

WOJCIECH DEJNEKA¹, KRZYSZTOF SWORCZAK², LUKASZ OBOŁOŃCZAK²,
JERZY LUKASIAK¹, KATARZYNA CZARNOBAJ¹

STĘŻENIE SELENU W SUROWICY KRWI U KOBIET ZE SCHORZENIAMI TARCZYCY

SELENIUM CONCENTRATION IN SERUM OF WOMEN WITH THYROID GLAND DISEASE

¹Katedra i Zakład Chemii Fizycznej z Pracownią Analizy Instrumentalnej
Wydział Farmaceutyczny Akademii Medycznej w Gdańsku
80-416 Gdańsk, Al. J. Hallera 107

Kierownik Katedry: prof. dr hab. *J. Lukasiak*

²Klinika Chorób Wewnętrznych Endokrynologii i Zaburzeń Homeostazy
Akademia Medyczna w Gdańsku
80-211 Gdańsk, ul. Dębinki 7

W pracy podjęto próbę oceny całkowitej zawartości selenu w surowicy krwi u kobiet z schorzeniami tarczycy. Zawartość selenu oznaczano metodą atomowej spektroskopii absorpcyjnej techniką generowania wodorków (HG-ASA).

Selen jest mikroelementem, który wzbudza ogromne zainteresowanie ze względu na swoje właściwości. Badania zapoczątkowane i kontynuowane w XX wieku zwróciły uwagę na korzystne działanie tego pierwiastka na organizm ludzki. Selen jest składnikiem selenoprotein, białek niezbędnych do normalnego funkcjonowania organizmu człowieka. Należą do nich peroksydaza glutationowa, dejodynaza tyroksyny, selenometionina, selenocysteina, selenobiałka P i inne selenobiałka. Selen pełni również ważną rolę w metabolizmie hormonów tarczycy [3, 4, 6, 7, 8].

Zawartość selenu w organizmie człowieka waha się w granicach od 10 do 15 mg. Zależy to od regionalnego stężenia tego pierwiastka w glebach, żywności i wodzie do picia. W krajach Europy, która należy do terenów ubogich w ten pierwiastek, zawartość selenu w surowicy krwi mieści się w granicach od 30 µg/l do 140 µg/l [9].

Hormony tarczycy warunkują prawidłowy rozwój i funkcjonowanie organizmu ludzkiego we wszystkich okresach życia człowieka, a szczególną rolę odgrywają w okresie życia płodowego. Od odpowiedniego stężenia hormonów tarczycy zależy wiele ważnych procesów życiowych, takich jak: prawidłowy rozwój i czynność mózgu oraz obwodowego układu nerwowego, przemiany energetyczne i produkcja ciepła, rozwój oraz dojrzewanie układu kostnego, gospodarka wapniowo-fosforanowa, metabolizm białek, tłuszczów i węglowodanów, bilans wodny a także regulacja siły mięśniowej.

Znane są trzy typy dejodynaz: dejodynaza I (DI), dejodynaza II (DII) i dejodynaza III (DIII). Dejodynaza typu I (5'-monodejodynaza – DI) jest selenoproteina, w której selen występuje w postaci selenocysteiny. Z obecności selenocysteiny w centrum aktywnym dejodynazy jodotyronin i peroksydaz glutationowych wynika podstawowe znaczenie selenu w działaniu hormonów tarczycy. Deficyty selenu zmieniają ich metabolizm poprzez hamowanie syntezy i aktywności DI.

DI występuje w mikrosomach wątroby, nerek, tarczycy, przysadki mózgowej a także w łożysku, gruczole mlecznym, sercu, mięśniach szkieletowych, płucach, trzustce, śledzionie, jelicie i skórze. Enzym ten katalizuje reakcje odjodowania. DI jest głównym enzymem warunkującym obwodową konwersję tyroksyny (T_4) do trijodotyroniny (T_3). Substratem dla DI może być także rT_3 („odwrócona” trijodotyronina).

W badaniach *in vivo* oraz *in vitro* wykazano, że aktywność DI jest regulowana przez poziom selenu. W warunkach niedoboru selenu, pierwiastek ten jest preferencyjnie dostarczany do dejodynazy typu I. Obserwuje się różnice tkankowe w utrzymaniu poziomu selenu przy jego niedoborze. Ośrodkowy układ nerwowy i gruczoły wydzielania wewnętrznego są wolniej pozbawiane selenu. Podczas ostrego niedoboru selenu aktywność DI w wątrobie i nerkach szybko się obniża, podczas gdy w tarczycy i ośrodkowym układzie nerwowym pozostaje bez zmian.

Dejodynaza typu II (5'-monodejodynaza – DII) występuje głównie w mózgu, przednim płacie przysadki mózgowej, brunatnej tkance tłuszczowej i w łożysku. Katalizuje również reakcje odjodowania, a w wyniku reakcji z T_4 , powstaje T_3 . Przy niedoborze selenu występują zmiany w stężeniu hormonów tarczycy, wywołane obniżeniem syntezy T_3 przez DII w przysadce mózgowej. Uszkodzenie produkcji T_3 w przysadce mózgowej u osobników z niedoborem selenu prawdopodobnie powoduje wzrost osoczowego stężenia tyreotropiny (TSH). Sprzężenie zwrotne hamowania TSH przysadki poprzez T_4 zależy od przemiany T_4 do T_3 wewnątrz tego gruczołu. W niedoborze selenu znacznie obniżona jest również aktywność DII w brunatnej tkance tłuszczowej.

Dejodynaza typu III (5-monodejodaza – DIII) katalizuje reakcję odjodowania T_4 do rT_3 oraz T_3 do 3,3'-dijodotyroniny (T_2) w wewnętrznym pierścieniu (tyrozolowym). Enzym ten może spełniać rolę ochronną przed nadmiarem T_3 . Właściwości tego enzymu zostały do tej pory stosunkowo mało poznane. W cząsteczce enzymu nie stwierdzono obecności selenocysteiny, uważa się więc, że DIII nie jest selenoproteina [10].

W niedoborze selenu oprócz obniżonej aktywności DI obniżona jest również aktywność DIII, wyraźne 15-20% obniżenie całkowitej zawartości jodu oraz T_4 i T_3 a także około 50% obniżenie aktywności peroksydazy glutationowej. W niedoborze selenu następuje obniżenie w gruczole tarczycy aktywności lub ekspresji selenoproteiny – peroksydazy glutationowej, która w warunkach prawidłowych usuwa nadmiar nadtlenu wodoru. W stanach niedoboru selenu stężenia całkowitej T_4 jak i wolnej (niezwiązanej) T_4 w osoczu podwyższają się, natomiast stężenie T_3 maleje. W warunkach prawidłowych wzrost stężenia wolnej T_4 w osoczu powoduje obniżenie stężenia TSH na skutek ujemnego sprzężenia zwrotnego [5].

Zmiany w metabolizmie hormonów tarczycy na skutek niedoborów selenu są najbardziej krytyczne dla takich tkanek jak: mózg, przysadka i brunatna tkanka tłuszczowa, które nie korzystają z T_3 w układzie krążenia, lecz same ją syntetyzują. Deficyt selenu wywołuje obniżenie zawartości jodu, T_3 i T_4 w gruczole tarczycowym szczurów, które to zmiany wy-

stępują nawet przy właściwej podaży jodu w diecie. Zmiany te są podobne do występujących w niedoborach jodu. Podobieństwo tych efektów sugeruje występowanie mechanizmu, w którym niedobory selenu wzmagają synergistycznie efekty niedoboru jodu. Stwierdzono, że łączne niedobory selenu i jodu powodują większy wzrost masy tarczycy i stężenia TSH w osoczu niż pojedyncze niedobory selenu lub jodu. Podobne zjawisko synergizmu obserwowano w brunatnej tkance tłuszczowej, gdzie łączne niedobory selenu i jodu powodują znaczne rozprzężenie mitochondrialnego transportu elektronów. Natomiast przy pojedynczym niedoborze selenu lub jodu, nie występowały zaburzenia w transporcie elektronów. Wynika z tego, że konkurencyjne niedobory selenu są ważnymi determinantami stopnia niedoborów jodu. Niedobór selenu może w sposób szczególny wpływać na funkcję metaboliczną DI , która uczestniczy zarówno w syntezie jak i w katabolizmie T_3 [10].

Celem pracy była próba oceny wpływu chorób gruczołu tarczycowego na całkowitą zawartość selenu w surowicy krwi chorych kobiet.

MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły surowice krwi kobiet, u których stwierdzono różne schorzenia tarczycy oraz surowice krwi zdrowych kobiet stanowiących grupę kontrolną. Próbkę pochodziły z województwa pomorskiego. Badaniem objęto łącznie 42 kobiety, w tym 30 pacjentek leczonych w Klinice Chorób Wewnętrznych Endokrynologii i Zaburzeń Homeostazy Akademii Medycznej w Gdańsku. Grupa kontrolna liczyła 12 kobiet w wieku od 24 do 52 lat, a grupa chorych to 30 pacjentek w wieku od 24 do 67 lat. W grupie chorych u 8 wykryto wole obojętne, u 10 nadczynność tarczycy, u 6 jej niedoczynność, natomiast 6 pacjentek nie przypisano do żadnej z trzech wyżej wymienionych grup.

Badane próbki surowicy krwi mineralizowano na mokro w systemie zamkniętym *Digesdahl* stosując na 1 ml odwirowanej surowicy 2 ml stężonego kwasu azotowego, 1 ml stężonego kwasu nadchlorowego i 1 ml stężonego kwasu solnego. Selen oznaczono metodą atomowej spektroskopii absorpcyjnej techniką generowania wodoroków (HG-ASA). Badania prowadzono przy użyciu spektrofotometru AAS Solar 929 firmy Pye Unicam w połączeniu z przystawką do generowania wodoroków firmy Perkin Elmer MHS-10.

Pomiary wykonano przy następujących parametrach aparaturowych: długość fali $\lambda = 197,6$ nm, prąd lampy 10 mA, przepływ acetyleny 1,0 MPa, przepływ powietrza 2,5 MPa, przepływ argonu 2,0 MPa, wysokość analityczna palnika 35 mm, czas integracji 1s, szczelina 0,5 nm, liczba powtórzeń $n=10$ [2].

Stężenie selenu w analizowanych próbkach obliczono na podstawie równania regresji wyznaczonego z pomiarów absorpcji roztworów wzorcowych. Krzywa kalibracji w badanym zakresie stężeń miała postać linii prostej o równaniu regresji $y = 0,0278x + 0,1174$ przy $R^2 = 0,9993$.

W celu sprawdzenia procesu mineralizacji i pomiaru zastosowano materiał referencyjny *Seromnorm*TM Trace Elements Serum firmy Nycomed o zawartości seleny 80 $\mu\text{g/l}$. Przeprowadzono 6 równoległych oznaczeń materiału referencyjnego. Średni odzysk z przeprowadzonych oznaczeń wyniósł $96,76\% \pm 0,35\%$.

OMÓWIENIE WYNIKÓW I WNIOSKI

Całkowitą zawartość seleny w surowicy krwi pacjentek z zaburzeniami czynności gruczołu tarczycowego, a także surowicy kobiet zdrowych, stanowiących grupę kontrolną, oznaczono metodą HG-ASA. Oznaczone średnie zawartości seleny w surowicy krwi w poszczególnych grupach przebadanych kobiet przedstawiono w tabeli I.

Tabela I. Średnie stężenie selenu w surowicy krwi u badanych kobiet
Average selenium concentration in serum

Lp.	Rozpoznanie	Liczebność próby [n]	Średnia ± odchylenie standardowe [µg/ml]	ΔSe [µg/ml]
	Kontrola	16	0,0693 ± 0,0453	—
1	Wole obojętne	8	0,0529 ± 0,0237	0,0164
2	Nadczynność	10	0,0441 ± 0,0229	0,0252
3	Niedoczynność	6	0,0521 ± 0,0243	0,0172
4	Brak rozpoznania*	6	0,0651 ± 0,0206	0,0042

* – pacjentki zdiagnozowane, lecz nie przypisane do żadnej z trzech grup chorobowych

Porównano statystycznie całkowitą zawartość selenu w surowicy między grupą kontrolną a grupami chorych kobiet. W tym celu zastosowano, poprzedzony testem *F Snedecora*, test *t-Studenta* porównujący średnie zawartości selenu z poszczególnych grup chorych. Różnica pomiędzy średnią zawartością selenu w surowicy krwi grupy kontrolnej a średnią zawartością selenu w grupie pacjentek zakwalifikowanych do pierwszej grupy – wole obojętne, wynosiła 0,0164 µg/ml przy poziomie istotności $p = 0,13$. Dla drugiej grupy – nadczynność tarczycy, różnica wynosiła 0,0252 µg/ml przy $p = 0,03$. Przy niedoczynności tarczycy różnica zawartości selenu w surowicy wynosiła 0,0172 µg/ml krwi dla $p = 0,13$. Różnica w czwartej grupie wynosiła tylko 0,0042 µg/ml przy prawdopodobieństwie granicznym $p = 0,38$.

Przedstawione w pracy wyniki, ze względu na niewielką liczebność próby, mają charakter wstępnych szacunków i stanowią próbę oceny wpływu chorób gruczołu tarczycowego na całkowitą zawartość selenu w surowicy krwi pacjentek.

WNIOSEK

Uzyskane w niniejszej pracy wyniki sugerują, że zarówno nadczynność jak też niedoczynność tarczycy obniża poziom selenu całkowitego w surowicy krwi w stosunku do zawartości całkowitego selenu w surowicy krwi grupy kontrolnej. Uzyskane wyniki wstępnych badań wymagają jednak potwierdzenia na znacznie liczniejszej grupie pacjentów.

W. Dejneka, K. Sworczak, Ł. Obołończak, J. Łukasiak, K. Czarnobaj

SELENIUM CONCENTRATION IN SERUM OF WOMEN WITH THYROID GLAND DISEASE

Summary

The aim of this study was to estimate the concentration of total selenium in serum women with thyroid gland disease. Selenium was determined by atomic absorption spectrometry using the hydride generation technique (HG-AAS). Selenium was determined in 30 patients with thyroid gland

disease and in 12 healthy controls. Selenium concentration of serum was variously in patients than in control group and patients with different thyroid gland disease. The average concentration of selenium in control group was 0.0694 µg/ml, in goiter group 0.0529 µg/ml, in hyperactivity group 0.0441 µg/ml, in hypofunction group 0.0520 µg/ml.g/ml.

PIŚMIENNICTWO

1. *Bratakos M.S., Ioannou P.V.*: Selenium in human milk and dietary selenium intake by Greeks. *Sci. Total Environ.*, 1991, 105, 101-7.
2. *Dejneka W., Dorosz A.*: Poziom selenu w surowicy u osób z chorobą alkoholowa, *Bromat. Chem. Toksykol.* 2003, XXXVI, 103-109.
3. *Chanoine J.P., Veronikis I., Alex S., Stone S., Fang S.L., Leonard J.L., Braverman L.E.*: The postnatal serum 3,5,3'-triiodothyronine (T3) surge in the rat is largely independent of extrathyroidal 5'-deiodination of thyroxine to T3. *Endocrinology*, 1993, 133, 2604-9.
4. *Contempre B., Dumont J.E., Ngo B., Thilly C.H., Doplock A.T., Vanderpas J.*: Effect of selenium supplementation in hypothyroid subjects of an iodine and selenium deficient area: the possible danger of indiscriminate supplementation of iodine-deficient subjects with selenium. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 1991, 73, 213-215
5. *Jendryczko A., Pardela M.*: Rola selenu – mikroelementu ważnego w metabolizmie i działaniu hormonów tarczycy, *Wiad. Lek.*, 1994, 47, 11/12, 435-8.
6. *Meinhold H., Campos-Barros A., Walzog B., Kohler R., Muller F., Behne D.*: 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.*, 1993, 101, 87-93 .
7. *Piccinini L., Borella P., Bargellini A., Medici C.I., Zoboli A.*: A case-control study on selenium, zinc, and copper in plasma and hair of subjects affected by breast and lung cancer. *Biol. Trace Elem. Res.*, 1996, 51, 23-30.
8. *Roti R., Minelli R., Gardini E., Bianconi L., Ronch A., Gatti A., Minoia C.*: Selenium administration does not cause thyroid insufficiency in subjects with mild iodine deficiency and sufficient selenium intake. *J. Endocrinol. Invest.*, 1993, 16, 481-484.
9. *Michalke B., Schramel P.*: Selenium speciation by interfacing capillary electrophoresis with inductively coupled plasma-mass spectrometry. [Journal Article] *Electrophoresis*.1998, 19 (2), 270-275.
10. *Pikorska D., Grabowska-Bochenek R.*: Rola selenu w metabolizmie hormonów tarczycy. *Przeгляд Lek.*, 1995, 52, 2, 63-65.

Otrzymano: 2004.02.06