczególnych miejscowościach odsetek ten wynosił: Janów Lubelski: 87%, Rudnik: 82%,

Nowa Dęba: 92%, Sandomierz: 75%). W grupie porównawczej 43% dzieci miało stężenie selenu poniżej 80 $\mu\text{g/L}$. Rozkłady stężeń selenu we krwi dzieci w grupie badanej i grupie porównawczej przedstawiono na Rycinach 4 i 5.



Rycina 4. Rozkład stężeń selenu [$\mu\text{g/L}$] we krwi dzieci z grupy badanej.



Rycina 5. Rozkład stężeń selenu [$\mu\text{g/L}$] we krwi dzieci z grupy porównawczej.

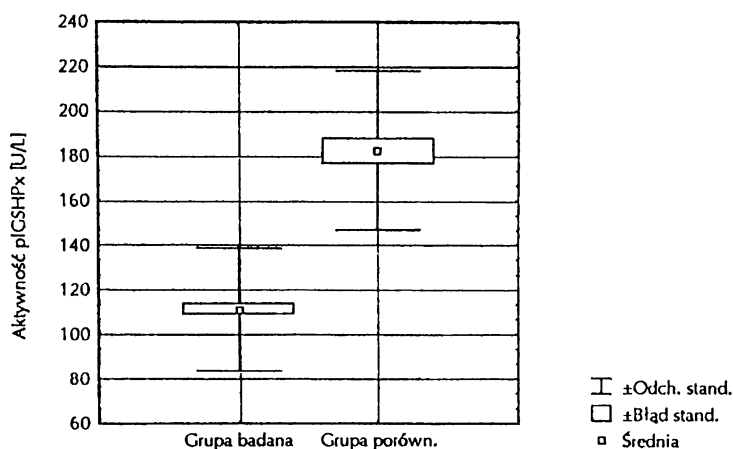
Zarówno w grupie badanej jak i w grupie porównawczej nie stwierdzono korelacji stężenia selenu we krwi z wiekiem dzieci.

2.1.2. Wyniki analizy aktywności peroksydazy glutationowej w osoczu krwi

Aktywność peroksydazy glutationowej w osoczu krwi została oznaczona u 135 dzieci z grupy badanej (99% grupy badanej) oraz u wszystkich dzieci z grupy porównawczej. Wartości

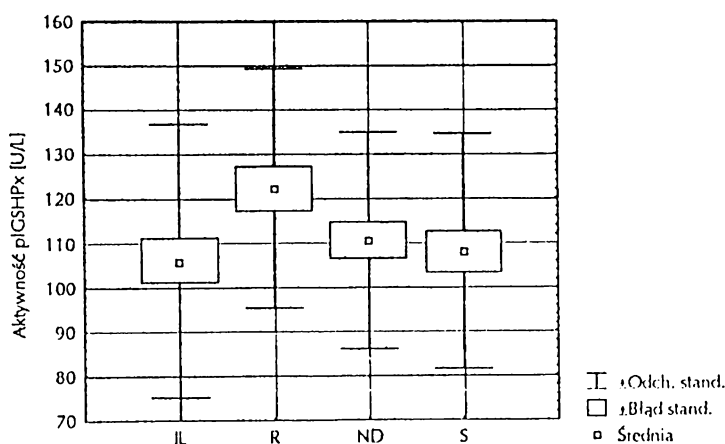
średnie w obu grupach wynosiły odpowiednio (wartość średnia $\pm$ odchylenie standardowe): 111,0 $\pm$ 27,6 U/L oraz 182,4 $\pm$ 35,6 U/L.

Wyniki oznaczeń, z uwzględnieniem poszczególnych miejscowości oraz podziału na płeć, przedstawiono w Tabeli A2 w Aneksie. Do oceny istotności różnicy wartości średnich w grupie badanej i porównawczej wykorzystano test Kruskala-Wallisa. Wartości te różniły się znacząco. Wynik oceny statystycznej przedstawiono na Rycinie 6.



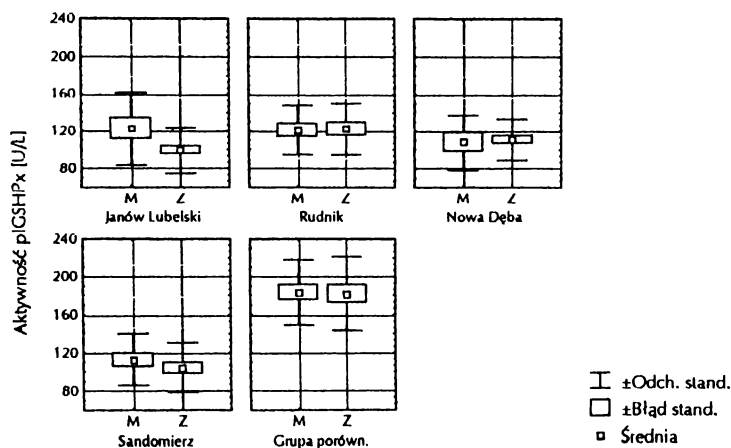
Rycina 6. Aktywność peroksydazy glutationowej [U/L] w osoczu krwi dzieci z grupy badanej i grupy porównawczej, ($p < 0,001$).

Do oceny wpływu miejsca zamieszkania dzieci na aktywność peroksydazy glutationowej w osoczu krwi wykorzystano jednoczynnikową analizę wariancji. Wykazano brak statystycznie istotnych różnic w aktywności peroksydazy glutationowej ze względu na miejsce zamieszkania. Wynik analizy przedstawiono na Rycinie 7.



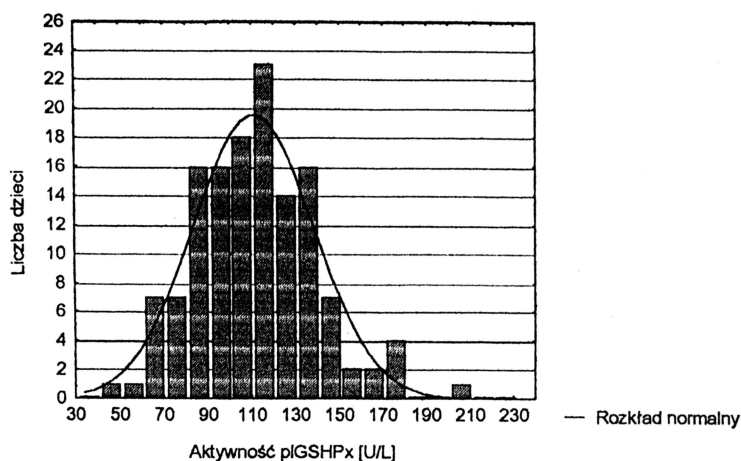
Rycina 7. Aktywność peroksydazy glutationowej [U/L] w osoczu dzieci z różnych miejscowości (JL - populacja z Janowa Lubelskiego, R - populacja z Rudnika, ND - populacja z Nowej Dęby, S - populacja z Sandomierza).

Do oceny wpływu płci dzieci na aktywność peroksydazy glutationowej w osoczu zastosowano test t-Studenta. Wykazano brak statystycznie istotnych różnic w aktywności peroksydazy glutationowej ze względu na płeć zarówno w całej badanej grupie ($p=0,082$) jak i w grupie porównawczej ($p=0,837$). Największą różnicę pomiędzy dziewczętami i chłopcami stwierdzono w Janowie Lubelskim (wartości średnie $\pm$ odchylenie standardowe: chłopcy - $122,6 \pm 39,2$ U/L, dziewczęta - $99,1 \pm 24,2$ U/L) i w tym przypadku była to różnica znacząca ($p < 0,05$). Wynik analizy przedstawiono na Rycinie 8.

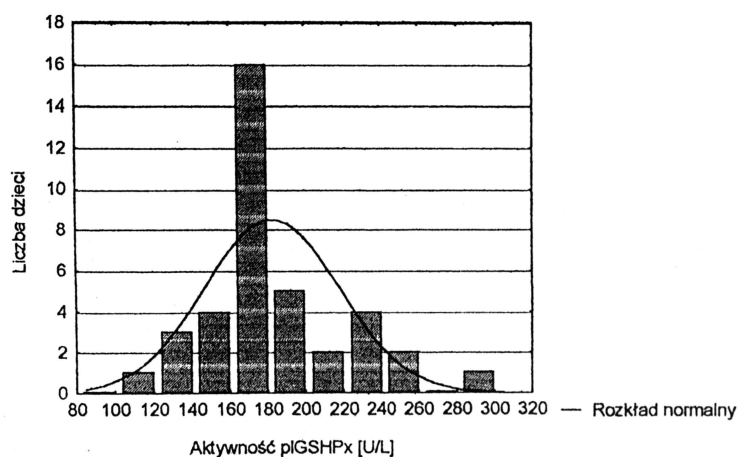


Rycina 8. Aktywność peroksydazy glutationowej [U/L] w osoczu dzieci z różnych miejscowości w grupie badanej i w grupie porównawczej z uwzględnieniem podziału na płeć. M - chłopcy, Z - dziewczęta.

Średnia aktywność peroksydazy glutationowej w grupie badanej stanowiła 61% średniej aktywności peroksydazy glutationowej w grupie porównawczej. U dzieci z poszczególnych miejscowości ułamek ten wynosił: w Janowie Lubelskim: 58%, w Rudniku: 67%, w Nowej Dębie: 61%, w Sandomierzu: 59%. Rozkłady aktywności peroksydazy glutationowej w osoczu dzieci z grupy badanej i grupy porównawczej przedstawiono na Rycinach 9 i 10.



Rycina 9. Rozkład aktywności peroksydazy glutationowej [U/L] w osoczu dzieci z grupy badanej.



Rycina 10. Rozkład aktywności peroksydazy glutationowej [U/L] w osoczu dzieci z grupy porównawczej.

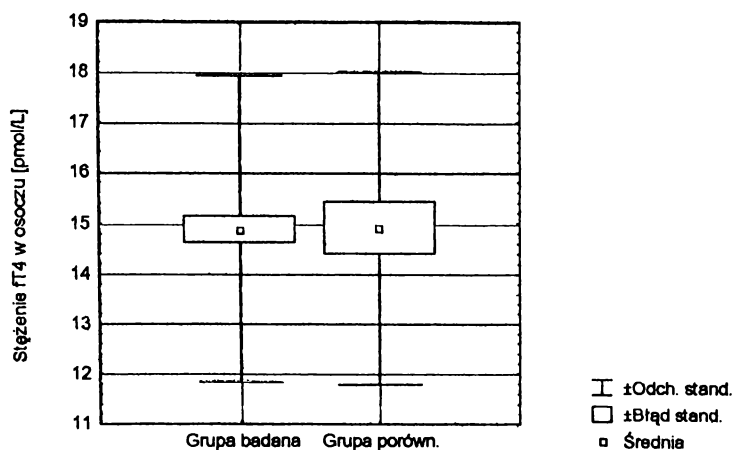
Zarówno w grupie badanej jak i w grupie porównawczej nie stwierdzono korelacji aktywności peroksydazy glutationowej w osoczu z wiekiem dzieci.

2.1.3. Wyniki analizy stężenia wolnej tyroksyny w osoczu krwi

Stężenie wolnej tyroksyny w osoczu krwi zostało oznaczone u 135 dzieci z grupy badanej (99% grupy badanej) oraz u wszystkich dzieci z grupy porównawczej. Wartości średnie w obu grupach wynosiły odpowiednio (wartość średnia $\pm$ odchylenie standardowe): $14,9 \pm 3,0$ pmol/L oraz $15,0 \pm 3,0$ pmol/L.

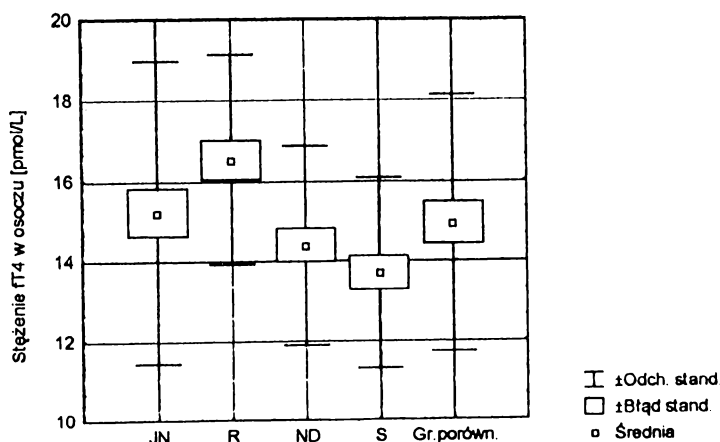
Wyniki oznaczeń, z uwzględnieniem poszczególnych miejscowości oraz podziału na płeć, przedstawiono w Tabeli A3 w Aneksie. Do oceny istotności różnicy wartości średnich w

grupie badanej i porównawczej wykorzystano test t-Studenta. Wartości te nie różniły się znacząco. Wynik oceny statystycznej przedstawiono na Rycinie 11.



Rycina 11. Stężenie wolnej tyroksyny [pmol/L] w osoczu dzieci z grupy badanej i grupy porównawczej.

Do oceny wpływu miejsca zamieszkania dzieci na stężenie wolnej tyroksyny w osoczu wykorzystano jednoczynnikową analizę wariancji, wyniki której zweryfikowano testem Tukeya. Wykazano statystycznie istotne różnice w stężeniu wolnej tyroksyny ze względu na miejsce zamieszkania. Dzieci mieszkające w Rudniku miały najwyższe stężenie hormonu ($16,5 \pm 2,6$ pmol/L), które istotnie różniło się od stężeń w Nowej Dębie ($14,4 \pm 2,5$ pmol/L) i Sandomierzu ($13,7 \pm 2,4$ pmol/L). Wyniki analizy przedstawiono na Rycinie 12.

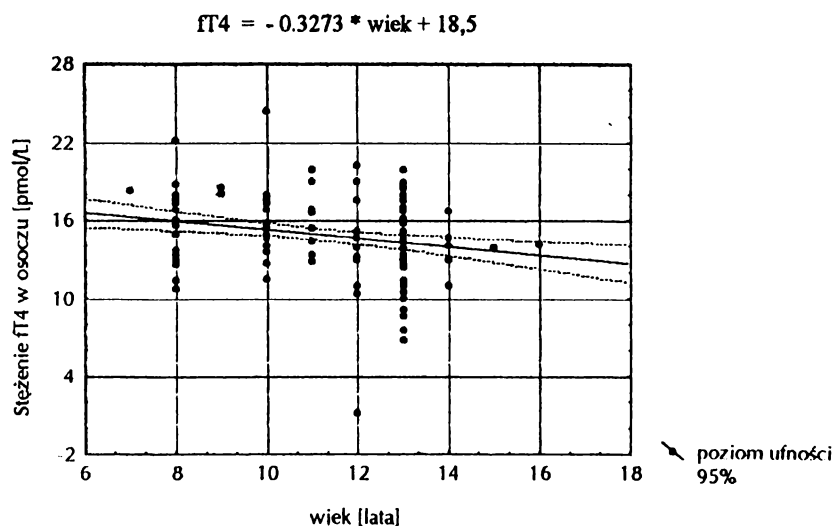


Rycina 12. Stężenie wolnej tyroksyny [pmol/L] w osoczu dzieci z różnych miejscowości w grupie badanej oraz w grupie porównawczej (JL - populacja z Janowa Lubelskiego, R - populacja z Rudnika, ND - populacja z Nowej Dęby, S - populacja z Sandomierza). Poziomy istotności różnic: pomiędzy R i ND: $p < 0,05$, pomiędzy R i S: $p < 0,005$.

Do oceny wpływu płci dzieci na stężenie wolnej tyroksyny w osoczu zastosowano test t-Studenta. Wykazano brak statystycznie istotnych różnic w stężeniu wolnej tyroksyny ze względu na płeć zarówno w całej badanej grupie ($p=0,600$) jak i w grupie porównawczej ($p=0,410$). Największą różnicę pomiędzy dziewczętami i chłopcami stwierdzono w Nowej Dębie (wartości średnie $\pm$ odchylenie standardowe: chłopcy - $13,1 \pm 2,8$ pmol/L, dziewczęta - $14,8 \pm 2,3$ pmol/L). Nie była to jednak różnica istotna statystycznie ($p=0,090$).

Zakres wartości prawidłowych dla stężenia wolnej tyroksyny wynosi 7,4-23,2 pmol/L. W grupie badanej 2 dzieci (1,5%) znajdowało się poniżej dolnej granicy normy natomiast u 1 dziecka (0,7%) stężenie fT4 było powyżej górnej granicy normy. W grupie porównawczej 1 dziecko (3%) miało fT4 powyżej górnej granicy normy.

W grupie badanej występowała znamienna statystycznie korelacja pomiędzy stężeniem fT4 a wiekiem dzieci ($r=-0,228$, $p<0,01$). Wyniki analizy regresji przedstawiono na Rycinie 13. W grupie porównawczej nie stwierdzono korelacji pomiędzy tymi wielkościami ($p=0,846$).

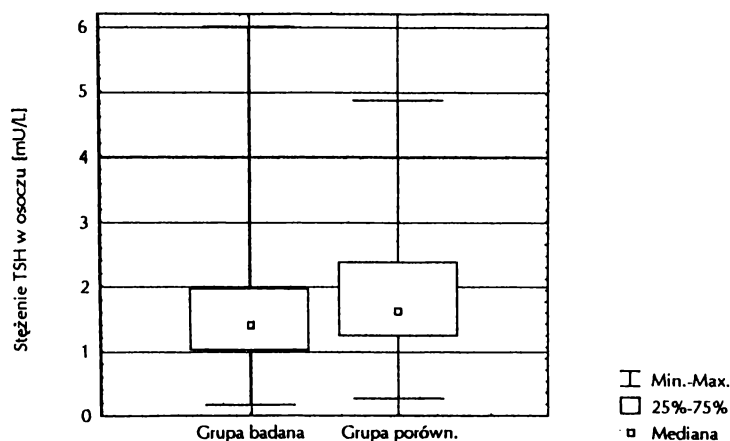


Rycina 13. Prosta regresji dla zależności stężenia wolnej tyroksyny od wieku w grupie badanej, krzywe ufności oraz punkty pomiarowe.

2.1.4. Wyniki analizy stężenia TSH w osoczu krwi

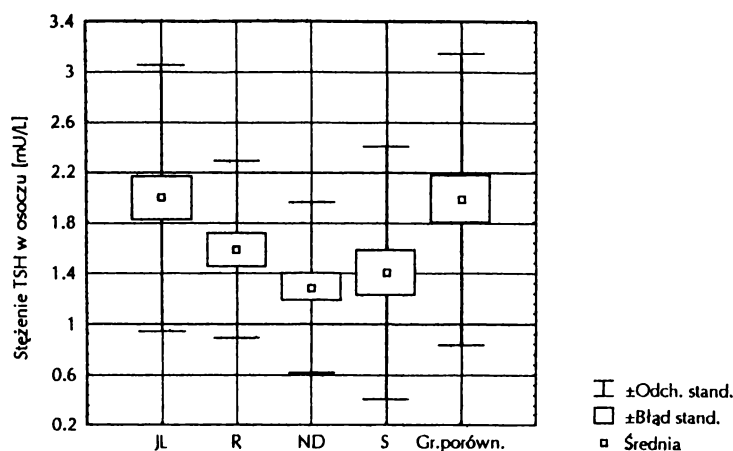
Stężenie TSH w osoczu krwi zostało oznaczone u 134 dzieci z grupy badanej (99% grupy badanej) oraz u 37 dzieci z grupy porównawczej (97% grupy porównawczej). Wartości średnie w obu grupach wynosiły odpowiednio (wartość średnia $\pm$ odchylenie standardowe): $1,57 \pm 0,91$ mU/L oraz $1,99 \pm 1,17$ mU/L.

Wyniki oznaczeń, z uwzględnieniem poszczególnych miejscowości oraz podziału na płeć, przedstawiono w Tabeli A4 w Aneksie. Do oceny istotności różnicy wartości średnich w całej grupie badanej i porównawczej wykorzystano test Kruskala-Wallisa. Wartości te nie różniły się znacząco ($p=0,062$). Wynik oceny przedstawiono na Rycinie 14.



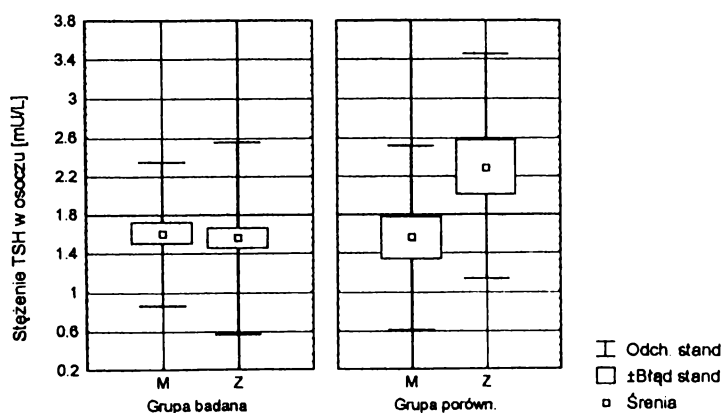
Rycina 14. Stężenie TSH [mU/L] w osoczu krwi dzieci z grupy badanej i grupy porównawczej.

Do oceny wpływu miejsca zamieszkania dzieci na stężenie TSH w osoczu wykorzystano test Kruskala-Wallisa. Wykazano statystycznie istotne różnice w stężeniu TSH ze względu na miejsce zamieszkania. Dzieci mieszkające w Janowie Lubelskim miały najwyższe stężenie hormonu ($1,99 \pm 1,34$ mU/L), które istotnie różniło się od stężeń w Nowej Dębie ($1,28 \pm 0,67$ mU/L) i Sandomierzu ($1,40 \pm 0,99$ mU/L). Wartości stężeń w Rudniku ($1,58 \pm 0,70$) różniły się znacząco w stosunku do stężeń z Nowej Dęby. Ponadto znaczące różnice stwierdzono pomiędzy grupą porównawczą ($1,99 \pm 1,17$) oraz grupami z Nowej Dęby i Sandomierza. Wynik analizy przedstawiono na Rycinie 15.



Rycina 15. Stężenie TSH [mU/L] w osoczu krwi dzieci z różnych miejscowości w grupie badanej oraz w grupie porównawczej (JL - populacja z Janowa Lubelskiego, R - populacja z Rudnika, ND - populacja z Nowej Dęby, S - populacja z Sandomierza). Poziomy istotności różnic między grupami: JL i ND: $p < 0,005$, JL i S: $p < 0,01$, R i ND: $p < 0,05$, ND i Grupa porówn.: $p < 0,005$, S i Grupa porówn.: $p < 0,05$.

Do oceny wpływu płci dzieci na stężenie TSH w osoczu zastosowano test Kruskala-Wallisa. Wykazano brak statystycznie istotnej różnicy w stężeniu TSH ze względu na płeć w badanej grupie ($p = 0,600$). Natomiast w grupie porównawczej różnica ta była znamienna ($p < 0,05$). Wynik analizy przedstawiono na Rycinie 16.



Rycina 16. Stężenie TSH w osoczu krwi [mU/L] w grupie badanej oraz w grupie porównawczej z uwzględnieniem podziału na płeć. M - chłopcy, Z - dziewczęta.

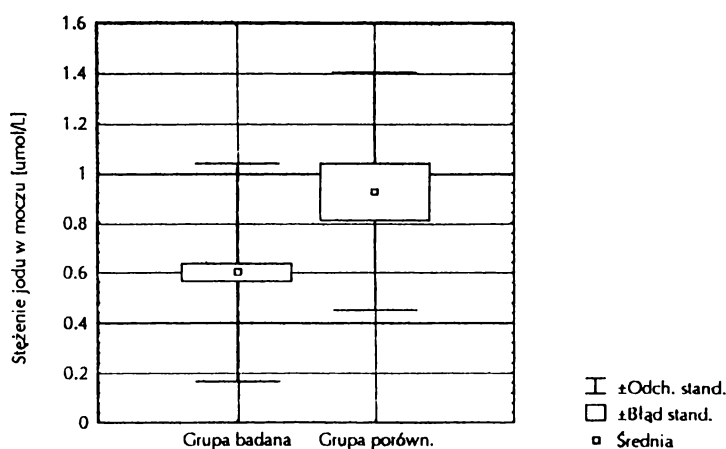
Zakres wartości prawidłowych dla stężenia TSH wynosi 0,6-5,0 mU/L. W grupie badanej, u 11 dzieci (8% grupy badanej) wartości TSH znajdowały się poniżej dolnej granicy normy, natomiast u 1 dziecka (0,7% grupy badanej) stężenie TSH było powyżej górnej granicy

normy. W grupie porównawczej u 1 dziecka (3% grupy porównawczej) stwierdzono stężenie TSH poniżej dolnej granicy normy.

Zarówno w grupie badanej jak i w grupie porównawczej nie stwierdzono korelacji stężenia TSH w osoczu z wiekiem dzieci.

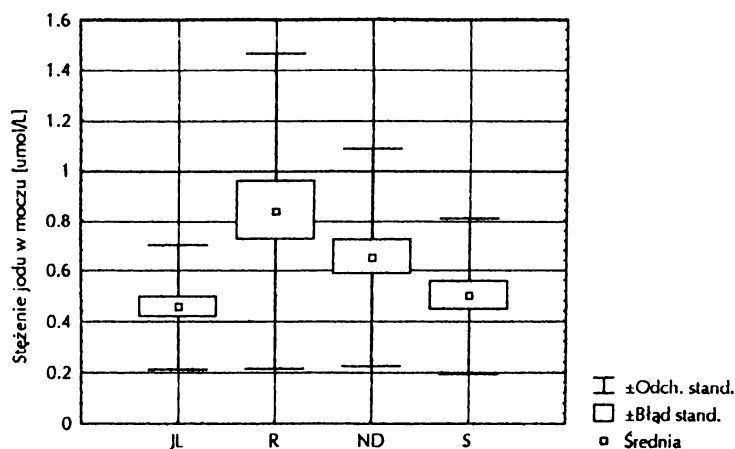
2.1.5. Wyniki analizy stężenia jodu w moczu

Stężenie jodu w moczu zostało oznaczone u wszystkich dzieci z grupy badanej oraz u 17 dzieci z grupy porównawczej (45% grupy porównawczej). Wartości średnie w obu grupach wynosiły odpowiednio (wartość średnia $\pm$ odchylenie standardowe): $0,60 \pm 0,43 \mu\text{mol/L}$ oraz $0,92 \pm 0,48 \mu\text{mol/L}$. Wyniki oznaczeń, z uwzględnieniem poszczególnych miejscowości oraz podziału na płeć, przedstawiono w Tabeli A5 w Aneksie. Do oceny istotności różnicy wartości średnich w całej grupie badanej i porównawczej wykorzystano test Kruskala-Wallisa. Wartości te różniły się znacząco ($p < 0,005$). Wynik oceny przedstawiono na Rycinie 17.



Rycina 17. Stężenie jodu [$\mu\text{mol/L}$] w moczu dzieci z grupy badanej i grupy porównawczej.

Do oceny wpływu miejsca zamieszkania dzieci na stężenie jodu w moczu wykorzystano test Kruskala-Wallisa. Wykazano statystycznie istotne różnice w stężeniu jodu w moczu ze względu na miejsce zamieszkania. Dzieci mieszkające w Rudniku miały najwyższe stężenie jodu w moczu ($0,83 \pm 0,63 \mu\text{mol/L}$). Różniło się ono istotnie od stężeń w Janowie Lubelskim ($0,45 \pm 0,24 \mu\text{mol/L}$) i Sandomierzu ($0,50 \pm 0,31 \mu\text{mol/L}$). Wartości stężeń w Janowie Lubelskim były najniższe i różniły się znacząco także w stosunku do stężeń z Nowej Dęby ($0,65 \pm 0,43 \mu\text{mol/L}$). Tylko u dzieci z Rudnika nie stwierdzono znamiennej różnicy w stosunku do dzieci z grupy porównawczej ($p = 0,328$). Wyniki analizy przedstawiono na Rycinie 18.



Rycina 18. Stężenie jodu [$\mu\text{mol/L}$] w moczu dzieci z różnych miejscowości w grupie badanej. (JL - populacja z Janowa Lubelskiego, R - populacja z Rudnika, ND - populacja z Nowej Dęby, S - populacja z Sandomierza). Poziomy istotności różnic między grupami: R i JL: $p < 0,005$, R i S: $p < 0,05$, JL i ND: $p < 0,05$.

Do oceny wpływu płci dzieci na stężenie jodu w moczu zastosowano test Kruskala-Wallis. Wykazano brak statystycznie istotnej różnicy w stężeniu jodu w moczu ze względu na płeć w badanej grupie ($p = 0,239$) oraz w grupie porównawczej ($p = 0,670$).

Dolna granica zakresu wartości prawidłowych dla stężenia jodu w moczu wynosi $0,79 \mu\text{mol/L}$. U 99 dzieci w grupie badanej (73% grupy badanej) stwierdzono wartości poniżej dolnej granicy normy. W grupie porównawczej 7 dzieci (18% grupy porównawczej) miało stężenie jodu poniżej dolnej granicy normy.

Zarówno w grupie badanej jak i w grupie porównawczej nie stwierdzono korelacji stężenia jodu w moczu z wiekiem dzieci.

2.1.6. Stopień zaawansowania wola w grupie badanej

Stopień zaawansowania wola w grupie badanej przedstawiono w Tabelach 14-16.

Tabela 14. Stopień wola w całej badanej grupie.

Stopień wola	Liczba dzieci	Procent całej grupy
IA	9	6,6
I B	66	48,5
II	61	44,9

Tabela 15. Stopień wola w badanej podgrupie dziewcząt.

Stopień wola	Liczba dzieci	Procent podgrupy dziewcząt
IA	5	6,2
I B	37	45,7
II	39	48,1

Tabela 16. Stopień wola w badanej podgrupie chłopców.

Stopień wola	Liczba dzieci	Procent podgrupy chłopców
IA	4	7,3
I B	29	52,7
II	22	40,0

W badanej grupie najczęściej występowało wole stopnia IB. W podgrupie dziewcząt zbliżone proporcje stwierdzono dla stopni IB i II, natomiast w podgrupie chłopców najczęściej rozpoznano wole stopnia IB. Wyniki dotyczące objętości tarczycy zebrane zostały przez zespół profesora Szybińskiego i dlatego nie są tutaj tabelaryzowane. Posłużyły one jedynie do sprawdzenia istotności korelacji pomiędzy wybranymi parametrami.

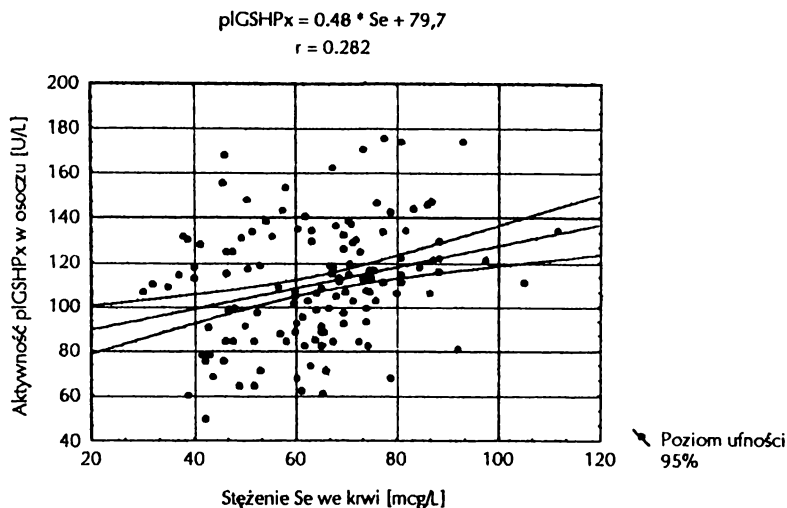
2.2. Analiza zależności między badanymi parametrami

2.2.1. Współczynniki korelacji Pearsona lub Spearmana

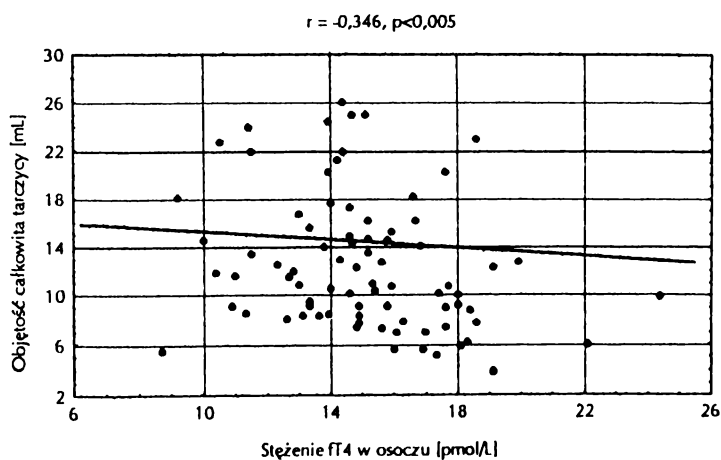
Dla wszystkich możliwych par pięciu parametrów (Se, plGSHPx, TSH, fT4, IU) obliczono współczynniki korelacji Pearsona lub Spearmana. Ponadto w grupie badanej podjęto próbę ustalenia korelacji pomiędzy wymienionymi parametrami a całkowitą objętością tarczycy (TV) oraz całkowitą objętością tarczycy odniesioną do górnych zakresów normy objętości tarczycy w ocenie USG wg.: Delange'a (TVD), Gołkowskiego i wsp. (TVGO) lub wg. Gutekunst (TVGU).

Wzajemne zależności w grupach - badanej i porównawczej zebrano w Tabelach A6 i A7 w Aneksie. Zależność pomiędzy plGSHPx i Se w grupie badanej przedstawiono na Rycinie 19, zależność pomiędzy TV i fT4 w podgrupie dziewcząt z grupy badanej przedstawiono na Rycinie

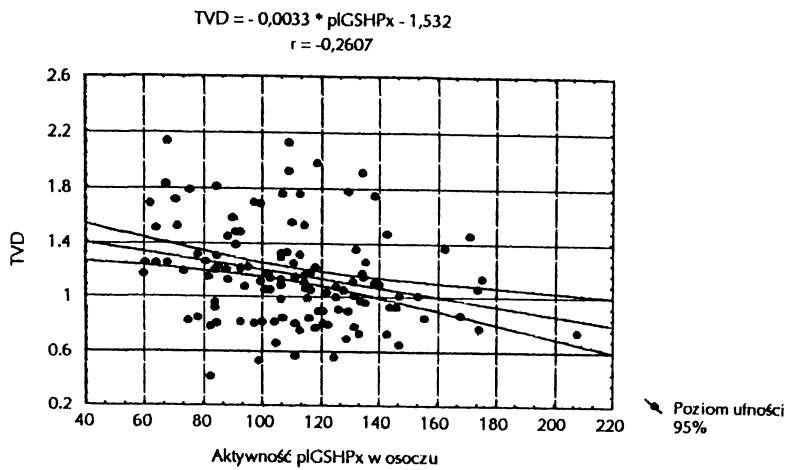
20 a zależność pomiędzy całkowitą-objętością-tarczycy-odniesioną-do-górných-zakresów-normy-objętości-tarczycy-w-ocenie-USG-wg.-Delange'a i aktywnością pIGSHPx - na Rycinie 21.



Rycina 19. Prosta regresji dla zależności aktywności pIGSHPx od stężenia Se we krwi, krzywe ufności oraz punkty pomiarowe.



Rycina 20. Zależność objętości całkowitej tarczycy od stężenia FT4 w osoczu dziewcząt w grupie badanej.



Rycina 21. Prosta regresji dla zależności całkowitej-objętości-tarczycy-odniesionej-do-górnych-zakresów-normy-objętości-tarczycy-w-ocenie-USG-wg.-Delange'a od aktywności pIGSHPx, krzywe ufności oraz punkty pomiarowe.

2.2.2. Analiza składowych głównych

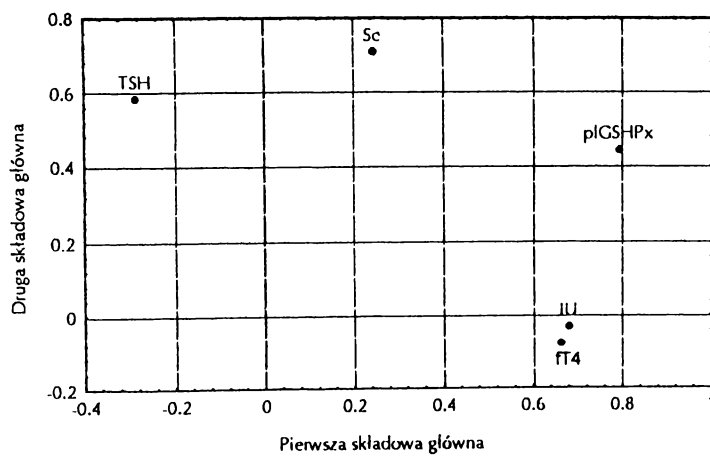
Postępując się kryteriami sformułowanymi w rozdziale „Obliczenia statystyczne”, postanowiono uwzględniać tylko dwie pierwsze składowe główne. Wyniki analizy składowych głównych dla obu grup łącznie przedstawiono w Tabelach 17-18. Całkowity procent zmienności parametrów wyjaśniony przez dwie pierwsze składowe wynosił 54,6%. Współczynniki korelacji pomiędzy parametrami: Se, pIGSHPx, TSH, fT4, IU a głównymi składowymi przedstawiono na Rycinie 22. Natomiast na Rycinie 23 przedstawiono rozrzut wszystkich analizowanych obiektów (wszystkich dzieci) w układzie dwóch pierwszych składowych głównych obliczonych dla obu grup łącznie.

Tabela 17. Wartości własne macierzy korelacji parametrów (Se, pIGSHPx, TSH, fT4, IU) oraz procent zmienności wymienionych parametrów wyjaśniony przez dwie pierwsze składowe główne łącznie w grupach: badanej i porównawczej.

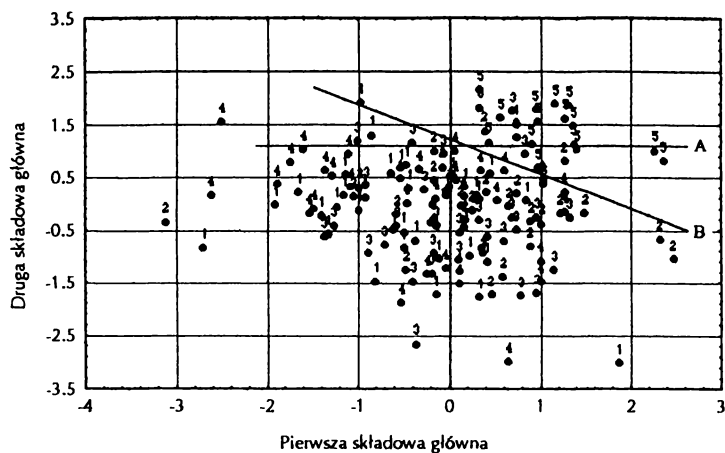
	I składowa	II składowa
Wartości własne	1,677	1,051
Procent zmienności	33,5	21,1

Tabela 18. Współczynniki pierwszej i drugiej składowej głównej oraz współczynniki korelacji pomiędzy parametrami i składowymi głównymi łącznie w grupach: badanej i porównawczej.

Parametr	I składowa		II składowa		Zasoby wspólne
	wsp. I skład.	wsp. korel.	wsp. II skład.	wsp. korel.	
ft4	0,512	0,663	-0,074	-0,076	0,390
TSH	-0,222	-0,287	0,571	0,585	0,485
Se	0,190	0,246	0,693	0,710	0,662
plGSHPx	0,613	0,793	0,433	0,444	0,786
IU	0,526	0,681	-0,029	-0,030	0,406



Rycina 22. Współczynniki korelacji pomiędzy parametrami oraz pierwszą i drugą składową główną obliczonymi łącznie dla grupy badanej i porównawczej.



Rycina 23. Rozrzut analizowanych obiektów (wszystkich dzieci) w układzie dwóch pierwszych składowych głównych obliczonych łącznie dla grupy badanej i porównawczej. Oznaczenia: 1 - populacja z Janowa Lubelskiego, 2 - populacja z Rudnika, 3 - populacja z Nowej Dęby, 4 - populacja z Sandomierza, 5 - grupa porównawcza. Prosta A rozdziela w kierunku pionowym obszar zgrupowania obiektów należących głównie do grupy porównawczej od obszaru zajmowanego przez obiekty z grupy badanej; prosta B jest liniową funkcją rozdzielającą wybraną wizualnie.

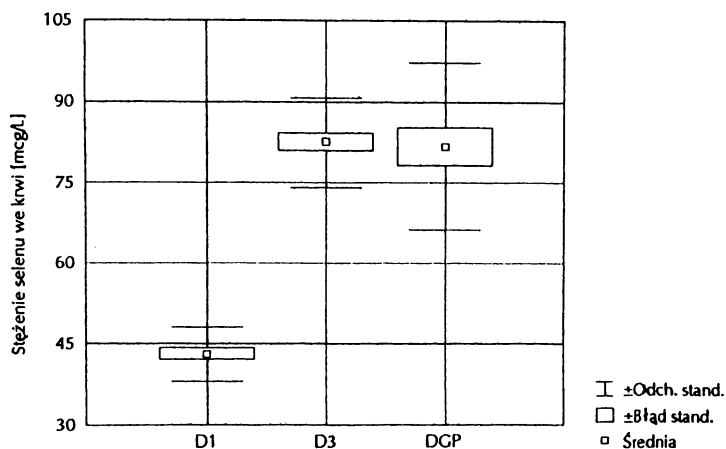
Wartości współczynników składowych głównych podane w Tabeli 18 wskazują na najsilniejsze określenie położenia pierwszej składowej głównej przez parametr $plGSHPx$ a położenia drugiej składowej głównej - przez parametr Sc . Ponieważ są to te parametry, których wartości średnie różnią się statystycznie istotnie pomiędzy grupą porównawczą oraz grupą badaną, zatem istotny równoczesny wpływ tych parametrów na dwie różne składowe główne sprawia, że nie można w pełni prawidłowo oddzielić zgrupowania obiektów 5 od pozostałych obiektów tylko przy pomocy linii prostych wertykalnych lub horyzontalnych (Rycina 21). Na przykład próba takiego rozdzielenia przy pomocy linii A daje tylko 71% obiektów 5 poprawnie zakwalifikowanych przy pięciu obiektach z grupy badanej zakwalifikowanych niepoprawnie. Natomiast liniowa funkcja rozdzielająca w postaci skośnej linii prostej (linia B) zapewnia poprawną klasyfikację aż 94% obiektów 5 (16/17).

2.3. Analiza wpływu statusu selenowego na metabolizm hormonów tarczycy u dziewcząt

Jakkolwiek nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic wartości średnich $FT4$ i TSH między grupą porównawczą oraz całą grupą badaną, to jednak różnice takie stwierdzono w niektórych podgrupach dziewcząt w grupie badanej. Z grupy tej wyodrębniono podgrupę dziewcząt (oznaczaną dalej jako D1), u których stężenie Se było poniżej pierwszego kwartyla ($n=21$) oraz podgrupę dziewcząt charakteryzującą się stężeniem Se powyżej trzeciego kwartyla (odpowiednio: D3, $n=24$). W skład grupy D1 wchodziło 12 dziewcząt z Janowa Lubelskiego

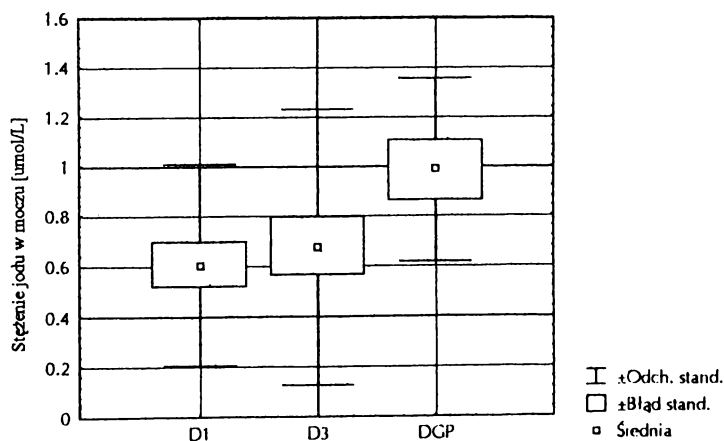
(57%), 2 z Rudnika (10%), 6 z Nowej Dęby (29%) i 1 z Sandomierza (5%), zaś w skład grupy D3, odpowiednio 5 (21%), 4 (19%), 7 (33%) i 8 (38%) dziewcząt z tych samych miejscowości.

Różnica wartości średnich stężeń Se pomiędzy D1 i D3 oraz D1 i dziewczętami w grupie porównawczej (DGP, n=19) była statystycznie istotna. Natomiast grupy D3 i DGP nie różniły się stężeniem Se. Wartości stężeń w grupach D1, D3 oraz DGP przedstawiono na Rycinie 24.



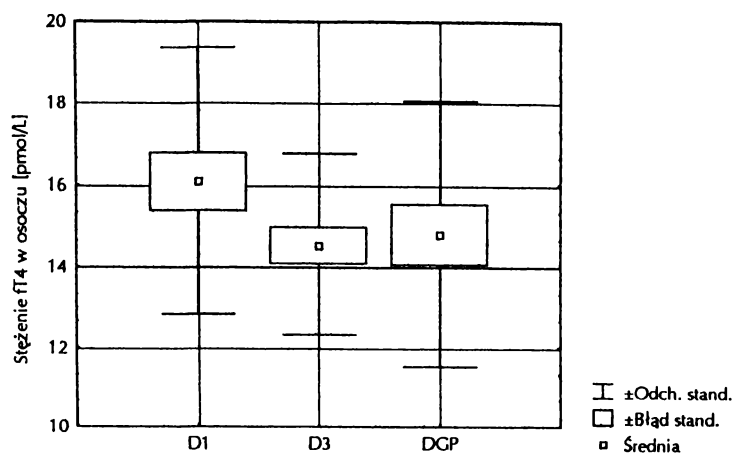
Rycina 24. Stężenie Se [$\mu\text{g/L}$] we krwi dziewcząt w grupach D1, D3 i DGP (objaśnienia w tekście); poziom istotności różnic pomiędzy D1 i D3 oraz D1 i DGP: $p < 0,001$.

Obie grupy dziewcząt (D1, D3) odróżnia od grupy DGP znacznie niższa aktywność pIGSHPx ($p < 0,001$) oraz znamienne niższe wartości średnie stężeń jodu w moczu (Rycina 25).

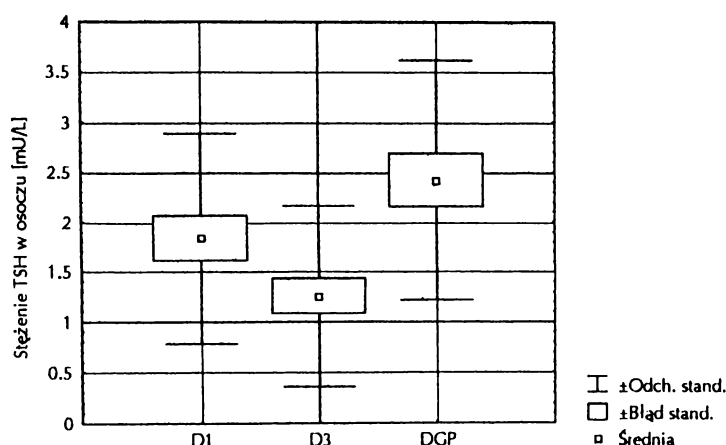


Rycina 25. Stężenie jodu [$\mu\text{mol/L}$] w moczu dziewcząt w grupach D1, D3 i DGP; poziom istotności różnic między D1 i DGP: $p < 0,001$; między D3 i DGP: $p < 0,05$.

W grupach posiadających powyższe cechy stwierdzono statystycznie istotne różnice wartości średnich fT4 i TSH (Ryciny 26 i 27).



Rycina 26. Stężenie FT4 [pmol/L] w osoczu dziewcząt w grupach D1, D3 i DGP; poziom istotności różnic między D1 i D3 oraz D1 i DGP: $p < 0,05$.



Rycina 27. Stężenie TSH [mU/L] w osoczu u dziewcząt w grupach D1, D3 i DGP; poziom istotności różnic między D1 i D3: $p < 0,05$, między DGP i D3: $p < 0,001$.

Grupy (D1, D3) nie różniły się wiekiem, masą ciała, wskaźnikiem masy ciała, objętością tarczycy, całkowitą objętością tarczycy odniesioną do górnych zakresów normy objętości tarczycy w ocenie USG wg. Delange'a, całkowitą objętością tarczycy odniesioną do powierzchni ciała.

Analiza statystyczna, przeprowadzona dla analogicznych grup chłopców, tzn. o stężeniu Se poniżej pierwszego i powyżej trzeciego kwartyla, nie ujawniła statystycznie istotnych różnic wartości średnich FT4 i TSH w tych grupach.

DYSKUSJA WYNIKÓW

Do chwili obecnej nie zdefiniowano zakresu wartości normatywnych dla stężenia Se we krwi dzieci. W Tabeli 19 zebrano dostępne w piśmiennictwie wartości stężeń oraz aktywności GSHPx podane dla różnych populacji dzieci i młodzieży.

Tabela 19. Stężenie selenu oraz aktywność GSHPx we krwi dzieci i młodzieży (układ danych w tabeli w porządku wzrastających wartości stężenia Se).

Rejon	Rodzaj populacji	Stężenie Se*	Aktywność GSHPx**	Piśmiennictwo
Tybet	Dzieci z obszarów endemicznego wola i choroby Kaschin-Beck, 5-15 lat (n=521- Se, 421- GSHPx)	<6,3 - 24,4 ^a	196 ^D 93-416 ^D	Moreno-Reyes i wsp., 1996
	Dzieci żywione pozajelitowo	3,8 - 50 ^{ac}		Litov i Combs, 1991
	Dzieci z PKU lub chorobą syropu klonowego	3,8 - 18,8 ^a		Litov i Combs, 1991
Niemcy	Dzieci z PKU, 8,2±3.7 lat (n = 17)	19,7±10,6 ^a	34,5±21.9 ^D	Kauf i wsp., 1993
Francja	Dzieci z PKU, 11 miesięcy - 10 lat (n = 15)	24,8±5,0 ^a 32,4±4,0 ^b	0,92±0,18 ^A 5,17±0,52 ^B	Wilke i wsp., 1992
Belgia	Dzieci z PKU, 6 - 18 lat (n = 10)	25,7±12,8 ^a 8,9 - 49,4 ^{ac}	140±58 ^D 72 - 260 ^{Dc}	Calomme i wsp., 1995a
Zair	Dzieci z dwóch rejonów endemicznego wola, 5-7 lat (n ₁ =52, n ₂ =48)	33,9±17,4 ^a 43,2±17,6 ^a		Thilly i wsp., 1993
Nowa Zelandia	Dzieci z PKU, wiek poniżej 10 lat (n=6)	38±13 ^a	8,9±3,3 ^E	McKenzie i wsp., 1978
Polska	Dzieci z wtórnym, złym wchłanianiem pokarmu, 5 miesięcy - 2 lat (n = 15)	57,3±17,5 ^a	12,9±2,6 ^C 141±33 ^D	Wąsowicz i wsp., 1988
Nowa Zelandia	Zdrowe dzieci, 7±3 lata (n=63)	48-60 ^{ac}	9,3 - 10,6 ^{Ec}	McKenzie i wsp., 1978
Austria, Styria	Zdrowe dzieci, 5-6 lat (n=18)	55±10 ^a 73 ^{ac}	46-	Tiran i wsp., 1993c
Turcja	Zdrowe dzieci, wiek szkolny (n=11)	61 ^{ad}		Mengübas i wsp., 1992
Polska	Dzieci z chorobami rozrostowymi układu krwiotwórczego, 7-16 lat (n=32)	63,8±17,3 ^a	149±36 ^D	Popadiuk i wsp., 1995

USA Wyoming	Młodzież poniżej 20 lat (n=13)	63±18 ^a	2,11±0,52 ^F	Valentine i wsp., 1989
Węgry	Zdrowe dzieci	64,0±11,1 ^a	87±19 ^D	Cser i wsp., 1996
Austria, Styria	Zdrowe dzieci, 10-19 lat (n=26)	66,3±25 ^a		Tiran i wsp., 1992
Polska, Katowice- Szopienice	Zdrowe dzieci, 1-15 lat (n=21)	66,5 ^{ad}		Danch i wsp., 1996
Węgry	Zdrowe dzieci, 5 - 19,5 lat (n=38)	67,9±11,9 ^a	6,50±1,01 ^C 95±16 ^D	Cser i wsp., 1993
Polska	Zdrowe dzieci, 12 - 15 lat (n=15) zbadane w latach 1986-88	68±13 ^a 88±24 ^b	16,5±2,5 ^C 193±14 ^D	Zachara i wsp., 1989
Polska	Dzieci z łysieniem plackowatym, 7 - 13 lat (n=35)	68,8±5,0 ^a		Jendryczko i wsp., 1993
Czechy	Zdrowe dzieci, 6-13 lat (M: n=83, G: n=101)	70,8 ^{adM} 69,9 ^{adG}		Kvicala i wsp., 1995
była Jugosława	Zdrowe dzieci, 8 - 15 lat, (n=63)	71±11 ^a 46 - 106 ^{ac}		Beker i wsp., 1991
Polska	Zdrowe dzieci 3 - 15 lat (n=40)	71,2±17,9 ^a		Gromadzińska i wsp., 1996
Polska	Zdrowe dzieci 5 miesięcy - 2 lat (n = 14)	72,0±20,3 ^a	15,6±3,5 ^C 190±54 ^D	Wąsowicz i wsp., 1988
Polska, Bytom	Zdrowe dzieci (n=142)	73±11 ^a		Kliś i wsp., 1993
Polska	Zdrowe dzieci, 1 - 15 lat (n=21) zbadane w latach 1986-88	74,2 ^{ad}		Wąsowicz Gromadzińska, 1996
Belgia	Zdrowe dzieci, 7,2±4,0 lat, (n = 32)	75,1±12,8 ^a 56,3-112,6 ^{ac}	345±54 ^D 238 - 492 ^{Dc}	Calomme i wsp., 1995a
Polska	Zdrowe dzieci, 8 - 10 lat (n=21), zbadane w latach 1986-88	77±9 ^a 99±22 ^b	16,4±2,3 ^C 183±21 ^D	Zachara i wsp., 1989
Polska	Zdrowe dzieci, 10 - 12 lat (n=17) zbadane w latach 1986-88	77±16 ^a 105±26 ^b	16,5±2,0 ^C 188±24 ^D	Zachara i wsp., 1989
Polska, Katowice- Ligota	Zdrowe dzieci, 14-15 lat (n=25)	78,0 ^{ad}		Danch i wsp., 1996
Szwecja	Zdrowe dzieci, 8-17 lat (n=13)	81±1 ^a		Gebre- Medhin i wsp., 1988
Francja	Zdrowe dzieci, 11 miesięcy - 10 lat (n = 30)	83,0±2,0 ^a 75,8±2,4 ^b	2,55±0,09 ^A 10,20±0,26 ^B	Wilke i wsp., 1992
Szwecja	Zdrowe dzieci, 4 -18 lat (n=35)	84,4±15,8 ^a		Plantin i wsp., 1981
Francja	Zdrowe dzieci 3 - 16 lat (n=96)	85,0 ^a 27,6 - 168,0 ^a		Malvy i wsp., 1993
Polska	Zdrowe dzieci, 7-16 lat (n=70)	85,8±18,6 ^a	194±26 ^D	Popadiuk i

zbadane w I poł. lat '90				wsp., 1995
Niemcy	Zdrowe dzieci, 4,5 - 17 lat (n=16)	88,5±17,4 ^a	6,91±1,45 ^C 126±29 ^D	Cser i wsp., 1993
Polska	Zdrowe dzieci, 8 - 10 lat (n=20) zbadane w latach 1981-83	93±14 ^a 130±31 ^b	17,7±2,9 ^C 201±29 ^D	Zachara i wsp., 1989
Finlandia	Zdrowe dzieci, 9-15 lat (n=870) zbadane w 1980 r.	96±16 ^a 39 - 168 ^a		Mussalo- Rauhamaa i wsp., 1993.
Turcja	Zdrowe dzieci, 7-16 lat (n=26)	100±21 ^a 70-188 ^a		Hincal i wsp., 1994
Włochy	Zdrowe dzieci, 12-13 lat, (M: n=312, G: n=352)	104,9±12,6 ^{aM} 102,2±13,7 ^{aG}		Spagnolo i wsp., 1991
Polska	Zdrowe dzieci, 10 - 12 lat (n=17) zbadane w latach 1981-83	103±9 ^a 145±22 ^b	17,9±2,7 ^C 204±33 ^D	Zachara i wsp., 1989
Polska	Zdrowe dzieci, 7 - 13 lat (n=35)	106,3±2,5 ^a		Jendryczko i wsp., 1993
Polska	Zdrowe dzieci, 12 - 15 lat (n=24), zbadane w latach 1981-83	112±15 ^a 150±29 ^b	18,6±1,5 ^C 209±21 ^D	Zachara i wsp., 1989
Słowenia	Zdrowe dzieci, 11-13 lat (n=14)	117,4±11,6		Miëetic- Turk i wsp., 1996
Szkocja	Zdrowe dzieci, 3-14 lat (n=50)	118,5±17,4 ^a	21,7±2,6 ^C	Ward i wsp., 1982
Polska, Miłówka k/Żywca	Zdrowe dzieci, 14-15 lat (n=20)	123,0 ^{ad}		Danch i wsp., 1996
Finlandia	Zdrowe dzieci, 9-15 lat (n=322) zbadane w 1986 r.	129±14 ^a 89 - 174 ^a		Mussalo- Rauhamaa i wsp., 1993.
USA	Zdrowe dzieci, 2-15 lat	62,5 - 187,5 ^b		Litov, Combs, 1991
Chiny	Dzieci z objawami selenozy	320 ^{ad} 130 - 750 ^{ac}		Yang i wsp., 1983

*) stężenie Se podano w następujących jednostkach: **a** - µg Se/L pełnej krwi; **b** - µg Se/L erytrocytów; **) aktywność GSHPx podano w następujących jednostkach: **A** - U/g białka/min (osocze), **B** - U/mL/min (erytrocyty), **C** - U/g Hb (erytrocyty), **D** - U/L (osocze), **E** - U/g Hb (pełna krew), **F** - U/mL/min (pełna krew); znaczenie pozostałych indeksów: **c** - zakres; **d** - w oryginalnej pracy nie podano odchylenia standardowego; **M** - chłopcy, **G** - dziewczęta; podane przez niektórych autorów stężenie Se w osoczu lub surowicy zostało przeliczone na stężenie Se w pełnej krwi przez pomnożenie przez faktor 1,25.

Na podstawie wyników podanych w Tabeli 19 oraz danych dotyczących związku pomiędzy stężeniem Se we krwi a aktywnością GSHPx w częściach składowych krwi (za

Marchaluk, 1995) autor niniejszej pracy proponuje **zakres wartości prawidłowych dla dzieci w Polsce** od 80 do 130 $\mu\text{g Se/L}$ pełnej krwi.

Większość średnich stężeń Se podanych przez różnych autorów dla zdrowych dzieci żyjących w Europie i USA mieści się w zakresie stężeń od 60 do 120 $\mu\text{g Se/L}$ pełnej krwi. Jest to szeroki przedział, pokrywający się częściowo z zakresem uznanym za selenodeficytowy. Z rozkładu (lub zakresu) stężeń Se w różnych populacjach widać, że nawet w Europie pewien odsetek dzieci uznanych za zdrowe odznacza się szczególnie niskim stężeniem Se (poniżej 50-60 $\mu\text{g Se/L}$ pełnej krwi). Jeszcze niższe stężenia selenu we krwi występują u dzieci żywionych pozajelitowo lub przyjmujących dietę eliminacyjną. Zbliżone do nich wartości stężeń odnotowano u dzieci żyjących na terenach selenodeficytowych (np. Zair, Nowa Zelandia). Natomiast ekstremalnie wysokie stężenia Se występują u dzieci z objawami selenozy, żyjącymi na terenach selenonośnych w Chinach.

Na tle większości wyników z krajów Europy Zachodniej i USA, **średnie stężenie Se w grupie badanej** (równe $64,1 \pm 15,7 \mu\text{g Se/L}$) oraz częstość występowania stężeń poniżej 80 $\mu\text{g Se/L}$ wskazują na znaczny niedobór tego pierwiastka wśród dzieci w województwie tarnobrzeskim. Porównywalnie niskie stężenia Se u dzieci zdrowych stwierdzono w Europie jedynie w Styrii (Austria) i na Węgrzech, a także Polsce - w grupach dzieci z niektórych regionów Polski, zbadanych w drugiej połowie lat osiemdziesiątych lub później (Danch i wsp., 1996, Zachara i wsp., 1989). Jeszcze niższe stężenia Se we krwi stwierdzano w Polsce sporadycznie, głównie w grupach dzieci chorych, np. u dzieci z wtórnym, złym wchłanianiem pokarmu (Wąsowicz i wsp., 1988) lub z chorobami rozrostowymi układu krwiotwórczego (Popadiuk i wsp., 1995). Drastycznie niskie stężenie Se w Polsce ($35 \pm 11 \mu\text{g Se/L}$ osocza, czyli ok. 48 $\mu\text{g Se/L}$ pełnej krwi) odnotowano w osoczu kobiet podczas porodu. Kobiety pochodziły z Oleśnicy k/Wrocławia (Wąsowicz i wsp., 1992).

Średnie stężenie Se w grupie porównawczej (równe $85,3 \pm 19,6 \mu\text{g Se/L}$) było bardzo zbliżone do wartości ($85,8 \pm 18,6 \mu\text{g Se/L}$) podanej dla zdrowych dzieci przez Popadiuka i wsp. (1995) jak również do wartości zawartych w niektórych opracowaniach z innych krajów europejskich, niższe jednak od notowanych w Polsce na początku lat osiemdziesiątych (Zachara i wsp., 1989). U znacznego odsetka dzieci w grupie porównawczej stwierdzono stężenie Se poniżej wartości prawidłowych, często jednak były to wartości mieszczące się niewiele poniżej dolnej granicy zakresu prawidłowego.

W paru pracach, zacytowanych w Tabeli 19 (Jendryczko i wsp., 1993, Danch i wsp., 1996), poświęconych populacji śląskiej oraz dzieciom z okolic Żywca podano znacznie wyższe

wartości stężeń, ponad 100 µg Se/L. Takie rezultaty, zestawione z wynikami z innych regionów Polski, wskazują na silne, geograficzne zróżnicowanie poziomów selenu w spożywanej diecie, które może być spowodowane lokalnymi warunkami środowiskowymi.

Zachara i Wąsowicz (1994) zauważyli, że po wstrzymaniu importu zbóż i pasz z Ameryki Północnej w latach osiemdziesiątych, stężenie Se we krwi w populacji polskiej, w tym także u dzieci, ma tendencję spadkową. Nie jest to zjawisko odosobnione. Stopniowe zmniejszenie importu zboża z Ameryki Północnej do Wielkiej Brytanii w latach dziewięćdziesiątych (do poziomu poniżej 10% wielkości importu z roku 1970) pociągnęło za sobą zmniejszenie spożycia selenu w tym kraju o 50%, czego odbiciem był ponad 40% spadek stężenia Se w osoczu mieszkańców Szkocji w roku 1994, względem roku 1985 (MacPherson i wsp., 1997). Również w Nowej Zelandii, całkowite wstrzymanie importu zbóż z Australii spowodowało spadek stężenia Se we krwi o ponad 50% (za Zachara i Wąsowicz, 1994). Wyniki niniejszego opracowania potwierdzają obniżony obecnie status selenowy badanych dzieci w Polsce.

Poza niedoborem Se w środowisku, dodatkowym czynnikiem zmniejszającym spożycie tego pierwiastka na obszarze województwa tarnobrzeskiego może być duża zawartość siarki w glebach i wodach, wielokrotnie przekraczająca wartości średnie dla Polski (Tabela 12). Organizm człowieka może nie odróżnić aminokwasów zawierających siarkę od aminokwasów zawierających selen (posiadają one wspólne szlaki metaboliczne) i dlatego może wbudowywać te ostatnie niespecyficznym w strukturę białek, szczególnie tych, które bogate są w reszty metioninowe (Néve, 1991, Chmielowski, 1994, Ip i Ganther, 1994).

Ponadto, już w latach siedemdziesiątych stwierdzono, że stosowanie nawozów siarczanowych może powodować spadek zawartości Se w roślinach stanowiących karmę dla zwierząt (rzędu kilkudziesięciu procent), niezależnie od stężenia Se w glebie. Tłumaczy się to głównie „efektem rozcieńczenia”, wywołanym bardziej intensywnym wzrostem rośliny pod wpływem nawożenia a także bezpośrednim hamowaniem pobierania jonów SeO_4^{2-} i (w mniejszym stopniu) SeO_3^{2-} przez jony SO_4^{2-} (Westermann i Robbins, 1974, Pratley i McFarlane, 1974). Inhibujące działanie jonów siarczanowych i innych związków siarki potwierdzone zostało także poprzez podawanie zwierzętom z chorobą Degnała (wywołaną nadmiarem selenu) mieszanin siarczanów i aminokwasów zawierających siarkę. Terapia okazała się skuteczna w leczeniu tej choroby (Arora, 1985).

W niniejszej pracy nie oznaczano stężeń związków siarki w częściach składowych środowiska ani w pożywieniu, w związku z czym korelacja pomiędzy stężeniem Se we krwi i S

w środowisku nie mogła być ustalona. Jednak w świetle przytoczonych badań nad interakcjami pomiędzy Se i S, pośredni wpływ siarki na obniżenie stężenia Se we krwi wydaje się bardzo prawdopodobny.

Stwierdzony brak wpływu płci na stężenie Se we krwi stoi w sprzeczności z wynikami Wąsowicza i Zachary dla populacji osób dorosłych w Polsce (1987), jest natomiast zgodny z wynikami innych autorów, którzy badali zarówno populacje dorosłych (McMaster i wsp., 1990) jak i dzieci (McKenzie i wsp., 1978, Kliś i wsp., 1993).

Brak korelacji stężenia selenu we krwi z wiekiem dzieci w obu grupach wynika z faktu, że były to grupy stosunkowo jednorodne pod względem wiekowym.

Pomiar **aktywności GSHPx** w osoczu służy do określenia biologicznej aktywności selenu. Rozkład aktywności GSHPx w osoczu krwi w różnych populacjach kształtuje się podobnie jak stężenia Se (Tabela 19). Poza dziećmi z niektórymi chorobami, niską aktywność tego enzymu stwierdzono u zdrowych dzieci na Węgrzech i w Niemczech. Większość wyników dla zdrowych dzieci, podanych przez różnych autorów, zawarta jest w przedziale 140-210 U/L osocza. Brak standaryzacji metod oznaczania aktywności GSHPx sprawia jednak, że porównanie wyników różnych autorów dotyczących aktywności tego enzymu ma bardzo ograniczone znaczenie. Na przykład wyniki autorów belgijskich: Calomme i wsp. (1995a) oraz Moreno-Reyes i wsp. (1996) należy odnosić do podanego przez nich zakresu wartości prawidłowych (550-1100 U/L), który niewątpliwie uzależniony jest od metodyki pomiarów. Dlatego bardziej zasadne wydaje się porównywanie względnych różnic aktywności GSHPx, tj. stosunku aktywności pLGSHPx u dzieci badanych do aktywności enzymu u dzieci z grupy porównawczej. W Tabeli 20 zestawiono, wyliczone przez autora, stosunki stężeń Se i stosunki aktywności pLGSHPx we krwi kilku badanych populacji.

W badaniach własnych obliczony stosunek stężeń Se w grupie badanej i grupie porównawczej wynosił 1:1,33 i był zbliżony do wartości podanych przez Wąsowicza i wsp. (1988) oraz Popadiuka i wsp. (1995). Różnił się natomiast od danych uzyskanych przy badaniu dzieci leczonych z powodu fenyloketonurii. Stosunek aktywności pLGSHPx w niniejszym opracowaniu, równy 1:1,64, był nieco niższy od wyników wspomnianych autorów, ale wyższy od uzyskanych dla dzieci z fenyloketonurią.

Tabela 20. Stosunki stężeń Se w pełnej krwi i stosunki aktywności pIGSHPx w osoczu w różnych grupach dzieci.

Porównywane populacje	Stosunek stężeń Se w badanych populacjach	Stosunek aktywności pIGSHPx w badanych populacjach	Piśmiennictwo
Dzieci chore na fenyloketonurię /dzieci zdrowe	1:2,92	1:2,46	Calomme i wsp., 1995a
Dzieci chore na fenyloketonurię/ dzieci zdrowe	1:2,55	1:2,87	Terwolbeck i wsp., 1993
Dzieci z wtórnym, złym wchłanianiem pokarmu/dzieci zdrowe	1:1,26	1:1,35	Wąsowicz i wsp., 1988
Dzieci z chorobami rozrostowymi układu krwiotwórczego/dzieci zdrowe	1:1,34	1:1,30	Popadiuk i wsp., 1995
Dzieci z grupy badanej/dzieci z grupy porównawczej	1:1,33	1:1,64	Badania własne

Pomiar stężenia jodu w moczu dostarcza ważnych informacji o zasobach tego pierwiastka. W grupie badanej ponad 70% dzieci wykazywało stężenie jodu poniżej dolnej granicy wartości prawidłowych mimo, iż grupa ta składała się wyłącznie z dzieci, u których stwierdzono obecność wola. Porównując wskaźniki podane w Tabeli 11 z kryteriami WHO (WHO/Nut/94.6, 1994) należy zakwalifikować endemię wola w województwie tarnobrzesckim jako łagodną. Jednakże częstość występowania wola wskazuje na ciężką endemię. Taka rozbieżność empirycznych parametrów z kryteriami może być spowodowana obecnością w środowisku goitrogenów, które dotychczas nie zostały rozpoznane. Goitrogeny takie mogą powstawać na bazie związków siarkowych, obecnych w dużym nadmiarze w województwie tarnobrzesckim.

Wyniki oznaczania Se, GSHPx oraz I jednoznacznie wskazują, że grupa badana była niedoborowa ze względu na oba pierwiastki (Se, I), natomiast status selenowy i jodowy grupy porównawczej był znacznie wyższy. Jednak także w tej grupie pewien odsetek dzieci wykazywał obniżone stężenie jodu w moczu. Ponieważ cały obszar kraju objęty jest endemią wola w stopniu

umiarkowanym lub lekkim, przeto w żadnej grupie dzieci nie można wykluczyć wystąpienia przypadków niedoboru jodu.

Za najbardziej użyteczne wskaźniki diagnostyczne, służące do oceny czynności tarczycy uważa się obecnie **stężenie hormonów TSH i fT4** (Hamburger, 1989) i te badania zostały wykonane w niniejszej pracy.

Mniej zalecane są pomiary całkowitej T3 i całkowitej T4, ponieważ ich stężenia uzależnione są od stężeń białek wiążących w osoczu oraz obecności leków modyfikujących przyłączanie się tych hormonów do białek wiążących. Ponadto oznaczanie T3 nie zostało wykonane w niniejszym opracowaniu, gdyż parametr ten nie mógł wniesić istotnych informacji związanych z wpływem selenu na funkcje tarczycy z następujących powodów: 1) wpływ selenu na poziom tego hormonu uwidacznia się tylko w przypadku bardzo silnego deficytu Se lub wysokich dawek tego pierwiastka (Thilly i wsp., 1991, Brätter i wsp., 1996, Hawkes i wsp., 1996, Napolitano i wsp., 1997) - a żadna z tych sytuacji nie miała tutaj miejsca; 2) T3 nie ulega zmianie nawet w przypadku chorych na fenyloketonurię, którzy mają zdecydowanie niższe spożycie Se w porównaniu z populacjami dzieci zdrowych z terenów europejskich (Terwolbeck i wsp., 1993, Calomme i wsp., 1995a); 3) wywołane u zwierząt doświadczalnych, zmniejszenie odjodowania T4 do T3 w wątrobie, nie powoduje spadku stężenia T3 w osoczu (Wu i wsp., 1996).

Pomimo istotnie różnego statusu selenowego badanych dzieci nie stwierdzono znamiennych różnic wartości średnich stężenia **fT4 lub TSH** całej badanej grupy w stosunku do grupy porównawczej. Przyczyną tego stanu może być nakładanie się, z różnym natężeniem, dwóch procesów: 1) wywołane niedoborem jodu, obniżanie się poziomu wydzielania T4, czemu odpowiada niższe stężenie fT4 w osoczu; 2) wzrost stężenia fT4 na skutek zmniejszenia aktywności dejodazy jodotyroniny typu I spowodowanej niedoborem selenu.

W tabelach A6 i A7 zebrano wszystkie obliczone korelacje pomiędzy badanymi parametrami. Statystycznie istotna **dodatnia korelacja pomiędzy stężeniem Se a aktywnością pIGSHPx we krwi** ($p < 0,001$) w grupie badanej jest zasadniczo zgodna z wynikami innych autorów mierzących stężenie Se i aktywność GSHPx w pełnej krwi lub stężenie Se i aktywność pIGSHPx w osoczu, u osób zdrowych (Tabela 4). Brak istotnej korelacji pomiędzy tymi parametrami w grupie porównawczej potwierdza liczne obserwacje o niezależności aktywności GSHPx we krwi przy wyższych stężeniach Se we krwi.

W niniejszym opracowaniu nie znaleziono ujemnej **korelacji pomiędzy stężeniem Se we krwi a stężeniem wolnej tyroksyny w osoczu**, czego oczekiwano, zakładając, że niedobór

Se hamuje odjodowanie T4 do T3. Korelację taką wykazali Kvicala i wsp. (1995): $r=-0,173$, $p<0,01$. Grupa zbadana przez nich była jednak w tym przypadku znacznie bardziej liczna, obejmując kobiety i mężczyzn w przedziale wiekowym od kilku do kilkudziesięciu lat. Natomiast w węższych przedziałach wiekowych autorzy ci nie wykazali istotnej statystycznie korelacji pomiędzy tymi parametrami. Również w pracy Dohána i wsp. (1996) nie stwierdzono takiej korelacji.

Następnie przebadano **korelację pomiędzy stężeniem Se we krwi i TSH w surowicy** i znaleziono taką zależność w grupie porównawczej: $r=-0,385$, $p<0,05$. Taki sam (ujemny) charakter korelacji pomiędzy tymi parametrami jest zawzmiankowany w pracy Napolitano i wsp. (1997). Natomiast w grupie badanej była ona statystycznie nieistotna. W badaniach Kvicaly i wsp. (1995) stwierdzono dodatnią korelację pomiędzy tymi parametrami, ale tylko w grupie chłopców poniżej 18 roku życia ($r=0,325$, $p<0,05$, $n=54$) oraz kobiet w przedziale wiekowym 50-65 lat. Dla chłopców trzynastoletnich współczynnik korelacji był najwyższy ($r=0,590$, $p<0,01$, $n=19$). Brak doniesień innych autorów na ten temat nie pozwala na uznanie cytowanych wyników za regułę.

W niniejszym opracowaniu znaleziono ujemną **korelację pomiędzy fT4 i TV** w całej badanej grupie ($r=-0,330$, $p<0,001$, $n=132$) oraz w podgrupie dziewcząt ($r=-0,346$, $p<0,005$, $n=86$). W pracy Kvicaly i wsp. (1995) stwierdzono podobną korelację pomiędzy tymi parametrami jedynie u mężczyzn powyżej 18 roku życia. W Tabeli A6 wykazano również istotne korelacje pomiędzy stężeniem fT4 w osoczu a znormalizowanymi objętościami tarczycy. Wszystkie korelacje były ujemne.

Brak korelacji pomiędzy objętością tarczycy a parametrami związanymi z metabolizmem selenu (Se, pIGSHPx) skłonił autora do próby znalezienia takich zależności dla **całkowitej objętości tarczycy odniesionej do górnych zakresów normy objętości tarczycy w ocenie USG** wg.: Delange'a (TVD), Gołkowskiego i wsp. (TVGO) lub wg. Gutekunst'a i wsp. (TVGU). Wymienione normy są często cytowane w polskim piśmiennictwie (Kalicka-Kasperczyk i Dziatkowiak, 1997, Ratajczak, 1997, Tomaszewski i wsp., 1997). Objętość tarczycy odniesiona do wspomnianych norm korelowała ujemnie z aktywnością pIGSHPx, sugerując tym samym związek pomiędzy obniżeniem bariery antyoksydacyjnej organizmu a czynnością tarczycy, fizjologicznie narażonej na wysokie stężenia nadtlenu wodoru.

Jaśniej zarysowane **różnice stężeń hormonów (fT4, TSH)** przyniosła analiza, w której wyodrębniono z grupy badanej podgrupę dziewcząt, o najniższych wartościach stężenia Se (D1), oraz podgrupę dziewcząt o najwyższym stężeniu Se (D3) i grupy te zestawiono z podgrupą

dziewcząt z grupy porównawczej (DGP). Grupy D1 i D3 odznaczały się takim samym stopniem niedoboru jodu ale różnym statusem selenowym (Ryciny 24-25). **Znamiennie wyższe stężenie fT4 w grupie D1 w stosunku do D3, jak również w stosunku do DGP, należy przypisać deficytowi selenu** (Rycina 26). Za tą tezę przemawiają również rezultaty uzyskane przez innych autorów dla dzieci leczonych z powodu fenyloketonurii oraz dla dzieci żyjących na obszarach jednoczesnego niedoboru obu pierwiastków (Terwolbeck i wsp. 1993, Calomme i wsp., 1995a, Thilly i wsp., 1991, Wu i wsp., 1996).

Stężenie TSH w grupie D1 nie różniło się znamiennie od stężenia tego hormonu w grupie DGP, jednak było znamiennie wyższe aniżeli w grupie D3 (Rycina 27). Zaobserwowany efekt jest zgodny z wynikami badań na zwierzętach, u których stwierdzono, spowodowane deficytem selenu, zwiększenie stężenia fT4 i w konsekwencji - ograniczenie aktywności dejodazy jodotyroniny typu II w przysadce mózgowej. Pociągało to za sobą wzrost wydzielania TSH w tym gruczole (Arthur i wsp., 1993a). Powyższy mechanizm zaproponowany dla zwierząt żyjących w warunkach drastycznej hypertyroksynemii wywołanej deficytem selenu nie może jednak być bezkrytycznie porównywany z wynikami uzyskanymi w niniejszych badaniach. Tutaj deficyt selenu nie był tak znaczny. Ostrożnie również należy podejść do uzyskanych wyników TSH, ponieważ wiadomo, że wydzielanie TSH przebiega pulsacyjnie w cyklu okołodobowym. Ze względu na dużą rozpiętość pomiędzy najniższymi i najwyższymi wartościami stężeń TSH w osoczu, pojedynczy pomiar stężenia tego hormonu może niekiedy przynieść wartość znacznie różniącą się od wartości średniej. Należy także podkreślić, że pomimo wykazanych istotnych różnic, wahania stężeń obu hormonów w grupach D1 i D3 w zdecydowanej większości przypadków mieściły się w przedziałach wartości prawidłowych.

Fakt, że różnice stężeń hormonów (fT4, TSH) w grupach o odmiennym statusie selenowym, stwierdzono jedynie u dziewcząt, spośród których ok. 70% weszło w okres dojrzewania płciowego, pozwala przypuszczać, że organizm dziewcząt wykazuje większą wrażliwość na niedobór selenu podczas intensywnych przemian hormonalnych, charakterystycznych dla wieku pokwitania. W badaniach Podoby i wsp. (1996) wykazano jednoznacznie, że powyżej 9-10 roku życia dynamika wzrostu tarczycy uzależniona jest nie tylko od wieku ale również od płci badanych dzieci i jest wyższa dla dziewcząt aż do 15 roku życia. Ponadto, ponieważ zaburzenia tarczycy częściej występują u kobiet, przeto uważa się, że żeńskie hormony płciowe mogą mieć wpływ na wydzielanie TSH i hormonów tarczycy. Chociaż wyniki uzyskane przez różnych autorów w badaniach nad tym zagadnieniem są niejednoznaczne (Krawczyńska, 1992, Rossmanith i wsp., 1992, Fitko i wsp., 1997), to dodatkowej przesłanki

dostarczają wspomniane wcześniej badania Kvicaly i wsp., (1995), gdzie stwierdzono istotne korelacje pomiędzy: Se i T4/T3, Se i TV oraz Se i TSH - jedynie w niektórych grupach wyselekcjonowanych ze względu na wiek i płeć, a znak odpowiednich współczynników korelacji zmieniał się dla różnych grup wiekowych i płci.

W celu uchwycenia współzależności pomiędzy oznaczanymi parametrami (Se, pIGSHPx, fT4, TSH, IU) oraz przedstawienia obserwacji w układzie dwuwymiarowym, posłużono się **statystyczną metodą składowych głównych (PCA)** (Tabele 17-18, Ryciny 22-23). Próba aproksymacji pięciowymiarowej przestrzeni wyżej wymienionych parametrów za pomocą płaszczyzny wyznaczonej przez dwie pierwsze składowe główne związana była ze znaczną utratą informacji, ponieważ część wariancji nie wyjaśnionej przez model składowych głównych przekraczała 40%. Wiadomo jednak, że możliwe jest zastosowanie PCA do interpretacji statystycznej badań próbek biologicznych nawet z taką utratą informacji (Moret i wsp., 1986, Favretto i wsp., 1989).

Pierwsza składowa główna jest jednocześnie miarą zasobów jodu i metabolizmu selenu, gdyż wysokie współczynniki korelacji z tą składową wykazują zarówno fT4 i IU jak również pIGSHPx (Tabela 18). Z drugą składową główną korelują Se, pIGSHPx i TSH. Świadczy to o wyraźnej współzależności tych parametrów. Przedstawienie obserwacji w układzie dwuwymiarowym potwierdza fakt odrębności grupy porównawczej, która tworzy łatwo widoczne, zwarte zgrupowanie.

Niniejsze badania objęły dzieci mieszkające w 4 miastach województwa tarnobrzskiego. Dwa z nich: Sandomierz i Nowa Dęba położone są blisko obszarów wydobywania siarki, zaś dwa pozostałe: Rudnik i Janów Lubelski wysunięte są bardziej na wschód (Mapa 1). Spodziewano się uzyskać wyraźne zróżnicowanie wyników, związane z odległością od źródeł emisji siarki. Jednakże zestawienie wszystkich danych uzyskanych dla dzieci z poszczególnych miejscowości nie pozwala na wyciągnięcie jednoznacznych wniosków, poza stwierdzeniem jednolitego, obniżonego poziomu Se i pIGSHPx, natomiast różnice stężeń hormonów fT4 i TSH i jodu w moczu występowały tylko dla niektórych miejscowości, przy czym nie uwidoczniła się wyraźna tendencja zmian wymienionych parametrów w obrębie grupie badanej.

WNIOSKI

Po szczegółowej analizie wyników badań 136 dzieci (90 dziewcząt, 46 chłopców) z wolem, mieszkających w województwie tarnobrzeskim, nasuwają się następujące wnioski:

- Obniżone stężenie selenu we krwi i jodu w moczu badanych dzieci wskazuje na równoczesny deficyt obu tych pierwiastków.
- Niski poziom selenu wpłynął na obniżoną aktywność pIGSHpx we krwi tych dzieci.
- W grupie dziewcząt o najniższych stężeniach selenu we krwi, stężenie hormonu fT4 było znamienne wyższe, aniżeli w grupie dziewcząt o najwyższych stężeniach tego pierwiastka. Prawdopodobnie niedobór selenu powodował obniżenie aktywności dejodazy jodotyroniny typu I a przez to zahamowanie odjodowania tyroksyny.
- Należy rozważyć możliwość wprowadzenia okresowej suplementacji selenem ludzi na badanych terenach. Powinno to dotyczyć szczególnie grupy dziewcząt w okresie pokwitania a być może i kobiet w okresie rozrodczym. Wymagałoby to poszerzenia badań o tę grupę kobiet.
- Na podstawie niniejszych badań oraz danych z piśmiennictwa autor proponuje zakres wartości prawidłowych dla dzieci w Polsce od 80 do 130 $\mu\text{g Se/L}$ pełnej krwi.

STRESZCZENIE

Celem niniejszych badań było określenie statusu jodowego i selenowego dzieci z województwa tarnobrzeskiego, u których stwierdzono obecność wola oraz porównanie parametrów związanych z czynnością tarczycy w grupach o odmiennym statusie selenowym i jodowym. Podjęto także próbę znalezienia współzależności pomiędzy parametrami związanymi z metabolizmem jodu i selenu a także uwarunkowań czynności tarczycy w grupie badanej w zależności od miejsca zamieszkania, płci i statusu selenowego.

Badaniami objęto populację dzieci uczęszczających do szkół publicznych w czterech miejscowościach na terenie województwa tarnobrzeskiego: Janowie Lubelskim, Rudniku, Nowej Dębie i Sandomierzu. Zbadane dzieci ($n=136$, 90 dziewcząt, 46 chłopców) zostały wyselekcjonowane na podstawie wcześniejszych badań epidemiologicznych, podczas których stwierdzono u nich metodą palpacyjną obecność wola, stopnia IA lub wyższego. Dzieci znajdowały się w przedziale wiekowym 7-16 lat (średnia wieku $11,1 \pm 2,1$). Od dzieci pobrano krew w celu oznaczenia stężenia selenu (Se), aktywności peroksydazy glutationowej (pIGSHPx), stężenia hormonu tyreotropowego (TSH) i wolnej tyroksyny (fT4). Pobrano również próbki moczu aby oznaczyć stężenia jodu (IU). Grupę porównawczą stanowiły dzieci w tym samym przedziale wiekowym, leczone z powodu drobnych urazów w Oddziale Ortopedii Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii CMUJ w Krakowie ($n=38$, 19 dziewcząt, 19 chłopców). Dzieci te wolne były od klinicznych symptomów chorób tarczycy i zaburzeń metabolicznych.

Na podstawie niniejszych badań oraz danych z piśmiennictwa autor proponuje zakres wartości prawidłowych dla dzieci w Polsce od 80 do 130 $\mu\text{g Se/L}$ pełnej krwi.

Podstawowe wyniki uzyskane w tym opracowaniu zestawiono w Tabeli 21.

Tabela 21. Wartość średnia i odchylenie standardowe dla zmierzonych parametrów w grupie badanej i w grupie porównawczej.

Parametr	Wartość średnia $\pm$ odchylenie standardowe	
	Grupa badana	Grupa porównawcza
Stężenie selenu we krwi [$\mu\text{g/L}$]	$64,1 \pm 15,7$	$85,3 \pm 19,6^{***}$
Aktywność GSHPx w osoczu krwi [U/L]	$111,0 \pm 27,6$	$182,4 \pm 35,6^{***}$
Stężenie fT4 w osoczu krwi [pmol/L]	$14,9 \pm 3,0$	$15,0 \pm 3,0^*$

Stężenie TSH w osoczu krwi [mU/L]	1,57±0,91	1,99±1,17 [*]
Stężenie jodu w moczu [μmol/L]	0,60±0,43	0,92±0,48 ^{**}
Poziomy istotności różnic: [*]) - NS, ^{**}) - p<0,005, ^{***}) - p<0,0001.		

Stwierdzono statystycznie istotne różnice pomiędzy wartościami średnimi w grupie badanej i porównawczej dla parametrów: Se, GSHPx, IU. Stężenie selenu we krwi poniżej 80 μg/L wykazano u 85% dzieci z grupy badanej i 43% dzieci z grupy porównawczej. Podobnie średnia aktywność peroksydazy glutationowej w grupie badanej była obniżona i stanowiła 61% średniej aktywności peroksydazy glutationowej w grupie porównawczej. Wyniki te wskazują na silny niedobór selenu w grupie badanej. U dzieci tych nie stwierdzono wpływu płci, wieku i miejsca zamieszkania na stężenie Se we krwi i aktywność pLGSHPx w osoczu.

Pomimo istotnie niższego statusu selenowego badanych dzieci względem dzieci z grupy porównawczej, nie stwierdzono u nich znamiennych różnic średnich stężeń hormonów fT4 lub TSH. Wynika to z faktu, że niedobór selenu i jodu nie jest tu tak drastyczny jak w opisanych, klasycznych badaniach w Zairze. Ponadto wpływ niedoboru selenu na metabolizm hormonów tarczycy w badanej populacji może być przesłonięty czynnikami środowiskowymi oraz hormonalnymi, związanymi z okresem pokwitania.

Jednakże w podgrupie dziewcząt (wyodrębnionej z grupy badanej), o najniższym stężeniu Se (D1), stwierdzono znamienne wyższe stężenia fT4 i TSH, w porównaniu z podgrupą dziewcząt o najwyższym stężeniu Se (D3). **Znamienne wyższe stężenie fT4 w grupie D1 w stosunku do grupy D3, jak również w stosunku do dziewcząt z grupy porównawczej, należy przypisać deficytowi selenu.** Zróznicowanie stężeń hormonów (fT4, TSH) jedynie w grupach dziewcząt o odmiennym statusie selenowym, może wskazywać na specyficzny - ze względu na płeć - wpływ niedoboru selenu na gospodarkę hormonalną organizmu dziewcząt.

Tabele

Tabela 1. Selenobiałka i „białka-wiążące selen”	21
Tabela 2. Zawartość selenu w wybranych artykułach spożywczych w niektórych krajach europejskich	22
Tabela 3. Normy zapotrzebowania na selen dla ludności Polski	25
Tabela 4. Współczynniki korelacji pomiędzy stężeniem Se a aktywnością GSHPx	29
Tabela 5. Całkowita zawartość Se w organizmie człowieka	33
Tabela 6. Stężenie Se w niektórych narządach ludzkich osób dorosłych	33
Tabela 7. Preparaty farmaceutyczne zawierające selen	38
Tabela 8. Ważniejsze substancje wolotwórcze (goitrogeny) występujące w środowisku	42
Tabela 9. Górne zakresy normy objętości tarczycy w ocenie USG	43
Tabela 10. Spożycie jodu w krajach europejskich	45
Tabela 11. Niektóre kryteria niedoboru jodu oraz sytuacja na obszarze badawczym	59
Tabela 12. Zawartość siarki i siarczanów w częściach składowych środowiska przyrodniczego na obszarze badawczym	59
Tabela 13. Program nagrzewania kuwety stosowany przy oznaczeniu selenu we krwi	62
Tabela 14. Stopień wola w całej badanej grupie	78
Tabela 15. Stopień wola w badanej podgrupie dziewcząt	79
Tabela 16. Stopień wola w badanej podgrupie chłopców	79
Tabela 17. Wartości własne macierzy korelacji parametrów (Se, pIGSHPx, TSH, fT4, IU) oraz procent zmienności wymienionych parametrów wyjaśniony przez dwie pierwsze składowe główne łącznie w grupach: badanej i porównawczej	81
Tabela 18. Współczynniki pierwszej i drugiej składowej głównej oraz współczynniki korelacji pomiędzy parametrami i składowymi głównymi łącznie w grupach: badanej i porównawczej	82
Tabela 19. Stężenie selenu oraz aktywność GSHPx we krwi dzieci i młodzieży	86
Tabela 20. Stosunki stężeń Se w pełnej krwi i stosunki aktywności pIGSHPx w osoczu w różnych grupach dzieci	92
Tabela 21. Wartość średnia i odchylenie standardowe dla zmierzonych parametrów w grupie badanej i w grupie porównawczej	98
Tabela A1. Stężenie selenu we krwi dzieci	ANEKS
Tabela A2. Aktywność peroksydazy glutationowej w osoczu dzieci	ANEKS

Tabela A3. Stężenie wolnej tyroksyny w osoczu dzieci.....	ANEKS
Tabela A4. Stężenie TSH w osoczu dzieci.....	ANEKS
Tabela A5. Stężenie jodu w moczu dzieci.....	ANEKS
Tabela A6. Wartości współczynnika korelacji Pearsona lub Spearmana między analizowanymi parametrami w grupie badanej.....	ANEKS
Tabela A7. Wartości współczynnika korelacji Spearmana między analizowanymi parametrami w grupie porównawczej.....	ANEKS

Ryciny

Rycina 1. Stężenie selenu we krwi dzieci w grupie badanej i grupie porównawczej.....	67
Rycina 2. Stężenie selenu we krwi dzieci z różnych miejscowości.....	68
Rycina 3. Stężenie selenu we krwi dzieci z różnych miejscowości w grupie badanej i w grupie porównawczej z uwzględnieniem podziału na płeć.....	68
Rycina 4. Rozkład stężeń selenu we krwi dzieci z grupy badanej.....	69
Rycina 5. Rozkład stężeń selenu we krwi dzieci z grupy porównawczej.....	69
Rycina 6. Aktywność peroksydazy glutationowej w osoczu krwi dzieci z grupy badanej i grupy porównawczej.....	70
Rycina 7. Aktywność peroksydazy glutationowej w osoczu dzieci z różnych miejscowości.....	70
Rycina 8. Aktywność peroksydazy glutationowej w osoczu dzieci z różnych miejscowości w grupie badanej i w grupie porównawczej z uwzględnieniem podziału na płeć.....	71
Rycina 9. Rozkład aktywności peroksydazy glutationowej w osoczu dzieci z grupy badanej.....	72
Rycina 10. Rozkład aktywności peroksydazy glutationowej w osoczu dzieci z grupy porównawczej.....	72
Rycina 11. Stężenie wolnej tyroksyny w osoczu dzieci z grupy badanej i grupy porównawczej...73	73
Rycina 12. Stężenie wolnej tyroksyny w osoczu dzieci z różnych miejscowości w grupie badanej oraz w grupie porównawczej.....	73
Rycina 13. Prosta regresji dla zależności stężenia wolnej tyroksyny od wieku w grupie badanej, krzywe ufności oraz punkty pomiarowe.....	74
Rycina 14. Stężenie TSH w osoczu krwi dzieci z grupy badanej i grupy porównawczej.....	75
Rycina 15. Stężenie TSH w osoczu krwi dzieci z różnych miejscowości w grupie badanej oraz w grupie porównawczej.....	76

Rycina 16. Stężenie TSH w osoczu krwi w grupie badanej oraz w grupie porównawczej z uwzględnieniem podziału na płeć.....	76
Rycina 17. Stężenie jodu w moczu dzieci z grupy badanej i grupy porównawczej.....	77
Rycina 18. Stężenie jodu w moczu dzieci z różnych miejscowości w grupie badanej.....	78
Rycina 19. Prosta regresji dla zależności aktywności plGSHPx od stężenia Se we krwi, krzywe ufności oraz punkty pomiarowe.....	80
Rycina 20. Zależność objętości całkowitej tarczycy od stężenia FT4 w osoczu dziewcząt w grupie badanej.....	80
Rycina 21. Prosta regresji dla zależności całkowitej-objętości-tarczycy-odniesionej-do-górnych-zakresów-normy-objętości-tarczycy-w-ocenie-USG-wg.-Delange'a od aktywności plGSHPx, krzywe ufności oraz punkty pomiarowe.....	81
Rycina 22. Współczynniki korelacji pomiędzy parametrami oraz pierwszą i drugą składową główną obliczonymi łącznie dla grupy badanej i porównawczej.....	82
Rycina 23. Rozrzut analizowanych obiektów (wszystkich dzieci) w układzie dwóch pierwszych składowych głównych obliczonych łącznie dla grupy badanej i porównawczej.....	83
Rycina 24. Stężenie Se we krwi dziewcząt w grupach D1, D3 i DGP.....	84
Rycina 25. Stężenie jodu w moczu dziewcząt w grupach D1, D3 i DGP.....	84
Rycina 26. Stężenie FT4 w osoczu dziewcząt w grupach D1, D3 i DGP.....	85
Rycina 27. Stężenie TSH w osoczu u dziewcząt w grupach D1, D3 i DGP.....	85

Mapy

Mapa 1. Lokalizacja obszaru badawczego.....	ANEKS
---	-------

1. Abdulla M., Chmielnicka J., (1990). New aspects on the distribution and metabolism of essential trace elements after dietary exposure to toxic metals. *Biol. Trace Elem. Res.*, 23, 25-53.
2. Adamczyk T., Petriczko E., Wójcik K., Bich W., Bojko-Czaja I., (1997). Analiza przyczyn powiększenia gruczołu tarczowego w okresie pokwitania w populacji dzieci szczecińskich w okresie od 1990 do 1996 roku. *Pediatrics Prakt.*, 5,1.(abs)
3. Alaejos M.S., Romero C.D., (1993). Urinary selenium concentrations. *Clin. Chem.* 39, 2040-2052.
4. Alaejos M.S., Romero C.D., (1995). Selenium in human lactation. *Nutr. Rev.*, 53, 159-166.
5. Arora S., (1985). Livestock problems related to geochemistry in India including selenium toxicity and goitre. *Monograph Series: Environmental Geochemistry and Health*, Science Reviews Limited, London, 164-180.
6. Arthur J.R., Nicol F., Boyne R., Allen K.G.D., Hayes J.D., Beckett G.J., (1987). Old and New Roles for Selenium. Hemphill D.D. (ed.), *Trace Substances in Environmental Health-XXI*. University of Missouri Press, Colombia, Missouri. 487-498.
7. Arthur J.R., Nicol F., Beckett G., (1992). The role of selenium in thyroid hormone metabolism and effects of selenium deficiency on thyroid hormone and iodine metabolism. *Biol.Trace Elem. Res.*, 33, 37-43.
8. Arthur J.R., Nicol F., Beckett G., (1993a). Selenium deficiency, thyroid hormone metabolism, and thyroid hormone deiodinases. *Am.J.Clin.Nutr.Suppl.*, 57, 236S-239S.
9. Arthur J.R., Nicol F., Gill B.A., Beech S.G., Beckett G.G., (1993b). Selenium, type I iodothyronine 5'-deiodinase activity and thyroid hormone metabolism in the rat. Anke M., Meissner D., Mills C.F. (ed.), *Trace Elements in Man and Animals - TEMA 8*, 613-619.
10. Arthur J.R., Beckett G., (1994a). Roles of selenium in type I iodothyronine 5'-deiodinase and in thyroid hormone and iodine metabolism. Burk R.F. (ed.), *Selenium in Biology and Medicine*, Springer-Verlag, New York. 94-115.
11. Arthur J.R., Beckett G., (1994b). New metabolic roles for selenium. *Proceedings of the Nutrition Society*, 53, 615-624.
12. Arthur J.R., Bermanno G., Mitchell J.H., Hesketh J., (1996). Regulation of selenoprotein gene expression and thyroid hormone metabolism. *Biochem. Soc.Trans.*, 24, 384-388.
13. Avissar N., Ornt D.B., Yagil Y., Horowitz S., Watkins R.H., Kerl E.A., Takahashi K., Palmer I., Cohen H.J., (1994). Human kidney proximal tubules are the main source of plasma glutathione peroxidase. *Am. J. Physiol.*, 266, C367-C375.
14. Baj Z., Zeman K., Majewska E., Wąsowicz W., Skłodowska M., Gromadzińska J., Tchórzewski H., (1992). Does the selenium (Se) level and Se-dependent enzyme activity in blood plasma correlate with human lymphocyte subpopulations and functions? *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.*, 5, 13-21.
15. Beilstein M., Whanger P.D., (1983). Distribution of selenium and glutathione peroxidase in blood fractions from human, rhesus and squirrel monkey, rats and sheep. *J. Nutr.*, 113, 2138-2146.
16. Beckett G.J., Beech S.G., Nicol F., Walker S.W., Arthur J.R., (1993). Species differences in thyroidal iodothyronine deiodinase expression and the effect of selenium deficiency on its activity. *J.Trace Elem.Electrolytes Health Dis.*, 7, 123-124.
17. Beech S., Walker S.W., Arthur J.R., Nicol F., Beckett G.J., (1993). Selenium status and thyroidal iodothyronine deiodinase activity in rat and human thyrocytes. Anke M., Meissner D., Mills C.F., (ed.), *Trace Elements in Man and Animals - TEMA 8*, 1062 - 1065.

18. Beech S.G., Walker S.W., Beckett G.J., Arthur J.R., Nicol F., Lee D., (1995). Effect of selenium depletion on thyroidal type-I iodothyronine deiodinase activity in isolated human thyrocytes and rat thyroid and liver. *Analyst*, 120, 827-831.
19. Behne D., Wolters W., (1979). Selenium content and glutathione peroxidase activity in the plasma and erythrocytes of non-pregnant and pregnant women. *J.Clin.Chem.Clin.Biochem.*, 17, 133-135.
20. Behne D., Wolters W., (1983). Distribution of selenium and glutathione peroxidase in the rat. *J.Nutr.*, 113, 456-461.
21. Behne D., Kyriakopoulos A., Meinhold H., Köhrle J., (1990). Identification of type I iodothyronine 5'-deiodinase as a selenoenzyme. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 173, 1143-1149.
22. Behne D., Weiss-Nowak C., Kalcklösch M., Westphal C., Gessner H., Kyriakopoulos A., (1994). Application of nuclear analytical methods in the investigation and identification of new selenoproteins. *Biol.Trace Elem. Res.*, 43-45, 287-297.
23. Behne D., Weiss-Nowak C., Kalcklösch M., Westphal C., Gessner H., Kyriakopoulos A., (1995). Studies on the distribution and characteristics of new mammalian selenium-containing proteins. *Analyst*, 120, 823-825.
24. Behne D., Kyriakopoulos A., Kalcklösch M., Weiß-Nowak, Hoffmüller U., Geßner H., Hammel C., (1996). Two new selenoproteins found in the prostatic glandular epithelium in the spermatid nuclei. *The Sixth International Symposium on Selenium in Biology and Medicine, Beijing, China. Program and Abstract Book*, 13.
25. Beker D., Romić Z., Kršnjavi H., Zima Z., (1991). A contribution to the world selenium map. *Biol.Trace Elem. Res.*, 33, 43-49.
26. Bermano G., Nicol F., Dyer J.A., Sunde R.A., Beckett G.J., Arthur J.R., Hesketh J.E., (1996). Selenoprotein gene expression during selenium-repletion of selenium-deficient rats. *Biol. Trace Elem. Res.*, 51, 211-223.
27. Bluhm G., 1990. Selenium and cardiovascular disease. *Trace Elem. Med.*, 7, 139-145.
28. Borawski J., Szelachowska M., Krętowski A., Popławska A., Kinałska I., (1996). Reference values of thyroid gland volume as estimated by USG in the population of schoolchildren from the North-Eastern region of Poland. *Endokr. Pol.*, 47, 135-145.
29. Borowska K., Malczyk P., Kędzia W., (1994). Zawartość selenu w glebach uprawnych i leśnych województwa bydgoskiego. *Materiały seminarium: Arsen i selen w środowisku; Problemy ekologiczne i metodyczne. Polska Akademia Nauk, Zeszyty Naukowe*, 8, Warszawa, 157-166.
30. Borowska K., (1996). Selen ogółem i ekstrahowany DTPA w wybranych profilach czarnych ziem kujawskich. *Materiały sympozjum: Analiza związków selenu i analiza leków*, Warszawa, 15-16.
31. Bourdoux P.P., (1997). Role of goitrogens in the etiology of iodine deficiency disorders. Fischer P.W.F., L'Abbe M.R., Cockell K.A., Gibson R.S., (ed.), *Trace Elements in Man and Animals - TEMA 9*, 152-155.
32. Bourdoux P.P., Van Thi H.V., Van Stichelen S., Ermans A.M., (1997). Universal salt iodization: Myth or reality? Fischer P.W.F., L'Abbe M.R., Cockell K.A., Gibson R.S., (ed.), *Trace Elements in Man and Animals - TEMA 9*, 397-398.
33. Bratakos M.S., Kanaki H.C., Vasiliou-Waite A., Ioannou P.V., (1990). The nutritional selenium status of healthy Greeks. *Sci.Total Environ.*, 91, 161-176.
34. Brätter P., Negretti de Brätter V.E., Gawlik D., Oliver W. L., Alvarez N., Jaffé, (1993). Selenium in human monitors related to the regional dietary intake levels in Venezuela. *J.Trace Elem.Electrolytes Health Dis.* 7, 111-112.
35. Brätter P., Negretti de Brätter V.E., (1996). Influence of high dietary selenium intake on the thyroid hormone level in human serum. *The Sixth International Symposium on Selenium in Biology and Medicine, Beijing, China. Program and Abstract Book*, 135.

36. Brush B.F., Altland J.K., (1952). Goiter prevention with iodized salt: result of a thirty-year study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 12, 1380-1388.
37. Brzostek J., (1996). Hormony tarczycy (T3, T4) i hormon tyreotropowy (TSH) u dzieci z wolem obojętnym. *Ann. Acad. Med. Siles.*, supl. 24, 281-295.
38. Burtis C.A., Ashwood E.R., (1994). *Tietz textbook of clinical chemistry*. W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1226-1227, 1344-1346.
39. Calomme M., Vanderpas J., Francois B., Van Caillie-Bertrand M., Herchuelz A., Vanovervelt N., Van Hoorebeke C., Vanden Berghe D.A. (1995a). Thyroid function parameters during a selenium repletion/depletion study in phenylketonuric subjects. *Experientia*, 51, 1208-1215.
40. Calomme M., Vanderpas J., Francois B., Van Caillie-Bertrand M., Vanovervelt N., Van Hoorebeke C., Vanden Berghe D.A. (1995b). Effect of selenium supplementation on thyroid hormone metabolism in phenylketonuria subjects on a phenylalanine restricted diet. *Biol. Trace Elem. Res.*, 47, 349-353.
41. Chanoine J.P., Braverman L.E., Farwell A.P., Safran M., Alex S., Dubord S., Leonard J.L., (1993). The thyroid gland is a major source of circulating T3 in the rat. *J.Clin.Invest.*, 91, 2709-2713.
42. Chaudiere J., Courtin O., Leclaire J., (1992). Glutathione oxidase activity of selenocystamine: a mechanistic study. *Arch. Biochem. Biophys.*, 296, 328-336.
43. Chen X., Yang G., Chen J., Wen Z., Ge K., (1980). Studies on the relations of selenium and Keshan disease. *Biol. Trace Elem. Res.* 2, 91. (abs)
44. Chmielowski J., Kłapcińska B., Tyflewski A., (1994). Bioakumulacja selenu przez drobnoustroje. Materiały seminarium: Arsen i selen w środowisku; Problemy ekologiczne i metodyczne. Polska Akademia Nauk, Zeszyty Naukowe 8, Warszawa, 58-66.
45. Chu F.F., Doroshov J.H., Esworthy R.S., (1993). Expression, characterization, and tissue distribution of a new cellular selenium-dependent glutathione peroxidase, GSHPx-GI. *J.Biol.Chem.*, 268, 2571-2576.
46. Clausen J., Jensen G. E., Nielsen S.A., (1988). Selenium in chronic neurologic diseases. *Biol. Trace Elem. Res.*, 15, 179-203.
47. Cohen H.J., Avissar N., 1994. Extracellular glutathione peroxidase: a distinct selenoprotein. Burk R.F. (ed.) *Selenium in Biology and Medicine*, Springer-Verlag, New York, 80-91.
48. Combs G.F., Combs S.B., (1984). The nutritional biochemistry of selenium. *Ann. Rev. Nutr.*, 4, 257-280.
49. Combs G.F., Combs S.B., (1986). *The Role of Selenium in Nutrition*. Academic Press, Orlando.
50. Contempre B., Vanderpas J.B., Duale Ng., Diplock A.T., Thilly C.H., (1991). Central and/or peripheral effects of selenium on thyroid metabolism in human. *Progress in Thyroid Research*, Gordon, Gross and Hennemann (ed.), Balkema, Rotterdam, 757-760.
51. Contempre B., Denef J.F., Dumont J.E., Many M.C., (1993). Selenium deficiency aggravates the necrotizing effects of a high iodide dose in iodine deficient rats. *Endocrinology*, 132(4), 1866-1868.
52. Contempre B., Many M.C., Vanderpas J., Dumont J.E., (1994). Interaction between two trace elements: selenium and iodine. Implications of both deficiencies. Stanbury J.B. (ed.), *The Damaged Brain of Iodine Deficiency*. Cognizant Communication Corporation., 133-138.
53. Corvilain B., Sande van J., Laurent E., Dumont J.E., (1991). The H₂O₂-generating system modules protein iodination and the activity of the pentose phosphate pathway in dog thyroid. *Endocrinology*, 128, 779-785.

54. Corvilain B., Contempre B., Longombe A.O., Goyens P., Gerry-Decoster Ch., Lamy F., Vanderpas J.B., Dumont J.E., (1993). Selenium and the thyroid: how the relationship was established. *Am.J.Clin.Nutr.Supl.*, 57, 244S-248S.
55. Cser A., Sziklai-Laszlo, Menzel H., Lombeck I., (1993). Selenium status and lipoproteins in healthy and diabetic children. *J.Trace Elem.Electrolytes Health Dis.*, 7, 205-210.
56. Cser M. A., Sziklai-Laszlo, Menzel H., Lombeck I., (1996). Selenium, glutathione peroxidases in healthy Hungarians. Selenium content of basic food ingredients. The Sixth International Symposium on Selenium in Biology and Medicine, Beijing, China. Program and Abstract Book, 47.
57. Danch A., Drożdż M., Szywała L., Piskorska D., Wazowski R., (1996). Zawartość selenu w osoczu dzieci z terenów o różnym skażeniu ekologicznym. Kędryna T., Lityńska A., Laidler P. (ed.), XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego. Kraków. Streszczenia, s. 44.
58. Davey J.C., Becker K.B., Schneider M.J., Germain D.L.St., Galton V.A., (1995). Cloning of cDNA for the type II iodothyronine deiodinase. *J.Biol.Chem.*, 270, 26786-26789.
59. Delange F., (1995). Niedobory jodu w Europie. *Thyroid International (Merck)*, 1, 3-16.
60. Delange F., Ermans A.M. (1996). Iodine deficiency. *The Thyroid. A Fundamental and Clinical Text*. 7-th Ed. Braverman L.E., Utiger R., (eds.), Lippincott. Raven Publ., Philadelphia, 296-316.
61. Delange F., (1997). Thyroid volume and urinary iodine in European schoolchildren: standardization of values for assessment of iodine deficiency. *Eur. J. Endocrinol.*, 136, 180-187.
62. Deshpande S.S., Deshpande U.S., Salunkhe D.K., (1996). Nutritional and health aspects of food antioxidants. Madhavi D.L., Deshpande S.S., Salunkhe D.K., (ed.), *Food Antioxidants. Technological, Toxicological and Health Perspectives*, 361-470.
63. Diplock A.T., (1993). Indexes of selenium status in human populations. *Am.J.Clin. Nutr. Suppl.*, 57, 256S-258S.
64. Djuric I.S., Jozanov-Stankov O., Mandic M., Demajo M., Vrvic M.M., (1992). Selenium content and distribution in rat tissues irradiated with gamma rays. *Biol. Trace Elem. Res.* 33, 197-204.
65. Dohán O., Szaboles I., Feldkamp J., Lombeck I., Bernard W., (1996). Plasma selenium levels, urinary iodine excretion and thyroid hormone parameters in chronically ill hospitalized geriatric patients. Braverman L.E., Köhrle J., Eber O., Langsteger W., (ed.), *Proceedings of the 6-th Thyroid Symposium: Thyroid and Trace Elements*, Graz-Eggenberg, 85-87.
66. Drebeckas V., (1993). Iodine status in Lithuania. Anke M., Meissner D., Mills C.F., (ed.), *Trace Elements in Man and Animals - TEMA 8*, 1032-1035.
67. Drożdż R., (1992). Katalityczna metoda oznaczania jonów jodkowych w moczu. *Endokr. Pol.*, 43, 83-89.
68. Dutka S., (1992). Ocena Całkowitych Zawartości Pierwiastków Głównych i Śladowych w Powierzchniowej Warstwie Gleb Polski. IUNG, Puławy.
69. Dytkowska-Późniak E., Szlenk L., Krawczyńska H., (1990a). Prawidłowe wartości stężenia tyroksyny, trójiodotyroniny, tyreotropiny i wychwyty żywicznego trójiodotyroniny w surowicy dzieci i młodzieży z regionu Mazowsza. *Endokr.Pol.*, 41, 533-538.
70. Dytkowska-Późniak E., Krawczyńska H., (1990b). Trójiodotyroninowa eutyreoza u dzieci i młodzieży z wolem z regionu Mazowsza. *Endokr.Pol.*, 41, 525-531.

71. Dziewański J., Jaskulski W.J., Józefko U., Migąła J., Skrzypczak R., (1988). Oddziaływanie Przemysłu Siarkowego na Środowisko Przyrodnicze Województwa Tarnobrzieskiego. AGH, Kraków.
72. Ellis N., Lloyd B., Lloyd R.S., Clayton B.E., (1984). Selenium and vitamin E in relation to risk factors for coronary heart disease. *J.Clin.Pathol.*, 37, 200-206.
73. Epp O., Ladenstein R., Wendel A., (1983). The refined structure of the selenoenzyme glutathione peroxidase at 0.2-nm resolution. *Eur.J.Biochem.*, 133, 51-69.
74. Esfandiari A., Courtin F., Lennon A.M., Gavaret J.M., Pierre M., (1992). Induction of type III deiodinase activity in astroglial cells by thyroid hormones. *Endocrinology* 131, 1682-1688.
75. Favier A., (1988). Selenium metabolism. Néve J., Favier A. (ed.), *Selenium in Medicine and Biology*. Walter de Gruyter & Co: Berlin/New York, 29-50.
76. Favretto L.G., Marletta G.P., Bogoni P., Favretto L., (1989). *Z.Lebensm.Unters.Forsch.*, 189, 123-127.
77. Fitko R., Kucharski J., Gajewska A., Kochman K., (1997). Evidence of thyrotropic activity of gonadotropins in rats. *Endokr.Pol.*, 48, 115-122.
78. Flohe L., Günzler W.A., Shock H.H., (1973), Glutathione peroxidase: A selenoenzyme. *FEBS Lett.*, 32, 132-135.
79. Flohe L., Aumann K.D., Bedorf N., Brigelius-Flohe R., Schomburg D., (1996). Modelling catalytic intermediates of the glutathione peroxidase reaction. The Sixth International Symposium on Selenium in Biology and Medicine, Beijing, China. Program and Abstract Book, 4.
80. Forstrom J.W., Zakowski J.J., Tappel A.L., (1978). Identification of the catalytic site of rat liver glutathione peroxidase as selenocysteine. *Biochemistry*, 17, 2639-2644.
81. Furdal S., (1989). Modelowanie Statystyczne w Badaniach Empirycznych. Instytut Sportu, Warszawa.
82. Gebre-Medhin M., Ewald U., Tuvemo T., (1988). Serum selenium is related to low-density lipoproteins in healthy children but not in children with diabetes. *Upsala J. Med. Sci.*, 93, 57-62.
83. Gembicki M., (1997). Leczenie wola endemicznego. *Endokr.Pol.*, 48, 45-49.
84. Golstein J., Corvilain B., Lamy F., Paquer D., Dumont J.E., (1988). Effects of a selenium deficient diet on thyroid function of normal and perchlorate treated rats. *Acta Endocrinol.* 118, 495-498.
85. Gołkowski F., Szybiński Z., Huszno B., Stanuch H., Żarnicki A., (1993). Ultrasound measurement of thyroid volume in the nation-wide epidemiological survey on iodine deficiency in Poland. *Endokr. Pol.*, 44, 351-358.
86. Goyens P., Golstein J., Nsombola B, Vis H., Dumont J.E., (1987). Selenium deficiency as possible factor in the pathogenesis of myxoedematous endemic cretinism. *Acta Endocrinol. (Copenh.)*, 114, 497-502.
87. Gromadzińska J., Wąsowicz W., Wołkanin P., Skłodowska M., Biernacka M., Brózik H., (1996). Aktywność wybranych mikroelementów i metaloenzymów we krwi dzieci z młodzieńczym przewlekłym zapaleniem stawów. Materiały konferencji: V Polskie Sympozjum Magnezologiczne. Biopierwiastki i metale toksyczne w środowisku człowieka, Warszawa. P1-7.
88. Groppel B., Hötzel D., (1993). Iodine deficiency with particular reference to Germany. Anke M., Meissner D., Mills C.F., (ed.), *Trace Elements in Man and Animals - TEMA* 8, 1028-1031.
89. Günzler W.A., Kremers H., Flohe L., (1974). An improved coupled test procedure for glutathione peroxidase in blood. *Z.Klin.Chem.Klin.Biochem.*, 12, 444-448.

90. Hamburger J.I. (1989). Diagnostic methods in clinical thyroidology. Hamburger J.I. (ed.) *Strategies for Cost-Effective Thyroid Function Testing with Modern Methods*, 63-109.
91. Hansson L., Johansson K., Olin Å., Simán G., (1994). Method for the determination of selenium in low-selenium grain and the effect of liming on the uptake of selenium by barley and oats. *Acta Agric. Scand.*, 44, 193-200.
92. Hawkes W.C., Keim N.L., (1995). The effect of selenium on triiodothyronine and weight changes in healthy men in a metabolic research unit. *FASEB J.*, 9, A160. (abs)
93. Hawkes W.C., Keim N.L., Kelley D.S., (1996). The effects of dietary selenium on thyroid hormones, energy metabolism, semen quality, and immune function in healthy men. *The Sixth International Symposium on Selenium in Biology and Medicine*, Beijing, China. Program and Abstract Book, 134.
94. Herrman J.L. (1977). The properties of a rat serum protein labelled by the injection of sodium selenite. *Biochim. Biophys. Acta* 500, 61-70.
95. Hill K.E., Burk R.F., (1994). Selenoprotein P - an extracellular protein containing multiple selenocysteines. Burk R.F. (ed.), *Selenium in Biology and Medicine*, Springer-Verlag, New York, 117-131.
96. Hincal F., Baňaran N., Yetgin S., Gökmen O., (1994). Selenium status in Turkey. II. Serum selenium concentration in healthy residents of different ages in Ankara. *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.*, 8, 9-12.
97. Huang W., Åkesson B., (1993). Radioimmunoassay of glutathione peroxidase in human serum. *Clin. Chim. Acta*, 219, 139-148.
98. Huang W., Makar A., Bauer B., Åkesson B., (1996). Extracellular glutathione peroxidase in aqueous humor and serum of patients operated for cataract. *The Sixth International Symposium on Selenium in Biology and Medicine*, Beijing, China. Program and Abstract Book, 84.
99. IPCS International Programme on Chemical Safety, (1987). *Environmental Health Criteria 58 Selenium*. World Health Organization, Geneva.
100. Imura N., (1996). Active oxygen generation as a possible mechanism of selenium toxicity. *The Sixth International Symposium on Selenium in Biology and Medicine*, Beijing, China. Program and Abstract Book, 111.
101. Ip C., Ganther H.E., (1994). Novel strategies in selenium cancer chemoprevention research. Burk R.F. (ed.) *Selenium in Biology and Medicine*, Springer-Verlag, New York, 169-180.
102. Iwanier K., Zachara B., (1995). Selenium supplementation enhances the element concentration in blood and seminal fluid but does not change the spermatozoal quality characteristics in subfertile men. *J. Androl.*, 16, 441-447.
103. Jajuga K., (1993). *Statystyczna Analiza Wielowymiarowa*. PWN, Warszawa.
104. Jendryczko A., Bogdanowski T., Szpyrka B., (1993). Poziomy cynku, miedzi i selenu w surowicy krwi, w erytrocytach i we włosach oraz w moczu u dzieci z łysieniem plackowatym. *Przegl. Dermatol.*, 80, 514-517.
105. Kabata-Pendias A., Pendias H., (1993). *Biogeochemia Pierwiastków Śladowych*. PWN, Warszawa.
106. Kabata-Pendias A., (1997). Selen w środowisku - fakty i mity. Referat wygłoszony w ramach Uniwersytetu Otwartego, Kraków AGH, 26.04.97.
107. Kalicka-Kasperczyk A., Dziatkowiak H., (1997). Wole obojętne u dzieci i młodzieży. *Med. Prakt.* 3, 26-32.
108. Kauf E., Seidel J., Dawczynski H., Vogel H., Vogt L., Schlenvoigt D., (1993). Selenium deficiency and thyroid hormone status in children. Anke M., Meissner D., Mills C.F. (ed.), *Trace Elements in Man and Animals - TEMA* 8, 170-171.

109. Kavanaugh-McHugh A.L., Ruff A., Perlman E., Hutton N., Modlin J., Rowe S., (1991). Selenium deficiency and cardiomyopathy in acquired immunodeficiency syndrome. *JPEN*, 15, 347-349.
110. Kiremidjian-Schumacher L., Stotzky G., (1987). Selenium and immune response. *Environ. Res.*, 42, 277-303.
111. Kleene K., (1994). The mitochondrial capsule selenoprotein - a structural protein in the mitochondrial capsule of mammalian sperm. Burk R.F. (ed.), *Selenium in Biology and Medicine*, Springer-Verlag, New York., 134-149.
112. Kliś Cz., Korcz M., Mielżyńska D., (1993). Analiza Stanu Zagrożenia Populacji Dziecięcej Miasta Bytom ze Względu na Zanieczyszczenie Środowiska. Instytut Ekologii Terenów Uprzemysłowionych, Katowice.
113. Köhrle J., (1994). Thyroid hormone deiodination in target tissues - a regulatory role for the trace element selenium. *Exp. Clin. Endocrinol.*, 102, 63-89.
114. Köhrle J., Dreher I., Schmutzler C., Fekete E., Goretzki P., Simon D., Schuppert F., Brabant G., Gawlik D., Behne D., (1996). Selenium and selenoproteins in the human thyroid gland. The Sixth International Symposium on Selenium in Biology and Medicine, Beijing, China. Program and Abstract Book, 132.
115. Kok F.J., De Bruijn A. M., Hofman A., Valkenburg H.A., (1987). Selenium status and chronic disease mortality: Dutch epidemiological findings. *Int. J. Epidemiol.*, 16, 329-332.
116. König J.S., Godina-Zarfl B., Dichtl M., Elmadfa I., (1993). Iodine status and thyroideal function in Austrian school and kindergarten children aged 4-9 years. Anke M., Meissner D., Mills C.F., (ed.), *Trace Elements in Man and Animals - TEMA 8*, 1036 - 1039.
117. Krawczyńska H., (1992). *Tyreologia wieku rozwojowego*. CMKP, Warszawa.
118. Kumpulainen J.T., (1993). Selenium in foods and diets of selected countries. *J.Trace Elem.Electrolytes Health Dis.*, 7, 107-108.
119. Kumpulainen J.T., Aro A., Alfthan G., Eurola M., (1996). Selenium in staple foods and diets of Russia, Kazakhstan, Belorussia, Moldavia, Estonia, Lithuania, Germany, Finland and Turkey. The Sixth International Symposium on Selenium in Biology and Medicine, Beijing, China. Program and Abstract Book, 48.
120. Kvalica J., Havelka J., Nemec J., Zeman V., (1991). Selenium and rubidium changes in subjects with pathologically altered thyroid. *Biol.Trace Element Res.* 32, 253-258.
121. Kvalica J., Zamrazil V., Soutorova M., Tomiska F., (1995). Correlations between parameters of body selenium status and peripheral thyroid parameters in the low selenium region. *Analyst*, 120, 959-965.
122. Larsen E.H., Ekelund, (1989). Determination of total selenium in nutritional supplements and selenised yeast by Zeema-effect graphite furnace atomic absorption spectrometry. *Analyst*, 114, 915-917.
123. Levander O.A., (1982). Selenium: biochemical actions, interactions, and some human health implications. A.R.Liss, Inc. (ed.), *Clinical, Biochemical, and Nutritional Aspects of Trace Elements*, New York, 345-368.
124. Levander O.A., (1989). Progress in establishing human nutritional requirements and dietary recommendations for selenium. Wendel A., (ed.), *Selenium in Biology and Medicine*. Berlin, Springer-Verlag, 205-209.
125. Levander O.A., Whanger P.D., (1996). Deliberations and evaluations of the approaches, endpoints and paradigms for selenium and iodine dietary recommendations. *J. Nutr.*, 126, 2427S-2434S.
126. Lis J., Pasieczna A., (1995). *Geochemiczny Atlas Polski*. Państwowy Instytut Geologiczny, Warszawa.
127. Litov R.E., Combs G.F., (1991). Selenium in pediatric nutrition. *Pediatrics*, 87, 339-351.

128. Lombeck I., Kasperek K., Harbisch H.D., Becker K., Schumann E., Schroder W., Feinendegen L.E., Bremer H.J., (1978). The selenium state of children. Selenium content of serum, whole blood, hair and the activity of erythrocyte glutathione peroxidase in dietetically treated patients with phenylketonuria and maple-syrup-urine disease. *Europ.J.Pediat.*, 128, 213-223.
129. Ma T., Guo J., Wang F., (1993). The epidemiology of iodine-deficiency diseases in China. *Am. J. Clin. Nutr. Suppl.*, 57, 264S-266S.
130. MacPherson A., Barclay M.N.I., Scott R., Yates R.W.S., (1997). Loss of Canadian wheat imports lowers selenium intake and status of the Scottish Population. Fischer P.W.F., L'Abbé K.A., Cockell K.A., Gibson R.S., (eds.). *Trace Elements in Man and Animals - TEMA 9*, 203-205.
131. Maddipati K.R., Marnett L.J., (1987). Characterization of the major hydroperoxide-reducing activity of human plasma. Purification and properties of a selenium-dependent glutathione peroxidase. *J. Biol. Chem.*, 262, 17398-17403.
132. Madhavi D.L., Singhal R.S., Kulkarni P.R., (1996). Technological aspects of food antioxidants. Madhavi D.L., Deshpande S.S., Salunkhe D.K., (ed.), *Food antioxidants. technological, toxicological and health perspectives*, 159-265.
133. Madhavi D.L., Salunkhe D.K., (1996). Toxicological Aspects of Food Antioxidants. Madhavi D.L., Deshpande S.S., Salunkhe D.K., (ed.), *Food Antioxidants. Technological, Toxicological and Health Perspectives*, 267-359.
134. Maksimović Z., Djujić I., Jović V., Ršumović M., (1992). Selenium deficiency in Yugoslavia. *Biol. Trace Elem. Res.*, 33, 187-195.
135. Malvy D.J.M., Arnaud J., Burtschy B., Richard M.J., Favier A., Houot O., Amedee-Manesme O., (1993). Reference values for serum zinc and selenium of French healthy children. *Eur.J.Epidemiol.*, 9, 155-161.
136. Marchaluk E., Persson-Moschos M., Thorling E.B., Åkesson B., (1995). Variation in selenoprotein P concentration in serum from different European regions. *Eur.J. Clin. Nutr.*, 49, 42-48.
137. Marchaluk E., Maciąg A., Pepliński J., Åkesson B., Zachara B.A., (1996). Selenobiałko P i peroksydaza glutationowa u pacjentów z rakiem płuc. Kędryna T., Lityńska A., Laidler P. (ed.), *XXXII Zjazd Polskiego Towarzystwa Biochemicznego*. Kraków. Streszczenia, s. 78.
138. Markiewicz J., (1990). Niektóre problemy toksykologii metali ciężkich w aspekcie skażenia środowiska. Gumińska M. (ed), *Chemiczne substancje toksyczne w środowisku i ich wpływ na zdrowie człowieka*. Wydawnictwo Polskiej Akademii Nauk, Wrocław, s. 117-135.
139. McKenzie R. L., Heather M. R., Thomson C.D., Robinson M. F., (1978). Selenium concentration and glutathione peroxidase activity in blood of New Zealand infants and children. *Am.J.Clin.Nutr.*, 31, 1413 - 1418.
140. McMaster D., Bell N., Anderson P., Love A.H.G., (1990). Automated measurement of two indicators of human selenium status, and applicability to population studies. *Clin. Chem.*, 36, 211-216.
141. Meinhold H., Campos-Barros A., Walzog B., Köhler R., Müller F., Behne D., (1993). Effects of selenium and iodine deficiency on type I, type II and type III iodothyronine deiodinases and circulating thyroid hormones in the rat. *Exp.Clin.Endocrinol.*, 101, 87-93.
142. Meltzer H.M., Norheim G., Bibow K., Myhre K., Holm H., (1990). The form of selenium determines the response to supplementation in a selenium replete population. *Eur.J.Clin.Nutr.*, 44, 435-446.
143. Meltzer H.M., Norheim G., Løken E.B., Holm H., (1992). Supplementation with wheat selenium induces a dose-dependent response in serum and urine of a Se-replete population. *Brit.J.Nutr.*, 67, 287-294.

144. Meltzer H.M., Bibow K., Paulsen I.T., Mundal H.H., Norheim G., Holm H., (1993). Different bioavailability in humans of wheat and fish selenium as measured by blood platelet response to increased dietary Se. *Biol.Trace Elem.Res.*, 36, 229-241.
145. Mengübas K., Cin S., Gökmen I., Diab N., Cavdar A.O., (1992). Selenium status of normal Turkish children. *Biol. Trace Elem. Res.*, 33, 160. (abs)
146. Merja E., Jussi T., Kirsti P., Pertti V., (1996). Selenium and mercury contents of wild mushrooms in Finland. *The Sixth International Symposium on Selenium in Biology and Medicine*, Beijing, China. Program and Abstract Book, 161.
147. Mišetić-Turk D., Turk Z., Radoli L., (1996). Serum selenium values in healthy children aged 1-18 years in NE Slovenia. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 50, 192-194.
148. Mihailović M., Matić G., Lindberg P., Žigić B., (1992). Accidental selenium poisoning of growing pigs. *Biol. Trace Elem. Res.*, 33, 63-69.
149. Mikac-Dević M., Ferenc D., Tiefenbach A., (1990). Serum selenium levels in untreated children with acute lymphoblastic leukemia I. *J.Trace Elem. Electrolytes Health Dis.*, 4, 7-10.
150. Mills G.C., (1957). Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative damage. *J. Biol., Chem.*, 229, 189-197.
151. Moreno-Reyes R., Swennen B., Gillies J., Hindlet J.Y., Thilly C.H., (1993). Selenium deficiency mitigates hypothyroxinemia in iodine deficient pregnant women. *J.Endocrinol.Invest.*, 16 (suppl.2), 12. (abs)
152. Moreno-Reyes R., Suetens C., Mathieu F., Begaux F., Tenzin Ph., Néve J., Vanderpas J., (1996). Very severe selenium and iodine deficiency in rural Tibet. Braverman L.E., Köhrle J., Eber O., Langsteiger W., (ed.), *Proceedings of the 6-th Thyroid Symposium: Thyroid and Trace Elements*, Graz-Eggenberg, 81-84.
153. Moret I., Capodaglio G., Scarponi G., (1986). Statistical evaluation of the group structures of five Venetian wines from chemical measurements. *Anal.Chim.Acta*, 191, 331-350.
154. Morrison D.F., (1990). *Wielowymiarowa Analiza Statystyczna*. PWN, Warszawa.
155. Mussalo-Rauhamaa H., Vuori E., Lehto J.J., Akerblom H., Rasanen L., (1993). Increase in serum selenium levels in Finnish children and young adults during 1980-1986: a correlation between the serum levels and the estimated intake. *Eur.J.Clin.Nutr.*, 47, 711-717.
156. Napolitano G., Bonomini M., Bomba G., Bucci I., Todisco V., Albertazzi A., Monaco F., (1996). Thyroid function and plasma selenium in chronic uremic patients on hemodialysis treatment. *Biol. Trace Elem Res.*, 55, 221-230.
157. Necheles T.F., Boles T., Allen D.M., (1968). Erythrocyte glutathione-peroxidase deficiency and hemolytic disease of the newborn infant. *J. Pediatr.*, 72, 319-324.
158. Nelson J.C., Clark S.J., Borut D.L., Tomel R.T., Carlton E.I., (1993). Age-related changes in serum free thyroxine during childhood and adolescence. *J.Pediatr.*, 123, 899-905.
159. Néve J., Vertongen F., Capel P., (1988). Selenium supplementation in healthy Belgian adults: response in platelet glutathione peroxidase activity and other blood indices. *Am. J. Clin. Nutr.*, 48, 139-143.
160. Néve J., (1991). Methods in determination of selenium status. *J.Trace Elem. Electrolytes Health Dis.*, 5, 1-17.
161. Nordenberg D.F., Ratajczak R., Rybakowa M., Tylek D., Maberly G.F., (1994). Congenital hypothyroid screening programs: a sensitive IDD surveillance system. J.B. Stanbury (ed.), *The damaged brain of iodine deficiency*. Cognizant Communication Corporation, New York, 279-283.
162. Oldfield J.E., (1987). The two faces of selenium. *J.Nutr.*, 117, 2002-2008.
163. Oldfield J.E., 1995. Selenium in maps. *The Bulletin of Selenium-Tellurium Development Association*. April, 1-7.

164. Oster O., Schmiedel G., Prellwitz W., (1988). The organ distribution of selenium in German adults. *Biol. Trace Elem. Res.*, 15, 23-45.
165. Oster O., Prellwitz W., (1990). The renal excretion of selenium. *Biol. Trace Elem. Res.*, 24, 119-146.
166. Paglia D., Valentine W.N., (1967). Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J.Lab.Clin.Med.* 70, 158-169.
167. Pawłowicz Z., Zachara B.A., Trafikowska U., Nowicki A., (1993). Małe stężenie selenu i aktywności peroksydazy glutationowej we krwi chorych na raka przewodu pokarmowego. *Pol.Tyg. Lek.*, 25-26, 554-556.
168. Piotrowska M., (1984). Zawartość selenu w uprawnych glebach Polski. *Rocz. Glebozn.* 35, 23-31.
169. Piskorska D., Grabowska-Bochenek (1995). Rola selenu w metabolizmie hormonów tarczycy. *Przegl. Lek.*, 52, 63-65.
170. Plantin L.O., Meurling S., Nyquist O., Strandvik B., Tune R., (1981). Selenium in blood in health and in certain diseases. Gawthorne I.M. (ed.), *Trace Elements in Man and Animals - TEMA 4*, 510-513.
171. Pleban P.A., Munyani A., Beachum J., (1982). Determination of selenium concentration and glutathione peroxidase activity in plasma and erythrocytes. *Clin. Chem.* 28, 311-316.
172. Podoba J., Srbecky M., Hnilica P., (1996). Some remarks to the physiology of thyroid volume in children and adolescents in the conditions of effective iodine prophylaxis of endemic goitre. Braverman L.E., Köhrle J., Eber O., Langsteger W., (ed.), *Proceedings of the 6-th Thyroid Symposium: Thyroid and Trace Elements*, Graz-Eggenberg, 222-225.
173. Popadiuk S., Korzon M., Wąsowicz W., Gromadzińska J., Skłodowska M., Szarszewski A., (1995). Selen, peroksydaza glutationowa i związki TBA-reaktywne w osoczu dzieci z chorobami rozrostowymi układu krwiotwórczego. *Ped. Pol.*, 4, 313-317.
174. Pratley J.E., McFarlane J.D., (1974). The effect of sulphate on the selenium content of pasture plants. *Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.*, 14, 533-538.
175. Prohaska J.R., Oh S.H., Hoekstra W.G., Ganther H.E., (1977). Glutathione peroxidase: inhibition by cyanide and release of selenium. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 74, 64-71.
176. Rahim A.G.A., Arthur J.R., Mills C.F., (1986). Effects of dietary copper, cadmium, iron, molybdenum and manganese on selenium utilization by the rat. *J.Nutr.*, 116, 403-411.
177. Rajca A., (1990). Chemiczne aspekty roli selenu w mechanizmach obrony organizmów przed powstawaniem chorób nowotworowych. *Wiad. Chem.*, 44, 665-677.
178. Ratajczak R., (199x). Rozprawa doktorska. (w przygotowaniu)
179. Recommended Dietary Allowances (1989). 10th Edition. Food and Nutrition Board. US National Research Council. National Academy Press publ., Washington DC.
180. Robberecht H., Deelstra H., Van Grieken R., (1990). Determination of selenium in blood components by X-ray emission spectrometry. *Biol. Trace Elem. Res.*, 25, 149-185.
181. Rossmanith W.G., Stabler C., Benz R., Bornstein S.R., Scherbaum W.A., (1992). Role of ovarian sex steroids in the regulation of thyrotropin (TSH) secretion of hypogonadal women. *Acta Endocrinol.*, 127, 131-137.
182. Roti E., Minelli R., Gardini E., Bianconi L., Ronchi A., Gatti A., Minoia C., (1993). Selenium administration does not cause thyroid insufficiency in subjects with mild iodine deficiency and sufficient selenium intake. *J.Endocrinol.Invest.*, 16, 481-484.
183. Rotruck J.T., Pope A.L., Ganther H.E., Swanson A.B., Hafenan D., Hoekstra W.G., (1973). Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, 179, 588-590.

184. Roveri A., Maiorino M., Nisii C., Ursini F., (1994a). Purification and characterization of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase from rat testis mitochondrial membranes. *Biochim. Biophys. Acta*, 1208, 211-221.
185. Roveri A., Maiorino M., Ursini F., (1994b). Enzymatic and immunological measurements of soluble and membrane-bound phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase. *Methods in Enzymology*, 233, 202-212.
186. Rügauer M., Zeyfang A., Uhland K., Kruse-Jarres J.D., (1995). Isolation of corpuscular components of whole blood for the determination of selenium in blood cells. *J. Trace Elem. Med. Biol.* 9, 130-135.
187. Rybakowa M., Barylak A., Glonek G., Rutkowski M., (1990). Volumetry of thyroid gland in children by ultrasonography. *Endokr. Pol.*, 41, 509-513.
188. Rybakowa M., Sołtysik-Wilk E., Tylek D., Krzanowska M., Kowalczyk M., (1992). Częstość występowania wola u dzieci w województwie tarnobrzeskim a czynniki środowiskowe. *Endokr. Pol.*, 43, supl. 1, 12-17.
189. Rybakowa M., Tylek D., Ratajczak R., Antoń A., Skalski M., Przybylik-Mazurek E., Huszno B., Gołkowski F., Tarnawski A., Szybiński Z., (1993a). Goiter incidence and urinary iodine excretion in children of age group 6 - 13 years living in south-eastern Poland (Kraków Coordinating Center). *Endokr. Pol.*, 44, 249-258.
190. Rybakowa M., Tylek D., Ratajczak R., (1993b). Masowe badania przesiewowe noworodków jako metoda wczesnej diagnostyki wrodzonej niedomogi tarczycy oraz monitorowanie profilaktyki jodowej w terenie endemii wola. *Klinika*, 2, 46.
191. Romer T.E., Rybakowa M., Ratajczak R., (1997). Wole obojętne w okresie rozwojowym. *Endokr. Pol.*, 48, 37-44.
192. Sando K., Hoki M., Nezu R., Takagi Y., Okada A., (1992). Platelet glutathione peroxidase activity in long-term total parenteral nutrition with and without selenium supplementatiron. *JPEN*, 16, 54-58.
193. Sataar N., Fell G.S., Harrison I., Ha T., O'Reilly, (1996). Are the low concentrations of plasma Se observed in some severely ill patients due to the acute phase response to inflammation, injury and sepsis? The Sixth International Symposium on Selenium in Biology and Medicine, Beijing, China. Program and Abstract Book, 80.
194. Schrauzer G.N., (1991). Selenium, immune response, and nutritional requirements. *Nutrition*, 7, 221.
195. Schrauzer G.N., (1992). Selenium. Mechanistic aspects of anticarcinogenic action. *Biol. Trace Elem. Res.* 33, 51-61.
196. Schroeder H., Frost D.V., Balassa J.J., (1970). Essential trace metals in man: selenium. *J. Chron. Dis.*, 23, 227-243.
197. Schwarz K., Foltz C.M., (1957). Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *J. Am. Chem. Soc.*, 39, 3292-3293.
198. Seko Y., Saito Y., Kitahara J., Imura N., (1989). Active oxygen generation by the reaction of selenite with reduced glutathione in vitro. Wendel A., (ed.), *Selenium in Biology and Medicine*. Berlin, Springer-Verlag, 70-73.
199. Shamberger R.J., (1983). *Biochemistry of Selenium*. Plenum Press, New York/London.
200. Simonoff M., Simonoff G., Conri C., Cornaille B., (1988). Selenium in food and nutrition in France. Brätter P., Schramel P., (ed.), *Trace Elem. Anal. Chem. Med. Biol.* 5, 384-391.
201. Sinha R., Bansal M.P., Ganther H., Medina D., (1993). Significance of selenium-labeled proteins for selenium's chemopreventive functions. *Carcinogenesis*, 9, 1801-1810.
202. Spagnolo A., Morisi G., Marano G., Righetti G., Maietta A., Menotti A., (1991). Serum selenium and precursors of cardiovascular risk factors in adolescents. *Eur. J. Epidemiol.*, 7, 654-657.

203. Spallholz J.E., (1994). On the nature of selenium toxicity and carcinostatic activity. *Free Rad. Biol. Med.*, 17, 45-64.
204. Stacchini A., Coni E., Baldini M., Beccaloni E., Caroli S., (1989). Selenium intake with diet in Italy: a pilot study. *J.Trace Elem.Electrolytes Health Dis.*, 3, 193-198.
205. Stadtman T.C., (1987a). Specific occurrence of selenium in enzymes and amino acid t-RNAs. *FASEB J.*, 375-379.
206. Stadtman T.C., (1987b). Bacterial selenoenzymes and seleno-tRNAs. Selenium in Biology and Medicine. The Third International Symposium on Selenium in Biology and Medicine, Beijing, China. Van Nostrand Reinhold Company, New York, 81-89.
207. Stewart R.D.H., Griffiths N.M., Thomson C.D., Robinson M.F., (1978). Quantitative selenium metabolism in normal New Zealand women. *Br. J. Nutr.*, 40, 45-54.
208. Sunde R.A., 1994. Intracellular glutathione peroxidase - structure, regulation, and function. Burk R.F. (ed.), *Selenium in Biology and Medicine*, Springer-Verlag, New York, 45-77.
209. Szponar L., Rychlik E., Stoś K., (1994). Poziom wiadomości uczniów o zasadach prawidłowego żywienia, w tym znaczenia jodu dla zachowania zdrowia. I Krajowy Kongres Żywność, Żywnienie a Zdrowie, Streszczenia posterów, 223.
210. Szponar L., Stoś K., Przygoda B., Kunachowicz H., (1997). Zapobieganie niedoborom jodu na drodze żywieniowej. *Endokr.Pol.*, 48, 51-57.
211. Szybiński Z., Żarnecki A., (1993). Prevalance of goiter, iodine deficiency and iodine prophylaxis in Poland. The results of nationwide study. *Endokr.Pol.*, 44, 373.
212. Szybiński Z., Delange F., Gembicki M., Kinalska I., Lewiński A., Nauman J., Podoba J., Rybakowa M., Szewczyk L., Wasikowa R., Zdebski Z., (1996). Iodine nutrition in Poland, an example of progress. Nauman J., Glinioer D., Braverman L.E., Hostalek U., (ed.), *The Thyroid and Iodine*. Schauttauer, Stuttgart 43-49.
213. Takahashi K., Avissar N., Whitin J., Cohen H., (1987). Purification and characterization of human plasma glutathione peroxidase: a selenoglycoprotein distinct from the known celllural enzyme. *Archs. Biochem. Biophys.*, 256, 677-686.
214. Terwolbeck K., Behne D., Meinhold H., Cser A., Menzel H., Lombeck I., (1993). Low selenium status, thyroid hormones, and other parameters in children with phenylketonuria (PKU). Anke M., Meissner D., Mills C.F., (ed.), *Trace Elements in Man and Animals - TEMA 8*, 535-538.
215. Thilly C.H., Vanderpas J.B., Bebe N., Ntambue K., Contempre B., Swennen B., Moreno-Reyes R., Bourdoux P., Delange F., (1992). Iodine deficiency. Other trace elements, and goitrogenic factors in the etiopathogeny of iodine deficiency disorders (IDD). *Biol. Trace Elem. Res.*, 32, 229-243.
216. Thilly C.H., Swennen B., Bourdoux P., Ntambue K., Moreno-Reyes R., Gillies J., Vanderpas J.B., (1993). The epidemiology of iodine-deficiency disorders in relation to goitrogenic factors and thyroid-stimulating-hormone regulation. *Am. J. Clin. Nutr. Suppl.* 57, 267S-270S.
217. Thompson K.M., Haibach H., Sunde R., (1995). Growth and plasma triiodothyronine concentrations are modified by selenium deficiency and repletion in second-generation selenium-deficient rats. *J.Nutr.*, 125, 864-873.
218. Thomson C.D., Rea H.M., Doesburg V.M., Robinson M.F., (1977). Selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in whole blood of New Zealand residents. *Br.J.Nutr.* 37, 457-465.
219. Thomson C.D., Robinson M.F., (1980). Selenium in human health and disease with emphasis on those aspects peculiar to New Zealand. *Am.J.Clin.Nutr.*, 33, 303-323.
220. Tiran B., Tiran A., Peter W., Rossipal E., Wawschinek O., (1992). Selenium status of healthy children and adults in Styria (Austria). Investigation of possible undersupply in the Styrian population. *Trace Elem. Med.*, 9, 75-79.

221. Tiran B., Rossipal E., Tiran A., Lorenz O., (1993a). Selenium and iodine concentration in human milk and milk formulas in Styria, Austria. Anke M., Meissner D., Mills C.F., (ed.), Trace Elements in Man and Animals - TEMA 8, 1058 - 1061.
222. Tiran B., Rossipal E., Tiran A., Lorenz O., (1993b). Selenium and iodine supply of newborns in Styria, Austria, fed with human milk and milk formulas. Trace Elem. Med., 10, 104-107.
223. Tiran B., Karpf E., Tiran A., (1995). Age dependency of selenium and cadmium content in human liver, kidney, and thyroid. Arch. Environ. Health 50, 242-246.
224. Tomaszewski W., Tomaszewska M., Lewiński A., (1997). Objętość tarczycy u dzieci polskich jako funkcja wieku. Model matematyczny. Endokr. Pol., 48, 67-75 (suppl. 2).
225. Umińska R., (1990). Selen w środowisku człowieka. Roczn. PZH, 1-2, 25-34.
226. Ursini F., Maiorino M., Valente M., Ferri L., Gregolin C., (1982). Purification from pig liver of a protein which protects liposomes and biomembranes from peroxidative degradation and exhibits glutathione peroxidase activity on phosphatidylcholine hydroperoxides. Biochim. Biophys. Acta, 710, 197-211.
227. Valentine J.L., Kang H.K., Faraji B., Lachenbruch P.A., (1989). Selenium status and age effects. Wendel A. (ed.), Selenium in Biology and Medicine. Springer-Verlag, Berlin, 286-293.
228. Van der Heide D., Schröder van der Elst J.P., Binnerts W.T., (1993). Selenium and iodine status of animals and man: Is there a relation to persistent enlargement of thyroids in adolescents ? Anke M., Meissner D., Mills C.F., (ed.), Trace Elements in Man and Animals - TEMA 8, 1054 - 1057.
229. Vanderpas J.B., Contempre B., Duale N.L., Deckx H., Bebe N., Longombe A.O., Thilly C.H., Diplock A.T., Dumont J., (1993). Selenium deficiency mitigates hypothyroxinemia in iodine-deficient subject. Am.J.Clin.Nutr.Suppl. 57, 271S-275S.
230. Veer Van't P., Wielen Van der R.P.J., Kok F.J., Hermus R.J.J., Sturmans F., (1990). Selenium in diet, blood, and toenails in relation to breast cancer: a case-control study. Am. J. Epidem., 131, 987-994.
231. Vendeland S.C., Beilstein M.A., Chen C.L., Jensen O.N., Barofsky E., Whanger P.D., (1993). Purification and properties of selenoprotein W from rat muscle. J. Biol. Chem., 268, 17103-17107.
232. Visser T.J., Fekkes D., Docter R., Hennemann G., (1978). Sequential deiodination of thyroxine in rat liver homogenate. Biochem.J., 174, 221-229.
233. Ward K., Anderson J., Arthur J.R., Aggett P.J., (1982). Selenium status in paediatric health and disease states. Proc. Nutr. Soc., 41, 20A. (abs)
234. Wąsowicz W., Zachara B., (1987). Selenium concentration in the blood and urine of a healthy Polish sub-population. J. Clin. Chem. Clin. Biochem., 25, 409-412.
235. Wąsowicz W., Skłodowska M., Gromadzińska J., Zachara B.A., Brózik H., Pokuszyńska-Bidas K., (1988). Selenium, lipid peroxides concentration and glutathione peroxidase activity in blood erythrocytes and plasma in children with malabsorption. Z. gesamte Hyg., 34, 264-265.
236. Wąsowicz W., Wolkanin P., Bednarski M., Gromadzinska J., Skłodowska M., Grzybowska K., (1992). Plasma trace element (Se, Zn, Cu) concentrations in maternal and umbilical cord blood in Poland. Biol. Trace Elem. Res., 38, 205-214.
237. Wąsowicz W., Gromadzińska J., Skłodowska M., Wolkanin P., Zambrano-Quispe O., Płużańska A., (1994). Stężenie selenu i aktywność peroksydazy glutationowej we krwi pacjentek z rakiem sutka. Materiały seminarium: Arsen i selen w środowisku; Problemy ekologiczne i metodyczne. Polska Akademia Nauk, Zeszyty Naukowe 8, Warszawa, 179-183.

238. Wąsowicz W., Gromadzińska J., (1996). Stężenie selenu we krwi populacji polskiej w latach 1981-1991. Materiały konferencji: V Polskie Sympozjum Magnezologiczne. Biopierwiastki i metale toksyczne w środowisku człowieka, Warszawa. P1-4.
239. Wendel A., (1980), Glutathione peroxidase. Enzymatic Basis of Detoxication. Vol.1, 333-353. Jacoby W. B. (ed.), Academic Press, New York.
240. Westermann D.T., Robbins C.W., (1974). Effect of SO_4^{2-} -S fertilization on Se concentration of alfalfa (*Medicago sativa* L.) Agron. J., 66, 207-208.
241. Whaun J.M., Oski F.A., (1970). Relation of red blood cell glutathione peroxidase to neonatal jaundice. J. Pediatr., 76, 555-560.
242. Wilke B.C., Vidaihet M., Favier A., Guillemain C., Ducros V., Arnaud J., Richard M.J., (1992). Selenium, glutathione peroxidase (GSH-Px) and lipid peroxidation products before and after selenium supplementation. Clin. Chem. Acta, 207, 137-142.
243. WHO/Nut/94.6, (1994). Indicators for assessing Iodine Deficiency Disorders and their control through salt iodisation, WHO, UNICEF, ICCIDD, Geneva.
244. WHO, (1996). Selenium. Trace elements in human nutrition and health. World Health Organization, Geneva, 105-122.
245. Wold S., (1987). Principal component analysis. Chemometr. Intell. Lab. Sys., 2, 37-52.
246. Wu H., Xia Y., Chen X., (1996). A study on selenium and iodine interaction in animals and humans. The Sixth International Symposium on Selenium in Biology and Medicine, Beijing, China. Program and Abstract Book, 136.
247. Yang G.Q., Wang S., Zhou R., (1983). Endemic selenium intoxication of humans in China. Am.J.Clin.Nutr., 37, 872-881.
248. Yang G., Gu L., Zhou R., Yin S., (1989). Studies of human maximal and minimal safe intake and requirement of selenium. Wendel A., (ed.), Selenium in Biology and Medicine. Berlin, Springer-Verlag, 223-228.
249. Yang W., Lu M., Xia Y., (1996). Inhibition by common and selenium-enriched garlic on human cancer cell lines in vitro. The Sixth International Symposium on Selenium in Biology and Medicine, Beijing, China. Program and Abstract Book, 108.
250. Yoshimura S., Komatsu N., Watanabe K., (1980). Purification and immunohistochemical localization of rat liver glutathione peroxidase. Biochim. Biophys. Acta, 621, 130-137.
251. Yoshimura S., Watanabe K., Suemizu H., Onozawa T., Mizoguchi J., Tsuda K., Hatta H., Moriuchi T., (1991). Tissue specific expression of the plasma glutathione peroxidase gene in rat kidney. J. Biochem., 109, 918-923.
252. Yoshinaga J., Matsuo N., Imai H., Nakazawa M., Suzuki T., (1990). Interrelationship between the concentrations of some elements in the organs of Japanese with special reference to selenium-heavy metal relationships. Sci. Total. Environ., 91, 127-140.
253. Zachara B.A., Wąsowicz W., Gromadzińska J., Skłodowska M., Cabalska B., (1987). Red blood cell glutathione peroxidase activity as a function of selenium supplementation in dietary treated children with phenylketonuria. Biomed. Biochim. Acta 46, 209-213.
254. Zachara B.A., Wąsowicz W., Skłodowska M., Gromadzińska J., Kawiorski J., (1989). Glutathione peroxidase activity, selenium and lipid peroxides concentration in blood from a healthy Polish population. II. Healthy Children. Carapella S.C. (ed.), Proceedings of the Fourth International Symposium on Uses of Selenium and Tellurium, 420-432.
255. Zachara B.A., (1992). Mammalian selenoproteins. J.Trace Elem. Electrolytes Health Dis., 6, 137-151.
256. Zachara B.A., Labedzka H., (1994). Selenium and glutathione peroxidase distribution in blood components of healthy adults taking selenomethionine or selenite with and without methionine. Proceedings of STDA's Fifth International Symposium, Brussels, 145-152.

257. Zachara B.A., Wąsowicz W.,(1994). Stężenie selenu w składowych częściach krwi subpopulacji polskiej na tle innych krajów. Materiały seminarium: Arsen i selen w środowisku; Problemy ekologiczne i metodyczne. Polska Akademia Nauk, Zeszyty Naukowe 8, Warszawa, 157-166.
258. Zagrodzki P., Ratajczak R., Rybakowa M., Podsiadły R., (1996). Evaluation of the thyroid function in newborns by means of factor analysis. Néve J., Chappuis P., Lamand M., (ed.), Therapeutic Uses of Trace Elements, Plenum Press 333-339.
259. Zamorski R., Borowska K., Koper J., (1995). Selenium, zinc and magnesium content, and glutathione peroxidase activity in blood of humans and some animal species. Anke M., Bergmann H., Bitsch R., Dorn W., Flachowsky G., Glei M., Groppel B., Grün M., Gürtler H., Lombeck I., Luckas B., Meissner D., Merbach W., Müller M., Schneider H.J., (ed.), 15. Arbeitstagung Mengen- und Spurenelemente. Verlag Harald Schubert, Leipzig, 421-427.
260. Zduńska H., Bloch-Bogusławska E., Przygońska J., Śliwka K., Zachara B.A., (1994). Stężenie selenu i aktywność peroksydazy glutationowej w narządach osób zmarłych gwałtowną śmiercią. Materiały seminarium: Arsen i selen w środowisku; Problemy ekologiczne i metodyczne. Polska Akademia Nauk, Zeszyty Naukowe 8, Warszawa, 190-193.
261. Ziemiański Ś., Bułhak-Jachymczyk B., Budzyńska-Topolowska J., Panczenko-Kresowska B., Wartanowicz M., (1995). Normy żywienia dla ludności w Polsce. Nowa Medycyna, 5, 1-27.

A N E K S

Tabela A1. Stężenie selenu [μg/L] we krwi dzieci (JL - populacja z Janowa Lubelskiego, R - populacja z Rudnika, ND - populacja z Nowej Dęby, S - populacja z Sandomierza).

Badana grupa	Liczba dzieci	Średnia arytmetyczna	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny kwartyl	Górný kwartyl	Odchylenie standardowe	Błąd standardowy średniej
Badana populacja - ogółem	136	64,1	65,0	30,3	111,5	51,6	74,2	15,7	1,3
Dziewczęta - ogółem	90	63,9	65,2	32,0	111,5	51,7	74,6	15,6	1,6
Chłopcy - ogółem	46	64,4	64,6	30,3	105,0	51,5	73,5	16,2	2,4
JL - ogółem	38	60,9	61,6	32,0	92,9	46,6	74,0	15,8	2,6
JL - dziewczęta	27	58,1	60,3	32,0	87,4	46,3	74,0	15,0	2,9
JL - chłopcy	11	67,5	64,9	39,0	92,9	59,8	85,3	16,6	5,0
R - ogółem	29	64,8	67,5	37,0	105,0	56,5	74,0	15,4	2,9
R - dziewczęta	16	63,6	67,7	37,0	82,0	54,6	74,8	14,7	3,7
R - chłopcy	13	66,3	67,5	40,0	105,0	56,5	74,0	16,7	4,6
ND - ogółem	37	62,9	65,1	35,1	111,5	50,7	73,0	15,5	2,6
ND - dziewczęta	28	65,5	66,6	35,1	111,5	54,6	73,7	15,8	3,0
ND - chłopcy	9	55,0	51,5	41,7	74,6	45,8	60,0	12,1	4,0
S - ogółem	32	68,6	67,1	30,3	97,4	59,2	81,2	15,8	2,8
S - dziewczęta	19	70,1	66,9	38,0	97,4	60,3	84,5	14,9	3,4
S - chłopcy	13	66,4	69,6	30,3	92,0	58,0	73,5	17,3	4,8
Grupa porów. - ogółem	37	85,3	86,8	52,6	128,4	74,0	94,9	19,6	3,2
Grupa porów. - dziewczęta	19	82,1	86,8	52,6	122,1	73,9	90,3	17,4	4,0
Grupa porów. - chłopcy	18	88,6	87,7	56,1	128,4	74,0	99,5	21,6	5,1

Tabela A2. Aktywność peroksydazy glutationowej [U/L] w osoczu dzieci (JL - populacja z Janowa Lubelskiego, R - populacja z Rudnika, ND - populacja z Nowej Dęby, S - populacja z Sandomierza).

Badana grupa	Liczba dzieci	Średnia arytmetyczna	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny kwartył	Górny kwartył	Odchylenie standardowe	Błąd standardowy średniej
Badana populacja - ogółem	135	111,0	110,9	49,4	207,8	91,0	129,8	27,6	2,4
Dziewczęta - ogółem	89	108,1	110,9	49,4	175,2	91,0	124,8	25,7	2,7
Chłopcy - ogółem	46	116,8	109,9	67,9	207,8	92,1	133,2	30,4	4,5
JL - ogółem	38	105,9	101,0	49,4	207,8	84,8	124,8	30,7	5,0
JL - dziewczęta	27	99,1	99,2	49,4	135,1	82,0	118,3	24,2	4,7
JL - chłopcy	11	122,6	115,7	84,3	207,8	88,2	136,1	39,2	11,8
R - ogółem	28	122,2	113,3	64,0	175,2	106,2	138,9	26,9	5,1
R - dziewczęta	15	122,8	121,7	64,0	175,2	106,0	134,9	27,7	7,2
R - chłopcy	13	121,6	111,0	84,0	173,7	106,8	146,7	27,0	7,5
ND - ogółem	37	110,5	112,7	60,3	155,5	89,8	133,2	24,0	4,0
ND - dziewczęta	28	111,3	112,8	60,3	145,7	91,9	130,0	22,5	4,3
ND - chłopcy	9	107,9	106,6	67,9	155,5	88,1	133,2	29,7	9,9
S - ogółem	32	108,0	106,3	67,4	170,7	84,2	125,5	26,5	4,7
S - dziewczęta	19	104,4	106,0	67,4	153,5	82,1	120,7	26,1	6,0
S - chłopcy	13	113,2	106,4	77,7	170,7	92,1	129,1	27,2	7,6
Grupa porów. - ogółem	38	182,4	176,8	115,8	283,0	165,1	190,8	35,6	5,8
Grupa porów. - dziewczęta	19	181,2	176,8	115,8	283,0	165,1	183,3	37,9	8,7
Grupa porów. - chłopcy	19	183,6	177,7	131,8	250,8	160,8	215,4	34,2	7,8

Tabela A3. Stężenie wolnej tyroksyny [pmol/L] w osoczu dzieci (JL - populacja z Janowa Lubelskiego, R - populacja z Rudnika, ND - populacja z Nowej Dęby, S - populacja z Sandomierza).

Badana grupa	Liczba dzieci	Średnia arytmetyczna	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny kwartył	Górný kwartył	Odchylenie standardowe	Błąd standardowy średniej
Badana populacja - ogółem	135	14,9	14,9	1,2	24,4	13,3	17,0	3,0	0,3
Dziewczęta - ogółem	89	15,0	14,9	7,6	24,4	13,3	16,9	2,8	0,3
Chłopcy - ogółem	46	14,7	14,8	1,2	20,3	13,0	17,3	3,4	0,5
JL - ogółem	38	15,2	15,5	1,2	24,4	13,3	17,0	3,8	0,6
JL - dziewczęta	27	15,4	15,4	7,6	24,4	13,3	16,9	3,1	0,6
JL - chłopcy	11	14,7	16,8	1,22	19,9	12,3	18,0	5,2	1,6
R - ogółem	28	16,5	17,1	9,2	22,1	14,7	18,2	2,6	0,5
R - dziewczęta	15	16,4	16,7	9,2	22,1	14,6	18,3	3,0	0,8
R - chłopcy	13	16,7	17,3	12,8	20,3	14,9	18,0	2,2	0,6
ND - ogółem	37	14,4	14,6	6,8	19,1	13,1	15,6	2,5	0,4
ND - dziewczęta	28	14,8	15,0	10,2	19,1	13,2	16,2	2,3	0,4
ND - chłopcy	9	13,1	13,3	6,8	17,6	13,0	13,8	2,8	0,9
S - ogółem	32	13,7	13,9	8,7	18,8	11,3	15,1	2,4	0,4
S - dziewczęta	19	13,6	13,9	8,7	17,6	11,0	15,2	2,5	0,6
S - chłopcy	13	13,8	13,7	10,7	18,8	12,6	14,9	2,2	0,6
Grupa porów. - ogółem	37	15,6	14,9	8,5	20,6	14,0	16,8	2,9	0,6
Grupa porów. - dziewczęta	19	14,8	14,9	8,5	20,4	12,7	17,5	3,3	0,8
Grupa porów. - chłopcy	18	15,0	14,7	7,9	20,6	14,2	15,8	3,0	0,7

Tabela A4. Stężenie TSH [mU/L] w osoczu dzieci (JL - populacja z Janowa Lubelskiego, R - populacja z Rudnika, ND - populacja z Nowej Dęby, S - populacja z Sandomierza).

Badana grupa	Liczba dzieci	Średnia arytmetyczna	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny kwartył	Górný kwartył	Odczylenie standardowe	Błąd standardowy średniej
Badana populacja - ogółem	134	1,57	1,41	0,17	6,01	1,01	2,01	0,91	0,08
Dziewczęta - ogółem	89	1,56	1,30	0,17	6,01	0,99	1,90	0,99	0,10
Chłopcy - ogółem	45	1,60	1,53	0,30	3,41	1,08	2,26	0,74	0,11
JL - ogółem	37	1,99	1,90	0,17	4,74	1,26	2,60	1,34	0,17
JL - dziewczęta	27	1,95	1,82	0,17	4,74	0,99	2,73	1,17	0,22
JL - chłopcy	10	2,11	2,08	1,22	3,41	1,53	2,34	0,66	0,21
R - ogółem	28	1,58	1,43	0,42	2,78	1,12	2,06	0,70	0,13
R - dziewczęta	15	1,38	1,31	0,42	2,75	0,93	1,82	0,58	0,15
R - chłopcy	13	1,82	1,62	0,50	2,78	1,38	2,59	0,77	0,21
ND - ogółem	37	1,29	1,16	0,30	3,03	0,78	1,50	0,67	0,11
ND - dziewczęta	28	1,37	1,21	0,30	3,03	0,91	1,68	0,68	0,13
ND - chłopcy	9	1,00	0,76	0,30	2,29	0,71	1,18	0,57	0,19
S - ogółem	32	1,40	1,40	0,27	6,01	1,01	1,65	0,99	0,18
S - dziewczęta	19	1,40	1,19	0,27	6,01	0,84	1,64	1,22	0,28
S - chłopcy	13	1,41	1,52	0,43	2,57	1,08	1,65	0,55	0,15
Grupa porów. - ogółem	37	1,99	1,45	0,26	4,86	1,22	2,51	1,17	0,19
Grupa porów. - dziewczęta	19	2,41	2,18	0,92	4,86	1,38	3,29	1,20	0,28
Grupa porów. - chłopcy	18	1,54	1,30	0,26	4,70	1,07	2,02	0,98	0,23

Tabela A5. Stężenie jodu [$\mu\text{mol/L}$] w moczu dzieci (JL - populacja z Janowa Lubelskiego, R - populacja z Rudnika, ND - populacja z Nowej Dęby, S - populacja z Sandomierza).

Badana grupa	Liczba dzieci	Średnia arytmetyczna	Mediana	Minimum	Maksimum	Dolny kwartyl	Górný kwartyl	Odczylenie standardowe	Błąd standardowy średniej
Badana populacja - ogółem	136	0,60	0,48	0,08	2,87	0,33	0,81	0,43	0,04
Dziewczęta - ogółem	90	0,58	0,48	0,08	2,87	0,30	0,81	0,46	0,05
Chłopcy - ogółem	46	0,63	0,51	0,11	1,91	0,40	0,79	0,39	0,06
JL - ogółem	38	0,46	0,42	0,08	1,00	0,28	0,60	0,24	0,04
JL - dziewczęta	27	0,45	0,33	0,08	1,00	0,26	0,60	0,27	0,05
JL - chłopcy	11	0,47	0,47	0,11	0,71	0,41	0,60	0,17	0,05
R - ogółem	29	0,84	0,71	0,09	2,87	0,42	1,12	0,63	0,12
R - dziewczęta	16	0,84	0,68	0,09	2,87	0,34	1,14	0,72	0,18
R - chłopcy	13	0,84	0,71	0,32	1,91	0,45	1,02	0,51	0,14
ND - ogółem	37	0,65	0,48	0,10	1,89	0,39	0,90	0,43	0,07
ND - dziewczęta	28	0,64	0,48	0,10	1,89	0,38	0,86	0,45	0,09
ND - chłopcy	9	0,70	0,49	0,34	1,42	0,41	0,90	0,38	0,13
S - ogółem	32	0,50	0,47	0,10	1,16	0,23	0,73	0,31	0,05
S - dziewczęta	19	0,49	0,49	0,10	1,16	0,18	0,68	0,32	0,07
S - chłopcy	13	0,51	0,43	0,12	1,01	0,26	0,78	0,30	0,08
Grupa porów. - ogółem	17	0,92	0,83	0,28	1,84	0,58	1,29	0,48	0,12
Grupa porów. - dziewczęta	9	0,98	0,96	0,48	1,59	0,80	1,15	0,37	0,12
Grupa porów. - chłopcy	8	0,86	0,61	0,28	1,84	0,39	1,38	0,59	0,21

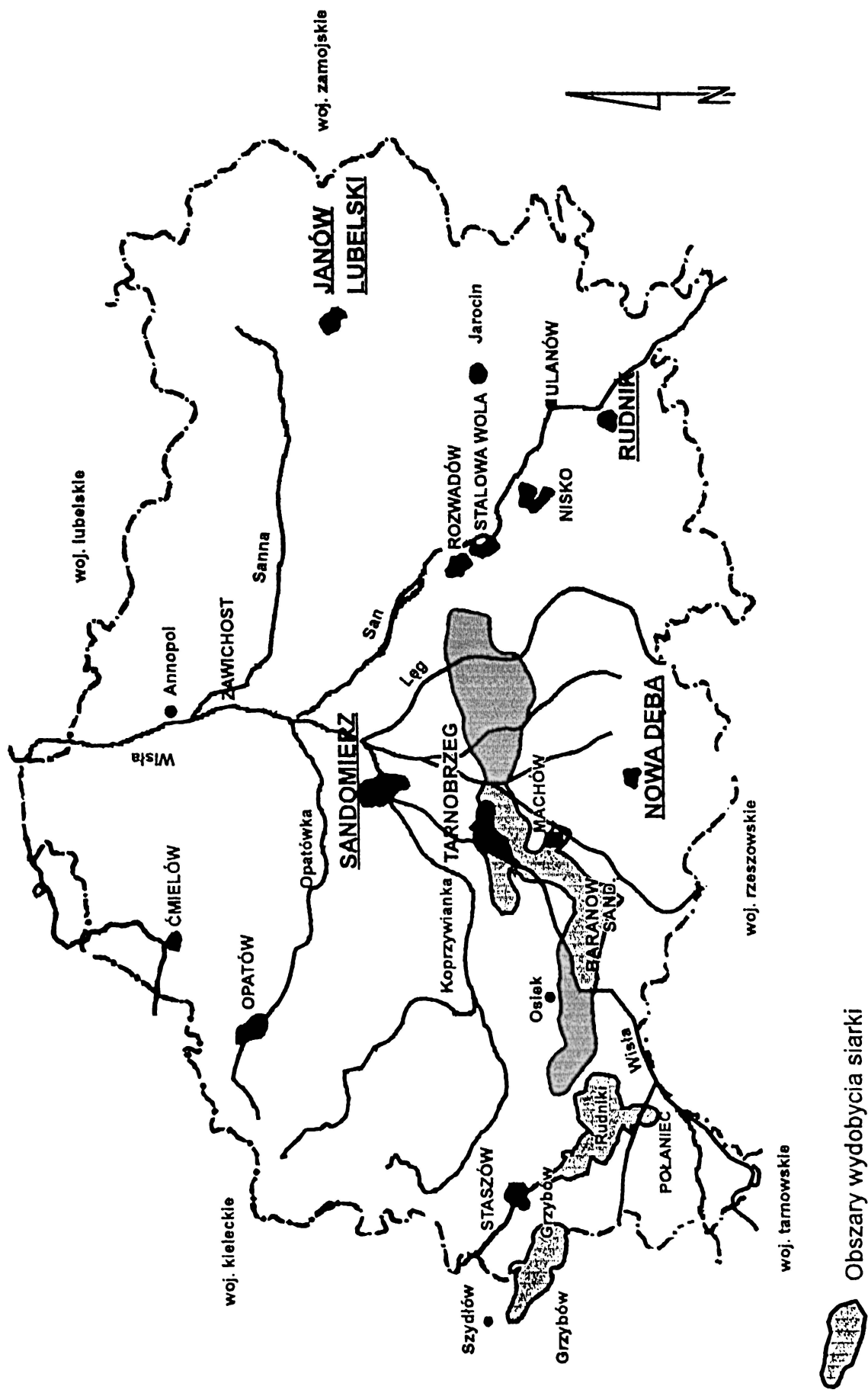
Tabela A6. Wartości współczynnika korelacji Pearsona (r) lub Spearmana (r_s) między analizowanymi parametrami w grupie badanej. Poziomy istotności: ^{a)} $p < 0,001$, ^{b)} $p < 0,01$, ^{c)} $p < 0,05$.

	Se	pIGSHPx	ft4	TSH	IU	TV	TVD	TVGO	TVGU
Se									
pIGSHPx		0,282 ^{pa}	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
ft4			NS	NS	NS	-0,261 ^{pb}	-0,234 ^{sb}	-0,234 ^{sb}	-0,234 ^{sb}
TSH				NS	NS	-0,330 ^{sa}	-0,299 ^{pa}	-0,356 ^{sa}	-0,253 ^{sb}
IU					NS	NS	-0,211 ^{sc}	NS	-0,233 ^{sb}
						NS	NS	NS	NS

Znaczenie symboli: TVD, TVGO, TVGU - całkowita objętość tarczycy odniesiona do górnych zakresów normy objętości tarczycy w ocenie USG wg.: Delange'a (1996), Gołkowskiego i wsp. (1993) lub wg. Gutekunst (1991).

Tabela A7. Wartości współczynnika korelacji Spearmana między analizowanymi parametrami w grupie porównawczej. Dla podanych współczynników poziom istotności $p < 0,05$.

	Se	pIGSHPx	ft4	TSH	IU
Se					
pIGSHPx		NS	NS	-0,385	-0,549
ft4			NS	NS	NS
TSH				NS	NS



Mapa 1. Lokalizacja obszaru badawczego (na podstawie: Dziewański i wsp., 1988)