

Aus der Medizinischen Klinik Innenstadt der  
Ludwig-Maximilians-Universität München  
Kommissarischer Direktor: Prof. Dr. med. D. Schlöndorff

**Einfluß einer Selen-Substitution  
auf den Verlauf einer Autoimmunthyreoiditis**

**Eine prospektiv-randomisierte klinische Studie**

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Barbara Carla Helene Gasnier  
aus  
Kronach

2002

Mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. R. Gärtner
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. G. K. Stalla Prof. Dr. O.-A. Müller
Mitbetreuung durch den promovierten Mitarbeiter:	Prof. Dr. R. Gärtner
Dekan:	Prof. Dr. med. Dr. h. c. K. Peter
Tag der mündlichen Prüfung:	05.12.2002

Publikation dieser Arbeit in:

Roland Gärtner, Barbara C.H. Gasnier, Johannes W. Diertich, Bjarne Krebs and Matthias W.A. Angstwurm: **Selenium Supplementation in Patients with Autoimmune Thyroiditis Decreases Thyroid Peroxidas Antibodies Concentrations.**

**J Clin Endocrinol Metab 87(4):1687-1691, 2002**

Auszüge der Arbeit wurden 2001 als Poster vorgestellt auf dem

- **83th Annual Meeting of the Endocrine Society in Denver, Colorado, USA**
- **27th Annual Meeting of the European Thyroid Association in Warschau**

sowie als Vortrag und Poster auf dem

- **24<sup>th</sup> ESPEN Congress 2002 der European Society of Parenteral and Enteral Nutrition in Glasgow, Schottland.**

Meinen Eltern in Liebe und Dankbarkeit gewidmet

## Inhaltsverzeichnis

<b>AUS DER MEDIZINISCHEN KLINIK</b>	<b>1</b>
<b>1. EINLEITUNG</b>	<b>11</b>
<b>1.1 Die Bedeutung von Selen im Überblick</b>	<b>11</b>
<b>2. GRUNDLAGEN</b>	<b>15</b>
<b>2.1 Selen</b>	<b>15</b>
2.1.1 Chemische Eigenschaften	15
2.1.2 Verwendung in der Technik	16
2.1.3 Selen in der Nahrungskette	17
2.1.4 Selen in der Tierernährung	20
2.1.5 Aufnahme und Bioverfügbarkeit	22
2.1.6 Selenausscheidung	23
2.1.7 Selenmangel im Zusammenhang mit KHK und Karzinogenese	24
2.1.8 Selentoxizität und therapeutische Dosen	27
<b>2.2 Selenoproteine</b>	<b>28</b>
2.2.1 Glutathionperoxidasen (GPx), Redox-Gleichgewicht und oxidativer Streß	29
2.2.2 Selenoprotein P	34
2.2.3 Thioredoxin-Reduktasen (TxR)	34
2.2.4 Deiodasen	35
<b>2.3 Autoimmunthyreoiditis (AIT)</b>	<b>37</b>
<b>2.4 Selenmangel und Thyreoiditis</b>	<b>41</b>
<b>2.5 Zielsetzung</b>	<b>42</b>
<b>3. MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>43</b>
<b>3.1 Studiendesign</b>	<b>43</b>
3.1.1 Einschluß- und Ausschlußkriterien	43
3.1.2 Stratifizierung	44
3.1.3 Behandlung	44
3.1.4 Apparative Diagnostik	45
3.1.5 Fragebogen SF 12	45
<b>3.2 Laborparameter</b>	<b>46</b>
3.2.1 Schilddrüsen-Autoantikörper	46
3.2.2 Selenbestimmung	47
3.2.3 Schilddrüsenparameter	48
<b>3.3 Statistik</b>	<b>49</b>

<b>4.</b>	<b>ERGEBNISTEIL</b>	<b>50</b>
<b>4.1</b>	<b>Charakteristika der Patientinnen zu Beginn der Studie</b>	<b>50</b>
4.1.1	Allg. Charakteristika und Auswahlkriterien der Patientinnen	50
4.1.2	Klinische Parameter und Laborwerte	50
4.1.2.1	Autoantikörper	51
4.1.2.2	Selen	51
4.1.2.3	Schilddrüsenparameter	51
4.1.3	Technische Untersuchungen	52
4.1.3.1	Ultraschall	52
<b>4.2</b>	<b>Verlauf der Parameter</b>	<b>53</b>
4.2.1	Selen	53
4.2.2	Autoantikörper	54
4.2.2.1	Thyreozytenperoxidase-Antikörper (TPO-AK)	54
4.2.2.2	Thyreoglobulin-Antikörper (TGAK)	56
4.2.2.3	Komplette Normalisierung von TPO-AK und TGAK	58
4.2.3	Schilddrüsenparameter	58
4.2.4	Ultraschall- und Dopplersonographieergebnis	59
4.2.5	Auswertung des SF 12-Fragebogens	59
<b>4.3</b>	<b>Nebenwirkungen</b>	<b>61</b>
<b>4.4</b>	<b>Zusammenfassung der Ergebnisse</b>	<b>62</b>
<b>5.</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>63</b>
<b>5.1</b>	<b>Therapeutische Wirkungen von Selen</b>	<b>63</b>
<b>5.2</b>	<b>Immunmodulatorische Wirkung von Selen</b>	<b>64</b>
<b>5.3</b>	<b>Auswirkungen von Selen auf den Arachidonsäuremetabolismus</b>	<b>66</b>
<b>5.4</b>	<b>Verlauf der Autoantikörperkonzentration unter Selentherapie</b>	<b>67</b>
<b>5.5</b>	<b>Hierarchie der Selenoenzyme in der Selenverteilung</b>	<b>70</b>
5.5.1	GPx-Schwellenwert der Plasma-Selen-Konzentration	70
5.5.2	Deiodasenaktivität ist erst im starken Selenmangel beeinträchtigt	71
<b>5.6</b>	<b>Besserung der subjektiven Befindlichkeit</b>	<b>72</b>
<b>5.7</b>	<b>Selen im Kontext klinischer Studien immunologischer Erkrankungen</b>	<b>73</b>
<b>6.</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK</b>	<b>78</b>
<b>7.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>80</b>
<b>8.</b>	<b>DANKSAGUNG</b>	<b>93</b>
<b>9.</b>	<b>LEBENS LAUF</b>	<b>94</b>

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Darstellung der durch die Glutathionperoxidase vermittelten chemischen Reaktion zur Neutralisierung von Sauerstoffradikalen	30
Abbildung 2:	Regeneration von GSSG mit Hilfe der NADPH+ H <sup>+</sup> -abhängigen Glutathion-Reduktase	31
Abbildung 3:	Entstehung von Sauerstoffradikalen bei der Energiegewinnung im Mitochondrium	32
Abbildung 4:	Abbauwege der Schilddrüsenhormone	36
Abbildung 5:	Ultraschall der Schilddrüse	52
Abbildung 6:	Serum-Selen-Spiegel	54
Abbildung 7:	TPO-AK-Spiegel	55
Abbildung 8:	TPO-AK-Differenz	56
Abbildung 9:	Mittlere TPO-AK- und TGAK-Konzentration vor und nach Therapie	57
Abbildung 10:	SF 12 Lebensqualität	59
Abbildung 11:	Selenspiegel nach Therapie und Befinden	60
Abbildung 12:	TPO-AK-Differenz und Befinden	60
Abbildung 13:	Entzündungsreaktion in Abhängigkeit von der Selenversorgung	65
Abbildung 14:	Entzündungsmodulierender Effekt von Selenoenzymen	66

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Oxidationsstadien von Selen	16
Tabelle 2: Tägliche Selenaufnahme in Japan, China und den USA	19
Tabelle 3: Selenaufnahme pro Tag in Europa	20
Tabelle 4: Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und Aufnahme in die Studie	50
Tabelle 5: Medianwerte der Schilddrüsenparameter zu Studieneinschluß	52
Tabelle 6: Serum-Selen-Gehalt zu Studienbeginn und -ende im Vergleich	53
Tabelle 7: Serum-Selen-Konzentration	54
Tabelle 8: TPO-AK- und TGAK-Verläufe	57
Tabelle 9: Verlauf der Schilddrüsenparameter im Durchschnitt	58



## Abkürzungsverzeichnis

AIT	Autoimmunthyreoiditis
ARDS	Adulte respiratory distress syndrom
ACS	Acridiniumester-markiertes Schilddrüsenhormon
bTSH	Basales TSH
cGPx	Cytosolische Glutathionperoxidase
CTLA-4	Cytotoxic T-lymphocyte antigen
DKO	Double-knock-out
FT <sub>3</sub>	Freies Triiodthyronin
FT <sub>4</sub>	Freies Thyroxin
GPx	Glutathionperoxidase
GSH	Reduziertes Glutathion
GSSG	Oxydiertes Glutathion
GSR	Glutathionreduktase
HCC	Hepatozelluläres Karzinom
HDL	High density lipoprotein
HLA	Human leucocyte antigen
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule-1
IgG	Immunglobulin G
iGPx	Intestinale Glutathionperoxidase
IFN	Interferon
IL	Interleukin
LFA-1	Lymphocyte functional antigen
LDL	Low density lipoprotein
MHC	Major Histo compatibility
NADP	Nikotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat (oxidierte Form)
NADPH + H <sup>+</sup>	Nikotinamid-Adenin-Dinucleotid-Phosphat (reduzierte Form)
NF-κB	Nuclear Faktor κB
NO	Stickoxid

O <sup>•</sup>	Sauerstoffradikale
PdCl <sub>2</sub>	Palladiumchlorid
Redox	Reduktion-Oxidation
ROOH	Peroxid-Radikal
rT <sub>3</sub>	Reverses Triiodthyronin
Se-	Kontrollgruppe (nicht mit Selen substituiert)
Se+	Verumgruppe (mit Selen substituiert)
SF 12	Standartisierter-Fragebogen: subjektives Befinden bestehend aus 12 Fragen
SIRS	Systemic inflammatory response syndrome
SOD	Superoxiddismutase
TH	T-Helferzellen
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
TPO	Schilddrüsen-spezifische Peroxidase
TRH	Thyreotropin-releasing Hormon
TSH	Thyroidea-stimulierendes Hormon
TxR	Thioredoxin-Reduktase
T <sub>3</sub>	Triiodthyronin
T <sub>4</sub>	Thyroxin

## 1. EINLEITUNG

### 1.1 Die Bedeutung von Selen im Überblick

Das Element Selen wurde im Jahre 1817 von dem schwedischen Chemiker Jöns Jacob Freiherr von Berzelius (1779 – 1848) entdeckt. Er benannte es nach der griechischen Mondgöttin Selene, um die nahe chemische Verwandtschaft mit dem nach der Erde benannten Element Tellur (gr. Tellus) aufzuzeigen. Lange Zeit sah man es als eine besondere Form des Schwefels an. Anfang des 20. Jahrhunderts noch als ein gefährliches Umweltgift und Kanzerogen eingestuft, wurde erst 1957 durch Schwarz und Foltz bekannt, daß Selen ein *essentielles Spurenelement* für Mensch und Tier darstellt (Schwarz K, 1957). Inzwischen ist allgemein anerkannt, daß organische Selenverbindungen *antioxidative*, *antientzündliche* und sogar *antikanzerogene* Wirkungen besitzen, und daß sie für lebenswichtige Stoffwechselfvorgänge im Körper unersetzlich sind.

Besonders aufmerksam wurde man auf dieses Spurenelement in den siebziger Jahren, als bekannt wurde, daß sein Mangel im Südwesten Chinas gehäuft zu zwei schweren endemischen Erkrankungen führte, der *Keshan-* und der *Kashin-Beck-Krankheit*.

Die *Kashin-Beck-Krankheit* oder „Big Joint Disease“ ist eine Erkrankung, die mit äußerst schmerzhaften, entzündlich-degenerativen Gelenksdeformationen einhergeht. Sie befiel vor allem Frauen und Kinder der armen Familien in kargen Gebirgsregionen Chinas (Reilly C, 1996) (Sokoloff L, 1985, 1988) (Peng A, 1992).

Bei der *Keshan-Krankheit* handelt es sich um eine Kardiomyopathie, bei der ebenfalls in erster Linie Kinder, Jugendliche und junge Frauen betroffen waren. Nach einer 2 - 6-monatigen Induktionsperiode führt die akute Verlaufsform unbehandelt zu Herzmuskelnekrosen. Die Erkrankten versterben innerhalb von 24 - 48 Stunden nach dem Auftreten der ersten Symptome an akutem Herzversagen und Lungenödem.

Auffallend war, daß die auswärtig arbeitenden Männer so gut wie nicht erkrankten, offensichtlich weil sie am Arbeitsort gehaltvollere Nahrung bekamen, als ihre

Familienangehörigen. Diese lebten meist nur von lokal kultiviertem Mais, denn es gab weder Fleisch, noch Eier oder Milch, da auch Zuchttiere nicht überlebten.

Zu dieser Situation kam es infolge Maos rigoroser Besiedlungspolitik, wo während der chinesischen Kulturrevolution Hunderttausende von Menschen in unbewohnte Gebiete Chinas umgesiedelt wurden. Auf der Suche nach möglichen Ursachen der Endemien, stellte sich erst Jahre später heraus, daß das Erdreich und die dort kultivierten Pflanzen extrem wenig Selen enthielten. Daraufhin bekamen in den sechziger Jahren an die 30.000 Kinder versuchsweise dieses Spurenelement über 4 Jahre hinweg verabreicht. Als dadurch beide Erkrankungen zum Rückgang gebracht werden konnten, setzte eine großangelegte Selenforschung ein (Ge K, 1983) (Gu BQ, 1983) (Reilly C, 1996) (Schrauzer GN, 1998 in: Selen pp 96-110). Es zeigte sich bald, daß Selen den *zentralen, essentiellen Funktionsbestandteil* in lebenswichtigen Proteinen bildet (Behne D, 1996, 2000). Bei seiner ungenügenden Zufuhr über die Nahrung kommt es zur Aktivitätsbeeinträchtigung dieser *Selenoproteine (Selenoenzyme)* - und das wohl auch schon in einer *milden* Selenunterversorgung, wie sie in zahlreichen europäischen Ländern vorherrscht.

Können diese Enzyme infolge Selenmangels nicht in ausreichendem Maße synthetisiert werden oder nicht ihre volle Aktivität entwickeln, wirkt sich dies auf die verschiedensten Organsysteme aus und führt zu sehr vielfältigen Funktionsstörungen und Erkrankungen.

Man geht heute davon aus, daß dazu, neben den oben beschriebenen Endemien, nicht nur allergische, rheumatische und - wie u. a. in dieser Arbeit gezeigt werden soll - auch autoimmune Störungen gehören. Anscheinend zählen darunter gewissermaßen nahezu alle Krankheiten, die mit Stoffwechselstörungen im weitesten Sinne in Zusammenhang stehen. Von psychiatrischen und neurologischen Beschwerden angefangen, über bakterielle und virale Infektionskrankheiten bis hin zu manifesten kardiovaskulären Ereignissen wird Selenmangel in ätiologischen Zusammenhang gebracht (Köhrle, 2000) (Rayman MP, 2000 a), b)) (Virtamo J, 1985) (Suadicani P, 1992) (Néve J, 1996) (Ursini F, 1998). Zahlreichen Studien zufolge führt Selenmangel bei Mensch und Tier außerdem sowohl zu fetalen Anomalien, als auch zu Infertilität (Maiorino M, 1998).

Sogar in der Karzinogenese scheint Selenmangel ebenfalls einen wichtigen Risikofaktor darzustellen (Clark LC, 1991, 1996) (Rayman MP, 2000 a), b)) (Ip C, 1995, 1998) (Knekt P, 1998) (Yoshizawa K, 1998) (Jiang C, 1999) (Baker A,

1997). Allerdings gilt dies nur für die Prävention und nicht für eine Rückbildung von Neoplasien. In der Tumorbehandlung scheint der Einsatz von Selen lediglich begleitend bei Chemo- und Strahlentherapie zur Verringerung von Nebenwirkungen indiziert zu sein (Schumacher K, 1999).

Wie sich dieses überraschend weitreichende therapeutische Spektrum der durch Selenmangel ausgelösten Erkrankungen erklärt, ist letztendlich noch nicht bis in alle Details bekannt und wird aktuell in zahlreichen Studien weltweit untersucht.

Bisher gilt als gesichert, daß bestimmte Selenoenzyme eine Schlüsselstellung bei der *Replikation der DNA* einnehmen, d.h., daß sie essentiell an der Zellteilung sowie an der *Aktivierung von Transkriptionsfaktoren* beteiligt sind (Allen CB, 1999) (siehe Kap. 2.2.3). Auch konnte belegt werden, daß sie bei der *Faltung und Stabilisierung der Tertiärstruktur von Proteinen* eine Rolle spielen und daß sie in den *Prostaglandin-Metabolismus* eingreifen (siehe Kap. 5.2, 5.3, Abb.14, Abb. 15), wo auch die etablierten entzündungshemmenden Medikamente wie Acetylsalicylsäure (Mitchell JA, 1997) und Glucocortikoide (Barnes PJ, 1998) ansetzen. Zwar hemmen Selenoproteine dabei nicht direkt Cyclooxygenase oder Phospholipase A wie ASS oder Cortison, sondern modulieren deren Aktivität, indem sie einer überschießenden Stimulation durch ein hohes Aufkommen von *Hydroperoxiden* entgegenwirken. Dies geschieht dadurch, daß sie für die Aufrechterhaltung eines Gleichgewichtes im *Redoxstatus* (siehe Kap. 2.2.1) aller Gewebe - einschließlich des Immunsystems - sorgen. Dieses Gleichgewicht dient in erster Linie dem Schutz von Zellen mit hohem Sauerstoffumsatz vor *Oxidation*, d.h. vor Angriffen radikaler Sauerstoffspezies, die für die Entstehung von akuten und chronischen Entzündungen verantwortlich gemacht werden (Ursini F, 1987).

Bei einem erhöhten Radikalaufkommen resultierten hieraus zuerst nur *Membranveränderungen mit Permeabilitätsstörungen*, ein hohes Vorkommen kann jedoch eine komplette Zerstörung von Zellen, Geweben und Organen verursachen (Ursini F, 1987).

Selen entfaltet seine antioxidativen Wirkungen *in vivo* ausschließlich in *organischer Form*, d.h. eingebunden in die verschiedenen Selenoenzyme. Dagegen steht seine Position in der antioxidativen Verteidigung in der *anorganischen Form* in Abhängigkeit von seiner jeweiligen Wertigkeit. Diese kann auch eine genau ge-

genteilige, d.h. oxidative Wirkung ausüben. Z.B. besitzt Selen als *Selenat* sogar ein stärkeres *oxidatives* Potential als Sulfat (Cadenas E, 1997) (Seko Y, 1997). Die anorganischen Selensalze sind somit definitionsgemäß *keine Antioxidantien*.

Erstaunlich ist auch, daß die klassischen Antioxidantien wie Östrogene, Flavonoide, Vitamine A, C und E etc. und die Selenoproteine zwar synergistische Wirkungen untereinander besitzen (Diplock AT, 1978), sich jedoch gegenseitig anscheinend nicht ersetzen können (Cheng WH, 1999 b)). Es ist diesbezüglich tierexperimentell nachgewiesen worden, daß der oxidative Schutz, den Selenoenzyme gewährleisten, z.B. nicht durch Vitamin E ersetzbar ist. Nachdem Mäuse mit Paraquat geimpft worden waren, bekam die eine Gruppe Selen, die andere  $\alpha$ -Tocopherol verabreicht. Selbst in hochdosierter Menge konnte es die Versuchstiere, im Gegensatz zur selenhaltigen *Glutathionperoxidase* (siehe Kap. 2.2.1), nicht vor dem durch das Herbizid hervorgerufenen akuten oxidativen Streß schützen (Cheng WH, 1999 a) b)). Als Beispiel für den Synergismus unter den Antioxidantien wurde in einer Arbeit gezeigt, daß Vitamin A in menschlichen Brustkrebszellen die Expression des Gens, das für die *Glutathionperoxidase 2 (GPx2)* kodiert, induziert, was mehr selenabhängige *GPx2* in diesen entarteten Zellen vor Ort entstehen läßt (Chu FF, 1999).

Daß Selen seine vielfältigen Aufgaben im Organismus nicht als einfaches Antioxidans, sondern vor allen Dingen als essentieller *Bestandteil komplexer Enzymsysteme* in Form von *Selenocystein* erfüllt, hatte Schwarz (Schwarz K, 1976) schon lange vermutet und postuliert. Seine Ansicht konnte sich jedoch erst mit dem vor ca. 10 Jahren erbrachten Nachweis des stöchiometrischen Selengehaltes des gereinigten Selenoenzyms *Glutathionperoxidase* und dessen Strukturaufklärung stichhaltig bestätigen. Anhand dieses Enzyms wurde die *katalytische Rolle* des Selens 1992 erstmals belegt (Rocher C, 1992).

Zusammenfassend liegt die vorrangige Stellung der Selenoenzyme darin begründet, daß sie ihre komplexen Aufgaben *nicht nur lokal in den Zellmembranen verrichten*, wie beispielsweise das Vitamin E, sondern daß sie sie in *ubiquitären Vernetzungen* auch in *Plasma, Zytosol* und sämtlichen Zellkompartimenten, einschließlich *Mitochondrien* und *Zellkernen* entfalten.

## 2. GRUNDLAGEN

### 2.1 Selen

#### 2.1.1 Chemische Eigenschaften

Selen ist ein 2-, 4- und 6-wertiges Halbmetall mit einer Ordnungszahl von 34 und einem Atomgewicht von 78,96 das sich zusammen mit Sauerstoff, Schwefel, Tellur und Polonium in der VI. Hauptgruppe des Periodensystems befindet (Falbe J, 1992).

Es kann wie Schwefel in Molekülen kovalente Bindungen mit Sauerstoff, Stickstoff, Kohlenstoff, Wasserstoff und Halogenen eingehen.

Elementares Selen existiert als rotes oder schwarzes Pulver. In der kristallinen monoklinen Form besitzt es eine tiefrote, in der kristallinen hexagonalen eine metallisch graue Farbe.

Vergleichbar mit dem Schwefel gibt es beim Selen ebenso die Oxidationsstadien  $-2$ ,  $0$ ,  $+2$ ,  $+4$ ,  $+6$  (Tab. 1), d.h. es besitzt die Fähigkeit, Elektronenpaare aufzunehmen und abzugeben.

Zu den anorganischen schwefelhaltigen Salzen (Sulfide, Sulfite, Sulfate) existieren auch die entsprechenden Selenide, Selenite oder Selenate.

*Selenid* findet sich vor allem in Sulfidmineralen. Während des Verwitterungsprozesses werden Selenide zu stabilen *Seleniten* oxidiert, die leicht von Algen aufgenommen werden können. Im Gegensatz dazu werden die Selenate, die viel löslicher als ihre analogen Sulfate sind, eher von höheren Pflanzen absorbiert. In hochverdünnten Lösungen nimmt die Stabilität von Selenomethionin über Selenat zu Selenit ab.

**Tab.1: Oxidationsstadien von Selen**

Chemische Struktur	Oxidationsstadium	Name der Säure	Name der Salze
H <sub>2</sub> Se	- II	Hydroselenide	Selenide
R-SeH	- II	Selenol	
Se	0	Selen	
R-Se-OH	0	selenige Säure	Selenat
$\begin{array}{c} \text{O} \\    \\ \text{R-Se-OH} \end{array}$	+0	seleninische Säure	Seleninate
$\begin{array}{c} \text{O} \\    \\ \text{HO-Se-OH} \end{array}$	+IV	Selensäure	Selenite (SeO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> )
$\begin{array}{c} \text{O} \\    \\ \text{HO-Se-OH} \\    \\ \text{O} \end{array}$	+VI	selenische Säure	Selenate (SeO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> )

### 2.1.2 Verwendung in der Technik

Die Anwendungsbereiche von Selen in der Industrie sind mannigfaltig. Wegen seiner Redox Eigenschaften wird es z.B. als Zusatz in der Fabrikation von rostfreiem Stahl verwendet. Als Katalysator wird es bei der Oxidation organischer Substanzen genutzt. Weiterhin dient es als Oxidationsmittel zur Überführung von Methyl- und Methylengruppen in Ketone oder Aldehyde und zur Einführung von Doppelbindungen an OH-Gruppen (Sager M, 1994).



### 2.1.3 Selen in der Nahrungskette

In der Häufigkeit der in der Erdkruste vorkommenden Elemente steht Selen mit einem Durchschnittsgehalt von 0,09 mg/kg an 60. Stelle und somit in unmittelbarer Nachbarschaft zu Gold. Da es jedoch viel weiter verbreitet ist, kommt es in Spuren in fast allen Gesteinen, Böden und Gewässern vor (Reilly C, 1996).

Der unterschiedliche Selengehalt des Erdreiches ist abhängig vom Bodentyp und Niederschlag. Ein extrem niedriger Selengehalt (0.09 – 0.17µg/g) findet sich besonders in China in einem von Nordosten nach Südwesten verlaufenden Areal, das sich bis in die angrenzenden Gebiete Rußlands erstreckt. Auch in Neuseeland, in großen Teilen Australiens, im Osten der USA und Kanadas sowie in den skandinavischen Ländern sind die Böden sehr arm an Selen.

Dahingegen enthält das Erdreich in den südwestlich gelegenen Ländern der USA, in Westchina, Turkestan, Israel und Venezuela teilweise soviel Selen (>1.7µg/g), daß die darauf wachsenden Pflanzen für Nutztiere sogar *toxisch* wirken und eine *Selenose* (Selenvergiftung) hervorrufen können (siehe Tab. 2).

Getreide, Nüsse, Saaten, Hülsenfrüchte und Zwiebelgewächse nehmen z.B. besonders viel Selen auf, vorausgesetzt sie wachsen auf selenhaltigen Böden.

Jedoch hängt der Selengehalt der Pflanzen nicht nur allein von seiner *Verfügbarkeit* im Erdreich ab, sondern vor allen Dingen auch von seiner *Verwertbarkeit*.

So liegt dieses Spurenelement in den Kulturböden häufig in einer für Pflanzen nicht resorbierfähigen Form als *Selenit* vor. Es ist größtenteils an Eisenhydroxide und Tonminerale gebunden. Eine solche Komplexbildung entsteht in *sauren Böden* bei pH-Werten zwischen 4,5 – 6,5 (Reilly C, 1996). Dies war auch in China in der Gegend um Keshan festgestellt worden, wo eine Bodenhyperazidität vorherrscht, die in Verbindung mit einem hohen Eisenvorkommen die Bioverfügbarkeit des Selens für Pflanzen extrem vermindert (Schrauzer GN, 1998 in: Selen pp 96-110).

Dagegen bilden sich in *alkalischen Böden* keine solchen schwerlöslichen Komplexe. Die *selenige Säure* bleibt frei und kann von den Pflanzen direkt über deren Wurzeln aufgenommen werden. Demnach stellt lösliches *Selenat* nahezu

die einzig verwertbare Form von Selen für höhere Pflanzen dar (Sager M, 1994) (Barceloux GD, 1999).

Durch die Gabe von Argentum oder Kupfer können durch Komplexbildung andererseits auch toxische Wirkungen von Selen gemildert werden. Kupfer führt vor allem zur Selenanreicherung in der Leber und Argentum behindert die Selenresorption (Sager M, 1994).

In weiten Gebieten Europas herrscht ein milder Selenmangel in den Böden vor (siehe Tab. 3). Als wasserlösliches Element läßt es sich, genauso wie Iod auch, in regenreichen Ländern leicht aus dem Erdreich *auswaschen*, so daß Iod- und Selenmangel zumeist gleichzeitig auftreten. Inwiefern industrielle Umweltbelastung, saurer Regen und Komplexierung mit Schwermetallen an der geringen Verfügbarkeit dieses Spurenelementes in unseren Böden und an der Selenarmut in den darauf kultivierten Pflanzen mit verantwortlich sind, bleibt noch weitgehend ungeklärt. Belegt ist jedenfalls, daß durch Säureeinwirkung *unwirksame Selenmetabolite* entstehen und daß anorganisches Selen leicht *mit Metallen* komplexiert. Des weiteren vermindert eine Überdüngung mit *Ammoniumsulfat* sowie die Behandlung der Böden mit *Kalziumsulfat* in der *Intensivlandwirtschaft* die Selenaufnahme der Pflanzen deutlich (Schrauzer GN, 1998 pp 15 – 18).

Da Selen nicht für das Wachstum von Pflanzen benötigt wird, gedeihen sie auch auf selenarmen Böden. So enthalten in selenarmen Regionen erzeugte Getreide oft nahezu kein Selen. Dies gilt übrigens für die meisten hiesigen Getreidesorten. Bis vor etwa 30 Jahren wurde selenreiches Korn aus Kanada und den USA importiert. Danach verringerte sich die Selenaufnahme in Deutschland und den anderen EU-Mitgliedsländern deutlich wegen der seither vorwiegenden Vermarktung europäischen Getreides (MacPherson A, 1997).

Der Mangel an Selen wirkte sich in der Landwirtschaft auch spürbar auf die Nutztierhaltung aus und brachte den Bauern hohe Verluste. Als in den Fünfziger Jahren bekannt wurde, daß es sich bei Selen um ein lebenswichtiges Spurenelement für Mensch und Tier handelt, setzten es die Bauern von da an systematisch dem Tierfutter zu (Schrauzer GN, 1998 in: Selen pp 68 – 95). Aus diesem Grund stellen - neben Salzwasserfischen und Meeresalgen - seither wieder

Eier, Fleisch und Milchprodukte die wichtigsten Selenquellen in Ländern mit selenarmen Böden dar.

Rayman betont allerdings, daß trotz Zufütterung in England in den letzten 25 Jahren dennoch eine insgesamt beachtlich gesunkene Selenaufnahme registriert wurde (Rayman MP, 1997, 2000 b)).

Das Meer war schon immer der beste Lieferant für alle Spurenelemente. Ein häufiger Verzehr von Salzwasserrfischen und Meeresalgen deckt den Bedarf des menschlichen Organismus in ausreichendem Maße. Da Selen zusätzlich die Toxizität von Schwermetallen durch Komplexbildung und somit z.B. wohl auch die Giftigkeit von Quecksilber in den Meeresfischen reduziert (Reilly C, 1996), geht man heute einhellig davon aus, daß eine abwechslungsreiche Mischkost nach mediterraner bzw. japanischer Art eine optimale Versorgung an essentiellen Mikronutrimten für uns darstellt, die keinerlei Supplementierung bedarf.

Für *Raucher, Vegetarier, Schwangere* und *Stillende*, wie auch bei *erhöhtem Streß* gilt seine Supplementierung jedoch als sinnvoll und empfehlenswert.

Laut Aussagen epidemiologischer Studien soll Selen sowohl als Nahrungsergänzungsmittel, wie auch als Therapeutikum, z.B. bei immunologischen Erkrankungen, Infektionen, Chemo- und Strahlentherapien etc., bis zu einer täglichen Dauereinnahme von 700 µg/Tag für den Menschen ungefährlich sein (siehe Tab. 3). Bei höheren Mengen treten Intoxikationserscheinungen (Selenosen) auf, die in Kapitel 2.1.7 näher erläutert werden.

**Tab. 2: Tägliche Selenaufnahme in µg in Japan, China und den USA (Oster O, 1989)**

	<b>Selenaufnahme (µg/Tag)</b>
China, Region mit Keschankrankheit	ca. 11
China, Regionen ohne Selenose (Selenvergiftung)	750
China, Regionen mit Selenose	4990
USA, je nach untersuchter Region	60 / 150
Japan	208

**Tab. 3: Selenaufnahme pro Tag in Europa ( Rayman MP, 2000 b))**

<b>Land</b>	<b>Selenaufnahme (µg/Tag)</b>	<b>Informationsquelle</b>
Polen	11 – 24	Kvicala et al, 1995, 1997
Deutschland	35	Kumpulainen and Salonen, 1996
UK	29 – 39	UK Ministry of Agriculture, Fisheries , Food, 1997
Frankreich	29 – 43	Lamand et al, 1994
Belgien	28 – 61	Robberecht and Deelstra, 1994
Dänemark	38 – 47	Danisch Government Food Agency, 1995
Schweden	38	Kumpulainen, 1993
Slovakei	38	Kadrabova, 1998
Niederlande	67	Kumpulainen, 1993
Schweiz	70	Kumpulainen, 1993

#### **2.1.4 Selen in der Tierernährung**

Bei Nutztieren verursacht Selenmangel neben Infertilität (Maiorino M, 1998) vorrangig die sogenannte *Weißmuskel-Krankheit* (Schubert JR, 1961). Sie trat in vielen Ländern mit intensiver Viehzucht auf und wurde sogar 1960 noch bei 20 - 30 % der Lämmer Estlands, Neuseelands und der Türkei beobachtet. Sie äußert sich in Form von Lähmungserscheinungen der Extremitäten und der Atemmuskulatur sowie in einer Muskeldegeneration mit Weißfärbung infolge von Kalziumablagerungen. Die Tiere verenden oft schon wenige Stunden nach dem Auftreten der ersten Symptome. Vor Einführung einer systematischen Zufütterung von Selen verloren die Landwirte in selenarmen Gegenden, wie z.B. im US-Bundesstaat Oregon, bis zu 50% aller Lämmer. Die Ergänzung des Futters mit 0,1 ppm Selen (Natriumselenit) erwies sich zum Schutz der Tiere als ausreichend. Erkrankte Tiere können oft noch durch Injektion von Selen-Vitamin-E-Präparaten

gerettet werden. Besonders gehäuft trat die Weißmuskel-Krankheit nach Überdüngung von Weideland mit *Ammoniumsulfat* auf (Schrauzer GN, 1998 in Selen: pp 72 – 77).

In Deutschland erkrankten nicht nur Lämmer, sondern auch Kälber, Ziegen, Jungschweine und Geflügel. Gründe hierfür sind in der Änderung des Futteranbaus und der -konservierung zu suchen. So führt nicht nur die industrielle Trocknung des Getreides zur Zerstörung des hitzeempfindlichen Vitamin E, sondern es verursacht wahrscheinlich auch die Verwendung von *Propionsäure* als Konservierungsmittel drastische Erniedrigungen des Vitamin- und Spurenelementgehaltes in den Futtermitteln. Schließlich kam es auch nach dem Verzicht auf Fischmehl, als einer guten Selenquelle, zu einer schlechteren Versorgung der Tiere.

Durch rechtzeitige Selensubstitution konnten z.B. bei Kühen eine Reihe von Krankheiten verhütet werden, darunter Mastitis, Atemwegsinfekte, Myopathien und Fruchtverlust. Aus diesen Gründen wird heute nahezu in allen Mangelgebieten Selen gezielt dem Tierfutter beigemischt bzw. als Düngemittel, wie z.B. in Norwegen, den Böden zugeführt (Schrauzer GN, 1998 in: Selen pp 72 – 77).

### **2.1.5 Aufnahme und Bioverfügbarkeit**

In pflanzlichen und tierischen Lebensmitteln ist Selen überwiegend organisch gebunden in Form der Selenoaminosäuren *Selenocystein* und *Selenomethionin* zu finden. *Selenat* und *Selenit* werden vor allem zur Futtermittelsupplementierung von Nutztieren in selenarmen Regionen verwendet.

Wie für die Pflanzen, sind auch für den menschlichen Organismus *elementares* oder *stärker reduziertes Selen* nicht verwertbar. Gleiches gilt für die durch Schwermetallbelastung entstandenen *stabilen Metallselenide* (Barceloux DG, 1999) (Reilly C, 1996).

Transportmechanismen im Gastrointestinaltrakt:

Die Resorption von Selen erfolgt im Dünndarm. Sie wird in erster Linie durch seine chemische Form bestimmt. Sowohl das *ungebundene, anorganische Selenat* und *Selenit*, als auch das *organische, an Aminosäuren gebundene Selen*, werden

effizient aus dem Magen-Darm-Trakt aufgenommen (Whanger PD, 1976) (Ford W, 2001 in Pharmakologie und Toxikologie pp 780 – 782).

- Die Aufnahme von *Selenat* erfolgt sowohl durch einen Na<sup>+</sup>/Selenat-Cotransport-Mechanismus, als auch durch einen Selenat/OH<sup>-</sup>-Austauschmechanismus. Diese beiden Transporter können durch selenatähnliche Anionen wie Molybdat, Sulfat, Thiosulfat etc. kompetitiv gehemmt werden.

- Die Resorption von *Selenit* wird mit Hilfe von Thiolen wie L-Cystein oder Glutathion über Aminosäure-Carrier gewährleistet.

- Die Selenoaminosäuren *Selenomethionin* und *Selenocystein* werden über dieselben Mechanismen wie die analogen Aminosäuren Methionin oder Cystein aufgenommen (Ford W, 2001 in Pharmakologie und Toxikologie pp 780 – 782).

### **Metabolisierung von *Natriumselenit* und *Selenomethionin*:**

Selen wird über das *UGA-Codon (Uracil-Guanin-Adenin-Codon)* spezifisch als *Selenocystein* (der kürzlich entdeckten 21. proteinogenen Aminosäure) kodiert und in die aktiven Zentren spezifischer Proteine eingebaut. Da Selenocystein kein eigenes Codon im genetischen Code besitzt, muß es sich dieses mit einem Signal für *Ende der Translation (Stopcodon)* teilen. Dem Translationsapparat muß allerdings erst mitgeteilt werden, ob es sich bei dem Basentriplett UGA in der mRNA der einzelnen Selenoenzyme um ein *Stopcodon* oder um eine *Insertionsanweisung für Selenocystein* handelt. Dies geschieht durch die Sekundärstruktur des nachfolgenden RNA-Abschnitts in Form von einer doppelsträngigen Umkehrschleife, in der die Basen - ähnlich der Kleeblattstrukturen der tRNA - gepaart sind. Selenocystein entsteht aus *Serin* und durch den enzymatischen Austausch von *Selen* gegen Sauerstoff (in der OH-Gruppe).

Selen gibt es in zwei medikamentösen Darreichungsformen, nämlich als *Natriumselenit* und als *Selenomethionin*. Zwischen beiden besteht eine unterschiedliche Metabolisierung:

Das organische *Selenomethionin* - an Methionin gebundenes Selen - erhöht effektiver den augenscheinlichen Selenstatus, als das ungebundene, anorganische *Natriumselenit*, weil es unspezifisch anstelle von Methionin in Proteine (z.B.

Hämoglobin oder Albumin) eingebaut wird (Thomson CD, 1993). Es besitzt jedoch keine katalytische Aktivität und muß erst in einen anorganischen Präkursor umgewandelt werden, bevor es in den verfügbaren Selen-Pool gelangen kann.

*Selenomethionin* ist daher eine weniger gut verfügbare metabolische Quelle von Selen, als *Selenit* oder *Selenat*. Diese werden nach Reduktion zu *Selenid* in der Leber in das *Selenocystein* eingebaut. Es stellt die aktive Form von Selen in den Selenoproteinen dar (Allan CB, 1999).

Oft werden aber gerade die an Proteine gebundenen Formen (z.B. Selenhefe) als Nahrungsergänzung bevorzugt, da sie im Falle einer Überdosierung akut weniger toxisch wirken (Standing committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes of the Food and Nutrition Board, 2000). Allerdings bleibt noch zu klären, ob langfristig nicht andererseits die Gefahr einer Akkumulation bei einer Verabreichung von Selenomethionin besteht.

Die Selenkonzentrationen in den verschiedenen Organen sind unterschiedlich und finden sich am Tiermodell in absteigender Reihenfolge in Spermien, Nieren, Schilddrüse, Hypophyse, Leber, Pankreas, Herz und Muskel (Gramm HJ, 1992). Dies läßt auf eine dem Verteilungsmuster entsprechende Bedeutung dieses Spurenelementes in den einzelnen Organen schließen. Bei einem Mangel wird Selen vor allem in Hoden, Schilddrüse und Hypophyse konserviert.

### **2.1.6 Selenausscheidung**

Die Gesamtmenge von Selen im Körper beträgt zwischen 4-20 mg. Der Mensch scheidet es in erster Linie über die Nieren in Form von *Trimethylselenium* aus, aber auch mit den Faeces als *Selenat* und über den Respirationstrakt als *Dimethylselenid* (Barceloux DG, 1999). Die tägliche Ausscheidung von Selen über Niere, Darm und Lunge ist abhängig von der Zufuhr und beträgt im Mittel  $52 \pm 23$  µg/Tag. Das entspricht etwa 0,4 % der Menge des Gesamtkörperselens.

Patienten mit schweren Krankheiten und niedrigen Serumselenwerten haben keine erhöhte Ausscheidung (Hawker FH, 1990) (Berger MM, 1992) (Forceville X,

1998). Der Serum-Selen-Spiegel liegt bei ihnen um 30 – 50% unterhalb der Norm und die GPx-Aktivität ist vermindert. Eine vermutete erhöhte Ausscheidung über die Nieren kommt als Erklärung weniger in Betracht und konnte auch bei Patienten mit Sepsis nicht nachgewiesen werden (Forceville X, 1998) (Gärtner R, 2001). Eher wahrscheinlich ist, daß es entweder zu einer Umverteilung von Selen unter den einzelnen Organen kommt, oder daß ein vorausgegangener Selenmangel bestand (Hawker FH, 1990) (Goode JF, 1995).

### 2.1.7 Selenmangel im Zusammenhang mit KHK und Karzinogenese

Grundsätzlich muß zwischen einem mit dem Leben nicht vereinbaren *absoluten bzw. extremen Selenmangel* und einem *milden* unterschieden werden.

In Gebieten mit einem *extremen* Selenmangel treten beispielsweise Erkrankungen wie die beschriebene Keschan- bzw. Kashin-Beck-Krankheit bei Menschen (Yang GQ, 1984) sowie die Weißmuskel-Krankheit bei Tieren auf (Schrauzer GN, 1998 in: Selen pp 72 – 77) (Sokoloff L, 1985).

Aber selbst in Regionen mit einem *milden Selenmangel* kommt es gehäuft zu den unterschiedlichsten Beschwerdebildern, darunter auch zu *kardiovaskulären Erkrankungen* mit Apoplex, koronarer Herzerkrankung und Herzinfarkt, der häufigsten Todesursache in der westlichen Welt (Virtamo J, 1985) (Suadicani P, 1992) (Néve J, 1996) (Ursini F, 1998) (Rayman MP, 2000 a), b)) (Köhrle, 2000).

Wie kann solch schwerwiegenden Erkrankungen mit einem Spurenelement vorgebeugt werden?

Man geht davon aus, daß bestimmte Selenoenzyme der Entstehung von Thromben und Thrombembolien entgegen wirken können. Mit ihrer Hilfe soll es zu einer verringerten Ansammlung von oxidiertem LDL in der Arterienwand kommen, ebenso wie zu einer adäquaten Vasodilatation und zu einer verminderten Thromboxanbildung. Dies geschieht anscheinend folgendermaßen:

Der protektive Effekt von Selen auf das Gefäßsystem hängt maßgeblich von der Aktivität der *Glutathionperoxidasen* ab, die im Kapitel 2.2.1 beschrieben werden. Ist ihre Aktivität bei Selenmangel verringert, fallen zunehmend mehr *Hydroperoxide (freie Radikale) aus Phospholipiden und Lipoproteinen* an. Diese schädigen



einmal *direkt* das Gefäßendothel durch oxidative Veränderungen von Membranlipiden. Dadurch könnte über die Akkumulation von *oxidiertem LDL* in der Arterienwand die Entstehung von *Arteriosklerose* begünstigt werden (Néve J, 1996) (Salonen JT, 1988) (Sattler W, 1994) (Vitoux D, 1996) (Arteel GA, 1999).

Zum anderen wird eine adäquate Vasodilatation wohl dadurch verhindert, daß diese Hydroperoxide außerdem die Prostaglandinsynthetase des Endothels hemmen mit der Folge einer *verringerten Synthese von Prostacyclinen*, die normalerweise für eine Gefäßerweiterung sorgen (Rayman MP, 2000 b))(Néve J, 1996).

Obendrein sollen diese bei Selenmangel im Überschuß vorhandenen Radikale über einen stimulierenden Effekt auf die Thromboxanproduktion auch eine *gesteigerte Plättchenaggregation* zur Folge haben, was - alles in allem - eine erhöhte *Thrombemboliegefahr* bedeutete (Rayman MP, 2000 b)) (Néve J, 1996).

Die Auswirkungen eines Selenmangels auf kardiovaskuläre Erkrankungen belegen zahlreiche im In- und Ausland durchgeführte Studien:

Beispielsweise wurde in der *10-Center-EURAMIC-Studie* eine signifikant inverse Beziehung zwischen dem *Selengehalt in Nägeln der Probanden* und einem *Myokardinfarktrisiko* deutlich. Dies traf insbesondere für Deutschland zu - als dem Zentrum mit den niedrigsten Bodenselenwerten (Kardinal AFM, 1997).

Einen präventiven Effekt von Selen auf *Myokardinfarktinzidenz* und *kardiovaskulären Tod* beobachteten ebenfalls Salonen et al schon 1982 (Salonen JT, 1982). In einer späteren prospektiven Studie fand die gleiche Forschergruppe eine 2 – 3-fach höhere Morbiditäts- und Mortalitätsrate im Vergleich zur Kontrollgruppe bei Personen mit einer Serum-Selen-Konzentration unter 45 µg/l (Salonen JT, 1988). An Ratten ließen sich unter Selentherapie sogar die durch Reperfusion induzierten *Arrhythmien* senken (Tanguy S, 1998).

In ähnlicher Weise wurde auch eine Assoziation zwischen Selenmangel und der *Inzidenz von Karzinomen* in einer Vielzahl von epidemiologischen und retrospektiven Studien nachgewiesen. In der ersten Interventionsstudie, der *Nutritional Prevention of Cancer-Studie*, zeigten beispielsweise Clark und Mitarbeiter erstmals einen inversen Zusammenhang zwischen *Krebsrisiko* und Serum-Selen-Spiegel, indem sie bei 1312 randomisierten Patienten mit *Basaliom* den Effekt von 200 µg Selen pro Tag gegenüber Placebo auf die Basaliom-Rezidivrate unter-

suchten. Zwar kam die Studie bzgl. des primären Endpunktes zu keinem positiven Ergebnis, jedoch zeigte sich in Bezug auf den zweiten Endpunkt eine um 50 % erniedrigte Krebsmortalität sowie eine um 37 % niedrigere Krebsinzidenz (63 % weniger *Prostatakrebs*, 58 % weniger *Kolonkarzinome* und ein um 47 % geringeres Auftreten von *Lungenkarzinomen*) (Clark LC, 1996).

Als eine mögliche Erklärung für die verantwortlichen biochemischen Hintergründe scheint es, daß u. a. eine *antiproliferative Wirkung* aus einem verbesserten GSSG:GSH-Verhältnis resultiert und daß auch die Synthesestadien des Zellzyklus durch Selen beeinflußt werden (Leboeuf RA, 1985). Dieser Nachweis gelang mit Hilfe der Fluorescence flow cytometrie in vivo an regenerierenden Rattenleber- und in vitro an Säugetierzellen. Dabei verlängerte Selen die *Dauer der G1-, S-, und G2-Phasen* bei der Zellteilung, während es keinen Effekt auf die Mitoserate hatte (Leboeuf RA, 1985).

Zusätzlich zeigten biochemische Analysen von TH4-Zellen, daß eine Selengabe insgesamt die *antioxidative Aktivität* verstärkt. Die Behandlung mit Selen bewirkte vermehrt eine dosisabhängige Reduktion von oxydiertem Glutathion, d.h. eine Verbesserung des GSSG:GSH-Verhältnisses. Darüber hinaus waren die Glutathionaktivität sowie das Verhältnis von oxidiertem NADP gegenüber reduziertem NADPH signifikant unter Selentherapie erhöht (Leboeuf RA, 1985).

In einer anderen Arbeit wurde belegt, daß Selen signifikant die *Angiogenese* und damit die Progression von *Mammakarzinom* hemmte (Jiang C, 1999). Diese Studie wurde am *Cancer Research Centers* in Denver (Colorado) in vivo an Ratten und in vitro an menschlichen Umbilicalvenen durchgeführt .

Weitere Studienbeispiele zu den zahlreichen anderen, im Selenmangel hervorgerufenen Funktionsstörungen mit Auswirkungen auf die Gesundheit werden in den nachfolgenden Kapiteln angeführt.

### 2.1.8 Selentoxizität und therapeutische Dosen

Die Toxizität von Selen wird vorrangig durch seine chemische Ähnlichkeit mit Schwefel bedingt, den es bei übermäßiger Aufnahme aus seinen Bindungen in Proteinen verdrängen kann (Falbe J, 1992). Beim Menschen wurden akute Vergiftungserscheinungen insbesondere bei Industriearbeitern in Kupferschmelzen beobachtet. Verantwortlich dafür war der Kontakt mit Selenstäuben oder Selenwasserstoff (Combs GF, 1998).

Oral zugeführt kommt es bei *kurzfristiger* Einnahme von über 3000 µg/Tag oder bei *chronischer* Einnahme von mehr als 800 µg/Tag zu Intoxikationen.

*Die chronische Toxizität* wurde ausführlich in China untersucht, da das Erdreich dort in einigen Provinzen sehr unterschiedliche Selengehalte aufweist. In Gebieten mit extrem hoher alimentärer Selenzufuhr (3 000 bis 6 000 µg Selen pro Tag) über einen Zeitraum von 2 bis 3 Monaten kommt es zu Haarausfall, Hautschwellungen, Nagelveränderungen (weiße Streifen und Flecken), Inappetenz, Leberfunktionsstörungen, Magen-Darm-Ulcerationen sowie zu peripheren Neuropathien (Schrauzer GN, 1998 in: Selen pp 47 – 58). Untersuchungen des Colleges of Agriculture der Universität von Whyoming (USA) zeigten, daß bei einer Selenose sowohl das kardiovaskuläre, wie auch das gastrointestinale und hämopoetische System zuerst beeinträchtigt sind (Raisbeck MF, 2000).

*Bei einer akuten Vergiftung* ist ein intensiver, knoblauchartiger Geruch in der Atemluft auffällig. Es kommt zu Allgemeinbeschwerden wie Schleimhautreizungen, Kopfschmerz, Schwindel, Müdigkeit und Erbrechen. Bei oraler Aufnahme entstehen gastrointestinale Beschwerden mit abdominellen Schmerzen und Diarrhoe. In den meisten Fällen verschwinden die Symptome nach 1 – 2 wöchiger Selenabstinenz wieder vollständig (Schrauzer GN, 1998 in: Selen pp 51 – 56) (Barceloux DG, 1999).

In extrem hohen Dosen kommt es zu lebensbedrohlichen Auswirkungen, die von Kardiomyopathien mit Kreislaufversagen über Hämolysen, bis hin zu toxischen Hepatosen mit Leberkoma reichen. Im histopathologischen Befund finden sich oft Bilder von mikronodulärer Zirrhose, Einzelzellnekrosen und Veränderungen im

Gallengangssystem (Schrauzer GN, 1998 in: Selen pp 48-58) (Barceloux DG, 1999).

Wird Selen therapeutisch eingesetzt, so muß prinzipiell zwischen einer *Kurzzeit-* und einer *Dauermedikation* unterschieden werden:

*Bei kurzfristig therapeutisch verabreichten Dosen* kann davon ausgegangen werden, daß bei einer täglichen Aufnahme von bis zu 15 µg/kg Körpergewicht keine Nebenwirkungen auftreten (Whanger P, 1996).

*Eine Langzeittherapie* sollte die Menge von 600 µg Selen pro Tag nicht überschreiten (Yang GQ, 1995). Einige Experten empfehlen sogar vorsichtshalber, die obere Grenze für Erwachsene bei 400-500 µg Selen/Tag anzusetzen (Dietary Reference Values for Food Energy & Nutrients for the UK, 1991) (Standing Committee, 2000) (WHO, 1996).

*Für eine Dauertherapie* erwies sich in vielen Studien eine Menge von 200 µg/Tag als wirksam, bei der es auch im Langzeitversuch von 5 Jahren zu keinerlei unerwünschten Wirkungen kam (Clark LC, 1996). Diese Dosierung entspricht einer Menge an Selen, wie sie in der natürlichen täglichen Nahrung z.B. in Japan oder in weiten Regionen Canadas und der USA enthalten ist (siehe Tab. 3).

## 2.2 Selenoproteine

Von den bislang 35 isolierten Selenoproteinen gehören zu den wichtigsten

- die *Glutathionperoxidasen* (GPx), deren wesentliche Rolle der Schutz sowohl vor intra- als auch extrazellulären Sauerstoffradikalen und Hydroperoxiden ist (Mills GC, 1957) (Flohé L, 1971, 1972, 1973, 1979, 1989, 1997 b), 1998, 2000).
- die *Deiodasen*, die den Schilddrüsenstoffwechsel sowohl in der Schilddrüse selbst, aber ebenso in allen peripheren Organen regulieren (Bianco AC, 2002) (St.Germain DL, 1997),

- das *Selenoprotein P*, das Enzym mit dem höchsten Selengehalt. Es findet sich im Blutplasma und schützt vermutlich in erster Linie das Endothel vor oxidativem Streß (Arteel GA, 1998),
- die *Thioredoxinreduktase* (TxR), die für die Aufrechterhaltung der intrazellulären und intranukleären Redoxsysteme, insbesondere der immunkompetenten Zellen sorgt (Marcocci L, 1997) und bei der Zellteilung, gemeinsam mit der Ribonukleotid-Reduktase und dem Thioredoxin, eine überaus wichtige Rolle spielt.

### 2.2.1 Glutathionperoxidase (GPx), Redox-Gleichgewicht und oxidativer Streß

Die *antioxidative Wirkung* von Selen wird ausschließlich durch die Selenoenzyme vermittelt. Die Glutathionperoxidasen zählen zu den wichtigsten unter ihnen.

Bis heute wurden vier Formen der GPx isoliert:

- die zytosolische GPx (cGPx),
- die plasmatische GPx (pGPx),
- die Phospholipid-Hydroxyperoxid-GPx (PH-GPx) sowie
- die intestinale GPx (iGPx oder GPx-GI)

Die Besonderheit der Glutathionperoxidasen liegt in ihrer Fähigkeit der Reduktion von Hydroperoxiden, ohne daß dabei freie Radikale entstehen. So können sie Wasserstoffperoxide und freie organische Hydroperoxide, einschließlich freier Fettsäurehydroperoxide zu harmlosen Endprodukten reduzieren.

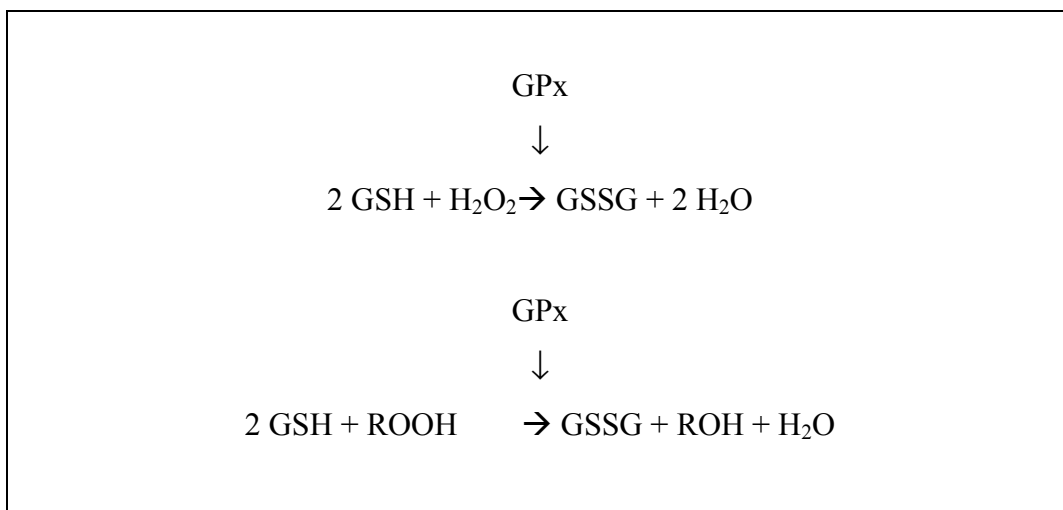
Alle GPx enthalten eine katalytische Triade, bestehend aus den Aminosäuren *Glutamat, Cystein und Glycin*.

Nach der Umwandlung der primär in den Mitochondrien laufend entstehenden O<sup>•</sup>-Radikale zu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und O<sub>2</sub> durch die *zink-* bzw. *kupferabhängigen Superoxid-Dismutasen (SOD)*, übernimmt die GPx deren weiteren Abbau. Sie sorgt für die Reduktion von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> zu *Wasser* und von *Lipid- oder Cholesterol-Hydroperoxiden* zu entsprechenden *Alkoholen* (Schrauzer GN, 1998 in: Selen pp 42 – 43). Dadurch wirkt dieses Enzym *protektiv* gegen Folgeprodukte reaktiver Sauerstoffverbin-

dungen und ist somit am Schutz der Lipide und Biomembranen des Organismus vor Oxidation maßgeblich beteiligt (Ursini F, 1987) (Flohé L, 1997 b)). Dabei liefert reduziertes Glutathion die Reduktionsäquivalente, d.h. die GPx reduziert das Glutathion, das durch die Aufnahme von Sauerstoff oxidiert worden war (Abb. 1).

Bei diesem sich stetig wiederholenden Vorgang wird die Selenol-Gruppe des Selenocysteins von Hydrogen aktiviert und reagiert mit  $\text{H}_2\text{O}_2$  oder anderen löslichen Hydroperoxiden (in  $10^7 \text{ M}^1\text{sec}^{-1}$ ) (Ursini F, 1985, 1995) (Flohé L, 1989, 1972). Das dabei entstehende Selensäurederivat wird stufenweise zu zwei Glutathion-Molekülen reduziert (Flohé L, 1989).

**Abb. 1: Darstellung der durch die GPx vermittelten chemischen Reaktion zum „Scavenging“ (Neutralisation, Modulation) von Sauerstoffradikalen (Haglund U, 1991)**



GSH = reduziertes Glutathion

GSSG = oxidiertes Glutathion

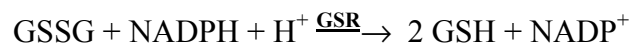
GPx = Glutathionperoxidase

ROOH = Peroxid-Radikal

$\text{H}_2\text{O}_2$  = Wasserstoffperoxid

Die Regeneration von GSSG erfolgt mit Hilfe der NADPH + H<sup>+</sup>-abhängigen Glutathion-Reduktase (siehe Abb. 3). Als Energiequelle dient Glucose-6-Phosphat (Schrauzer GN, 1998 in: Selen pp 37 – 44).

**Abb. 2: Die Regeneration von GSSG mit Hilfe der NADPH + H<sup>+</sup>-abhängigen Glutathion-Reduktase**



GSH = reduziertes Glutathion

GSSG = oxidiertes Glutathion

GSR = Glutathionreductase

NADP = Nikotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (oxidierte Form)

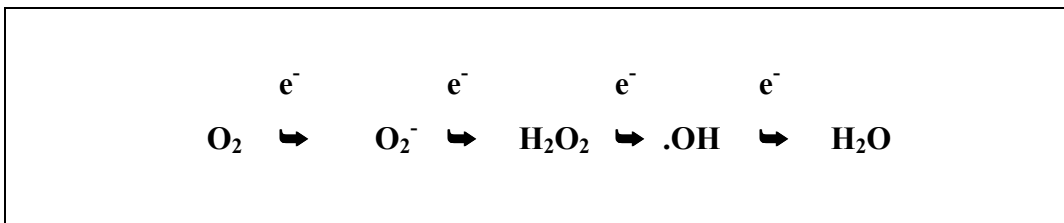
NADPH + H<sup>+</sup> = Nikotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat (reduzierte Form)

Nicht mit Hilfe des Glutathions neutralisiert, stellen diese Radikale äußerst aggressive, kurzlebige Verbindungen dar, die ein *ungepaartes Elektron* im äußeren Orbital ihrer Elektronenhülle besitzen. Zur Erlangung eines stabilen Zustandes müssen sie einem anderen Molekül ein Elektron entreißen (siehe Abb. 3). Dabei entstehen Kettenreaktionen, durch die es beispielsweise zum *Rosten von Metallen*, zur *Braunfärbung von geschältem Obst* und zum *Ranzigwerden von Fetten* kommt.

Besonders gefährdet sind in gleicher Weise die mehrfach ungesättigten Fettsäuren in den Zellmembranen. Werden sie von den Radikalen angegriffen, kommt es zur *Lipidperoxidation* und zur Auslösung weiterer Kettenreaktionen. Somit erklären sich die daraus resultierenden Membranveränderungen der Zelle mit *Permeabilitätsstörungen* bei einem mäßigen Radikalaufkommen sowie der *Zelluntergang* bei einer hohen Radikalenbelastung (Ursini F, 1987) (Thomas JP, 1990). Nur durch die Verbindung zweier Radikale oder durch das Eingreifen von Antioxidan-

ten findet eine Unterbrechung dieser Oxidationsvorgänge statt (Halliwell B, 1989).

**Abb. 3: Entstehung von Sauerstoffradikalen bei der Energiegewinnung im Mitochondrium (Ames BN, 1993)**



Die permanente Bildung dieser radikalen Sauerstoffspezies (Sauerstoffradikale, freie Radikale) bei der Energiegewinnung in den Mitochondrien stellt demnach eine ständige Bedrohung für das Überleben der Zellen aller Organe dar. Daraus wird deutlich, daß der Sauerstoff einen ebenso lebensnotwendigen, wie tödlichen Effekt auf die Zellen ausübt. Auf der einen Seite ist er zur Energiegewinnung unabdingbar, auf der anderen Seite bedroht er dabei ihr Überleben durch die laufende Bildung dieser zelltoxischen Sauerstoffradikale. Zur Lösung dieses Problems entwickelte der Organismus die *antioxidative Abwehr*.

Die essentielle Aufgabe der hierfür eingebundenen GPx ist die Erhaltung eines geregelten Gleichgewichtes zwischen Bildung und Neutralisierung der Sauerstoffradikale. Verschiebt sich diese fein geregelte Balance - das *Redox-Gleichgewicht* (Redox = Reduktion-Oxidation) - zugunsten einer verstärkten Radikalenbildung, entsteht der sogenannte *oxidative Streß* (Sies H, 1995, 1998).

Die vier bisher bekannten GPx besitzen unterschiedliche Aufgaben:

Zur Aufrechterhaltung eines Redox-Gleichgewichtes im Zytosol ist vorrangig die *zytosolische GPx* (cGPx) zuständig. Sie wurde bisher am besten untersucht und als ein wichtiges Enzym der Erythrozyten erkannt (Mills GC, 1957).

In allen Geweben von Säugetieren, in denen *verstärkt oxidative Prozesse* ablaufen, konnte sie in hoher Konzentration nachgewiesen werden (Behne D, 2000).



Eine besonders starke Anreicherung der cGPx findet sich deshalb in Schilddrüse, Erythrozyten, Thrombozyten, Phagozyten und Leberzellen.

In den *Erythrozyten* schützt sie die Membranen vor Oxidation, in den *Thrombozyten* greift sie in den Arachidonsäure-Stoffwechsel ein. Wie schon erwähnt, soll ihr Mangel zu einer verringerten Herstellung der *vasodilatatorisch wirkenden Prostacycline*, sowie zur verstärkten Bildung der *aggregatorisch wirksamen Thromboxane* führen (Rayman MP, 2000 b)).

Außerdem übt sie - zusammen mit der *plasmatischen GPx* (pGPx) - einen dämpfenden Effekt auf den Prostaglandin-Leukotrien-Stoffwechsel aus. Daraus resultiert ihre *antiinflammatorische Wirkung* bei akuten wie chronischen Entzündungsprozessen (siehe Kap. 5.3 und Abb. 15) (Néve J, 1995, 1996).

Die *Phospholipid-GPx* (PH-GPx) wird vor allem in endokrinen Geweben und Reproduktionsorganen exprimiert, kann aber auch Cholesterol-Hydroperoxide bzw. Hydroperoxid-Gruppen in peroxidierten Phosphatiden in allen Membranen reduzieren (Maiorino M, 1992). Diese Erkenntnis lieferte eine Erklärung für die synergistischen Wirkungen unter Selen und Vit. E (Ursini F, 1995) (Maiorino M, 1992) (Diplock AT, 1994). Bei verringerter Aktivität dieses Schutzsystems fallen hochtoxische Produkte der Lipidperoxidase wie *Isoprostanen* und *Malondialdehyd* an, die als Mediatoren bei der Entstehung von zahlreichen klinischen Funktionsstörungen maßgeblich mitbeteiligt sind. Dies gilt beispielsweise für *akute Pankreatitis, akutes Nierenversagen, ARDS, Hämolyse, Herz-Kreislauf-Erkrankungen* und *postischämischen Gewebeschäden* (Diplock AT, 1994) (Ben Baouali A, 1994) (Youn YK, 1991).

Malondialdehyd stellt als ein Endprodukt der Lipidoxidation von Polyenfettsäuren einen indirekten Marker für die Aktivität von Antioxidantien dar (Herzfeld A, 1991).

*Lipidoxidationen* gelten immer mehr als auslösende und wesentliche Risikofaktoren für die Entstehung von Arteriosklerose (Salonen JT, 1988) (Sevian A, 1997). Da an diesen Vorgängen immer Sauerstoffradikale ursächlich mitbeteiligt sind, wird angenommen, daß das *Protein P* dem Schutz der Endothelzellen vor freien Radikalen in den Gefäßen dient.

Die Bedeutung der *intestinalen* GPx (iGPx) bleibt bislang über weite Strecken noch ungeklärt. Sie kommt v. a. im Darm, in der Leber und pathologisch auch in Mammakarzinomzellen (Chu FF, 1999) vor. Man nimmt an, daß sie vor Sauerstoffradikalen aus der Nahrung schützt und an der Redox-Regulation bei *Zellreplikation* und *Apoptose* im Darm wesentlich beteiligt ist (Brigelius-Flohé R, 2001) (Wringler K, 1999 a) b) c)).

### **2.2.2 Selenoprotein P**

Ein Molekül Selenoprotein P enthält 10 Selenocysteine und ist quantitativ das am meisten im Plasma vorkommende Selenoprotein. Es enthält etwa 60 % des Plasma-Selens (Wilson DS, 1993). Früher wurde angenommen, es stelle nur ein Transportprotein für Selen dar. Heute geht man davon aus, daß es sich ebenso um ein Enzym handelt, welches das Gefäßendothel vor oxidativem Streß schützen kann, indem es die *Peroxidation der polyungesättigten Fettsäuren in Lipiden* hemmt. Außerdem ist es an der *Umverteilung* des Selens und an seinem Transport in die einzelnen Organe beteiligt. Seine genaue Bedeutung konnte jedoch auch noch nicht detailliert nachgewiesen werden (Brown KM, 2001).

### **2.2.3 Thioredoxin-Reduktase (TxR)**

Die TxR kommt ausschließlich intrazellulär bzw. intranukleär vor. Sie gehört zu einem Enzymsystem, das bei der Replikation die Bausteine der DNA-Synthese - die desoxy-Ribonukleotide - zur Verfügung stellt. Es reduziert die Ribose in Nukleosid-Diphosphaten zu desoxy-Ribose. Dieses Enzymsystem besteht aus der Ribonukleotid-Reductase, dem Thioredoxin und der TxR (Follmann H, 1995-1996) (Aslund F, 1999).

Alle diese Peroxidasen sind in Protein-Schwefeldisulfid-Austauschreaktionen involviert. Sie tragen zur *Proteinfaltung* und zur Stabilisierung deren dreidimensionaler Struktur bei. Weiterhin ist bekannt, daß sie an der Aktivierung von Steroidhormonrezeptoren sowie des Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B beteiligt sind. Es ließen sich bislang jedoch bei weitem noch nicht alle ihrer komplexen Aufgaben

klären (Flohé L, 1997 a)). Selbst im gut untersuchten E-Coli-Metabolismus sind ihre eigentlichen Aufgaben noch unklar (Aslund F, 1999). Für Säugetiere besitzen sie eine vitale Bedeutung. Beispielsweise führt die Abwesenheit des TxR-Gens bei Knock-out-Mäusen zu *fetaler Letalität* (Matsui M, 1996).

Alle biologischen Funktionen der TxR bleiben in einem *milden* Selenmangel unbeeinflusst. Erst bei einem *starken* Selenmangel kommt es zu deren Funktionsbeeinträchtigung. Es wird angenommen, daß der Grund dafür in der Existenz einer Hierarchie in der Selenzuteilung auf die verschiedenen Enzymsysteme liegt, auf den in Kapitel 5.5 noch näher eingegangen wird. So stehen die TxR wohl prioritär mit an der Spitze der selenabhängigen Enzyme und werden bei Selenmangel vorrangig durch Umverteilung zu Ungunsten anderer, untergeordneterer Enzymsysteme mit dem Spurenelement versorgt .

#### **2.2.4 Deiodasen**

Für die *Deiodierung von Schilddrüsenhormonen* stehen drei verschiedene Deiodasen zur Verfügung. Alle Deiodasen benötigen Selen im aktiven Zentrum (St. Germein DL, 1997).

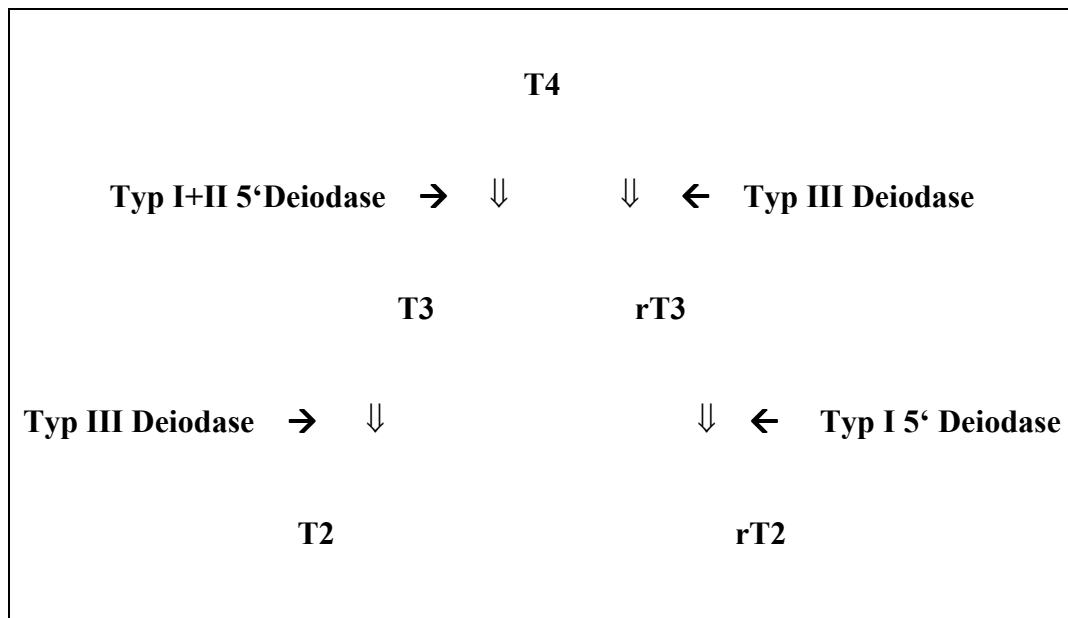
Die *Typ I 5'-Deiodase* katalysiert als wichtigstes Enzym in Schilddrüse, Leber, Niere, Hypophyse sowie im ZNS die Umwandlung von  $T_4$  zu  $T_3$  und den Abbau von  $rT_3$  zu  $3,3'-T_2$ . Sie ist damit an der Produktion des *aktiven Schilddrüsenhormons*  $T_3$  maßgeblich beteiligt.

Die *Typ II 5'-Deiodase* katalysiert ebenfalls die Deiodierung von  $T_4$  zum aktiven  $T_3$  und wird vor allem bei der Hypothyreose im ZNS, in der Hypophyse sowie in der Plazenta exprimiert.

Die *Typ III 5-Deiodase* katalysiert die Inaktivierung von  $T_4$  zum inaktiven  $rT_3$  und den Abbau von  $T_3$ , vor allem zum  $3,3'-T_2$ . Sie wird fast überall im Körper exprimiert.

Die Aktivität der Deiodasen wird reguliert über die Wirkung von TSH, der Schilddrüsenhormone, durch Kälte, ein erhöhtes Kohlenhydratangebot sowie Selen. Ihre Enzymaktivität nimmt ab durch die Wirkung einiger Zytokine, beim Fasten und bei schweren Allgemeinkrankheiten (Nieder-T3-Syndrom). Schließlich besitzen noch *Propylthiouracil* und iodierte, gallengängige Röntgenkontrastmittel wie *Iopan-Säure* eine hemmende Wirkung auf die Deiodasen und damit auf die periphere Konversion von T<sub>4</sub> zu T<sub>3</sub>.

**Abb. 4: Abbauwege der Schilddrüsenhormone**



Allerdings kommt es nur im extrem ausgeprägten Selenmangel infolge einer verminderten Deiodasenaktivität zu einer verminderten Konversion von T<sub>4</sub> zu T<sub>3</sub> (siehe Kap. 5.5). Jedoch führt nur ein gleichzeitig bestehender Iodmangel in diesem Fall zur Entstehung einer Hypothyreose (siehe Kap. 2.4).

### 2.3 Autoimmunthyreoiditis (AIT)

Den Autoimmunerkrankungen der Schilddrüse gemein ist die Infiltration des Organes mit *dentritischen Zellen*, *Plasmazellen* und *Lymphozyten* sowie die Produktion von *Autoantikörpern* gegen spezifische Antigene der Schilddrüse. Diese Autoantikörper sind jedoch *nicht* primär für die Auslösung der Erkrankung verantwortlich, sondern deren Folge, selbst wenn sie dann die Funktionsstörungen doch teilweise mitverursachen. Je nach Antigen und Epitop können sie entweder die Schilddrüsenfunktion *stimulieren* oder *blockieren*, als auch die *Iodaufnahme hemmen*.

Normalerweise entwickelt jeder Organismus eine *Toleranz* gegenüber Eigen-Antigenen. Sie wird in der Embryonalzeit im Thymus erlernt und mit Hilfe von Gedächtniszellen, den sogenannten *memory cells* lebenslanglich aufrechterhalten. Erst bei *Verlust dieser Toleranz* kommt es zu autoimmunen Erkrankungen, jedoch wohl nur unter der Voraussetzung einer gleichzeitig bestehenden *genetischen Disposition*. So treten bei Patienten mit bestimmten HLA-Subtypen im Laufe ihres Lebens öfter Autoimmunerkrankungen auf, als bei der Normalbevölkerung. Es besteht z.B. eine gehäufte Assoziation von HLA-DR3 und DR5 mit AIT, immunogener Hyperthyreose, Sjögren und Myasthenie, von HLA-Dw5 mit perniziöser Anämie und HLA-Bw35 mit subakuter Thyreoiditis.

In einer Zwillingsstudie wurde gezeigt, daß eine genetische Disposition allein jedoch nicht zwangsläufig zu einer Erkrankung führen muß. Zu deren Auslösung kommt es erst im *Zusammenspiel* mit zusätzlichen Faktoren wie *viralen Infektionen*, *Iod in hohen Dosen*, *Sexualhormonen* sowie *negativem Streß*. Immunstimulierende Medikamente wie *Interferon- $\alpha$*  (IF- $\alpha$ ) oder *Interleukin-2* (IL-2) lösen bei ca. 20 % der behandelten Patienten eine zumeist reversible AIT aus. Etwa 10 % der Kinder mit Down-Syndrom bekommen eine subklinische oder manifeste Hypothyreose infolge einer AIT. Frauen erkranken etwa 8-10mal häufiger als Männer. Infolge eines *Östrogen-Gestagen-Ungleichgewichtes* bei Östrogenüberschuß manifestiert sie sich gehäuft *postpartal* oder *perimenopausal*.

Am Anfang jeder Immunreaktion steht die *Präsentation eines Antigenpartikels*. Das Antigen wird normalerweise von einer Immunzelle wie einem *Makrophagen* oder einer *dentritischen Zelle* aufgenommen, in kleine, aus 12-20 Aminosäuren

bestehende Peptide zerlegt und als Epitope auf deren Zelloberfläche zusammen mit *MHC Klasse II-Molekülen* als bimolekularer Komplex exprimiert. *CD4-positive T-Zellen* binden dann an die *MHC Klasse II-Moleküle*, der *T-Zell-Antigen-Rezeptor* an das Epitop. Um die T-Zellen ihrerseits zu aktivieren, sind weitere Faktoren wie *ICAM-1* (intercellular adhesion protein1) und *LFA-1* (lymphocyte functional antigen 1) notwendig. Kofaktoren wie *B7*, *CD28* oder *CTLA-4* werden insbesondere zur Aktivierung von denjenigen T-Lymphozyten benötigt, die bis dahin noch nicht mit dem Antigen in Berührung gekommen waren.

Bei der AIT sind es im Besonderen die *Thyreozyten* selbst, die die Rolle der Antigenpräsentation übernehmen (Weetman A, 1994). Sie präsentieren wie Immunzellen die *Antigenpartikel* zusammen mit *MHC Klasse II-Molekülen* auf ihrer eigenen Oberfläche. Voraussetzung hierfür ist jedoch eine Stimulation der Thyreozyten durch das Chemokin *Interferon (IFN)- $\gamma$* , welches von aktivierten *dendritischen Zellen* sezerniert wird (Weetman A, 1994).

Die Präsentation der Thyreozyten von *MHC-Klasse II-Molekülen* stellt demnach nicht den Initialschritt in der Autoimmunreaktion dar. Sie geschieht wohl erst in Folge einer von den *dendritischen Zellen* ausgehenden primären Aktivierung durch deren Sekretion von *IFN- $\gamma$* , nachdem die *dendritischen Zellen* selbst z.B. durch *Viren* aktiviert worden sind.

Bei dem Autoimmunprozeß beteiligen sich nicht nur *zelluläre*, sondern ebenso *humorale Mechanismen* an der Gewebsdestruktion. Die humoralen Antikörper - gegen die Schilddrüsenperoxidase (TPO-AK) und gegen das Thyreoglobulin (TGAK) - werden von *polyklonalen B-Zellen* gebildet, die sich im Verlauf einer AIT nicht nur in der Schilddrüse selbst, sondern auch in Lymphknoten und Knochenmark vorfinden.

Für die B-Zell-Aktivierung sorgen sowohl *dendritische Zellen* und ihrerseits schon aktivierte *T-Lymphozyten*, als auch die *Cytokine IL-6* und *IL-13*.

Des Weiteren finden sich *Komplement-Komplexe* um diejenigen Thyreozyten gruppiert, an denen schon gebundene *TPO-Antikörper* haften. Eine Komplement-Aktivierung durch die TPO-Antikörper wäre prinzipiell möglich, jedoch besteht keine Korrelation zwischen der im Serum nachweisbaren Komplement-

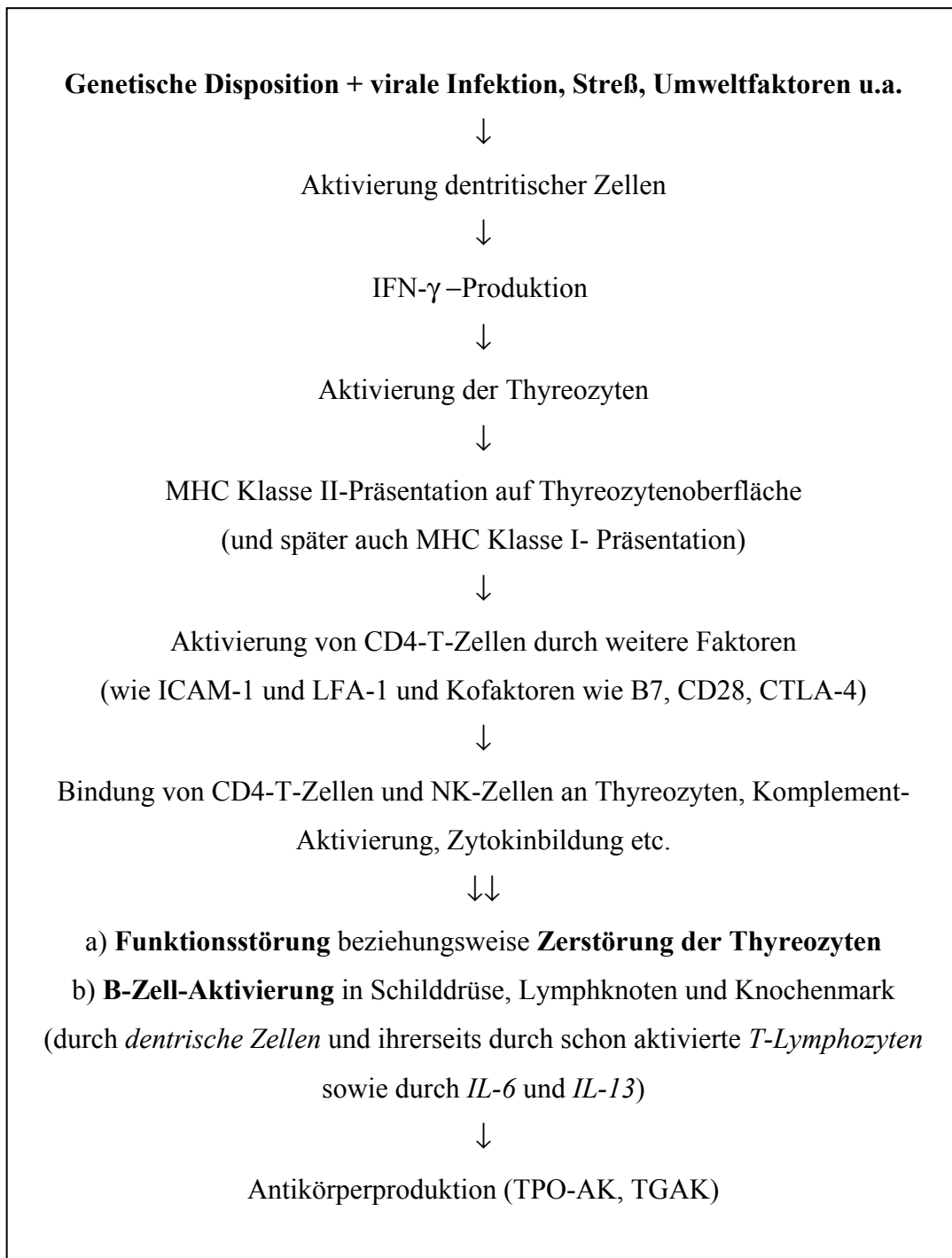
Aktivierung und diesen Komplement-Komplexen. Somit spielen sehr wahrscheinlich noch andere Faktoren mit. Dabei verläuft die Bindung von Komplement-Komplexen an die Thyreozyten nicht zwangsläufig letal für die Thyreozyten, trägt aber durch die Freisetzung von *proinflammatorischen Molekülen* wie *IL-1*, *IL-6*, *Prostaglandin E2* sowie durch *reaktive Sauerstoffradikale* zur Entstehung der Entzündungsreaktion mit bei. Darüber hinaus können diese Komplement-Komplexe obendrein die TSH-Antwort hemmen, wodurch sich teilweise die *Hypothyreose* und *Organatrophie* erklären läßt. Zusätzlich können „*Natural killer*“ (NK)-Zellen die mit Antikörpern besetzten Thyreozyten erkennen und zerstören. Die infiltrierenden *T-Lymphozyten* produzieren ihrerseits wiederum eine Reihe von Zytokinen wie *IFN- $\gamma$* , *IL-2*, *IL-4*, *IL-6* sowie *Tumor Nekrose Faktor- $\alpha$*  (*TNF- $\alpha$* ). Diese beeinträchtigen die Thyreozyten nicht nur wiederum in ihrer Funktion, sondern veranlassen sie daraufhin auch zur Präsentation von *MHC Klasse I-Molekülen* auf deren Oberfläche. Das zieht eine Lyse der mit MHC Klasse I-Molekülen markierten Thyreozyten durch *zyto-toxische T-Zellen* mit Hilfe zytolytischer Chemokine wie *Perforin* und *Granzyme* nach sich. Außerdem induzieren die Zytokine der T-Lymphozyten bei den Thyreozyten die Sekretion einer Reihe anderer Zytokine wie *IL-1*, *IL-6*, *IL-10* und *Stickoxyd (NO)* sowie ebenfalls die *Expression von MHC Klasse II-Molekülen*. Obendrein verfügen die *zytotoxischen T-Zellen* über den an den *Fas Rezeptor* bindenden „*Fas Liganden*“ und besitzen damit die Fähigkeit zur Auslösung einer *Apoptose der Thyreozyten*.

Dieser so in Gang gekommene, oft *überschießend* verlaufende Prozeß, kann sich verselbstständigen und chronifizieren. Wie schon erwähnt, führt er nur bei Patienten mit genetischer Veranlagung zur Entwicklung einer organspezifischen Autoimmunerkrankung. Ob dabei die verminderte Anzahl von *T-Suppressorzellen*, die in der Anfangsphase einer AIT beobachtet werden, mit beitragen, bleibt noch unklar. Nach länger bestehendem Krankheitsgeschehen normalisiert sich ihre Anzahl jedenfalls wieder, obwohl die Entzündungsreaktion voranschreitet.

Aus dieser stark vereinfachten Beschreibung von äußerst kompliziert vernetzten Interaktionen bei der Autoimmunantwort wird die Komplexität der Mechanismen bei der Auslösung und Aufrechterhaltung einer AIT deutlich. Eine exakte Zuordnung der quantitativ wichtigsten Mechanismen ist nicht möglich. Erschwerend

hinzukommt, daß Umwelteinflüsse und Streßbelastung zusätzlich in die Immunreaktionen eingreifen (Weetman A, 1994). Eine therapeutische Intervention gestaltet sich deshalb als überaus schwierig, so daß es bislang noch keinen sinnvollen Therapieansatz gibt.

**Mechanismen im Überblick bei der Auslösung des Autoimmunprozesses bei der AIT (Weetman A, 1994):**





## 2.4 Selenmangel und Thyreoiditis

Ein mit Iodmangel kombinierter Selenmangel führt zur erhöhten Inzidenz eines *myxödematösen Kretinismus*. Diese Erkrankung ist, im Gegensatz zum *neurologischen Kretinismus*, durch eine ausgeprägte, auch nach der Geburt persistierenden Hypothyreose und ohne Entwicklung einer Struma charakterisiert.

Histologisch zeigt sich bei diesen Patienten eine *fibrosierende Thyreoiditis*. Die kombinierte Substitution der betroffenen Kinder mit *Iodid* und *Selen* verhindert die Entwicklung des myxödimatösen Kretinismus, wo hingegen die alleinige Substitution mit Iodid die Destruktion der Schilddrüse verstärkt (Contempre B, 1992, 1995).

In tierexperimentellen Untersuchungen wurde gezeigt, daß wegen einer im Selenmangel verminderten cGPx-Aktivität im Thyreozyten die physiologisch während der Schilddrüsen-Hormonsynthese entstehenden Mengen an  $H_2O_2$  nicht ausreichend reduziert werden können. Dieser Prozeß wird im Iodmangel durch erhöhte TSH-Stimulation noch zusätzlich verstärkt. Die Folge ist eine Zerstörung der Thyreozyten und die Entstehung einer *atrophisch fibrosierenden Thyreoiditis* (Contempre B, 1996).

Analog dazu könnte unter der Voraussetzung einer gleichzeitig bestehenden genetischen Disposition für Autoimmunerkrankungen auch in einem mäßig ausgeprägten Selen- und Iodmangel der *Zelluntergang von Thyreozyten* die *dentritischen Zellen* aktivieren und somit den oben erklärten Mechanismus der Auslösung und Perpetuierung einer AIT erklären. Dies stellt eine der Theorien dar, warum eine Selensubstitution die Entzündungsreaktion einer AIT verringern bzw. deren Entstehung primär eventuell sogar verhindern könnte.

Diese Theorie wird von neuen Untersuchungen unterstützt, wo bei keimfrei gehaltenen Double-knockout-Mäusen (GPx-DKO), die weder cGPx noch iGPx exprimieren können, spontan eine *Ileocolitis* entsteht. Sie beginnt mit einer Zerstörung des Darmepithels durch intrazellulär gebildete Radikale, aber nur dann, wenn sie unter *psychischen Streß* gesetzt wurden. Bei Abwesenheit von Streß im keimfreien Umfeld erkrankten sie nicht (Esworthy RS, 2001).

## 2.5 Zielsetzung

Wir stellten die Hypothese auf, daß eine Selensubstitution bei Patienten mit AIT, die in Gebieten mit einem endemischen, milden Selenmangel leben, den Krankheitsverlauf günstig beeinflussen kann.

Zur Überprüfung dieser Hypothese führten wir eine prospektive, randomisierte und einfach geblindete, placebokontrollierte Studie durch. Die Patienten erhielten entweder 200 µg Na-Selenit oder Placebo über einen Zeitraum von 3 Monaten.

*Primäres Studienziel war der Verlauf der*

- Thyreoperoxidasen-Antikörper-Konzentration (TPO-AK)

*Sekundäre Studienziele waren:*

- Thyreoglobulin-Antikörper-Konzentration (TGAK)
- Schilddrüsenparameter FT4, FT3, bTSH
- Sonographisches Muster und Perfusion der Schilddrüse (Duplex)
- Änderungen des subjektiven Wohlbefindens der Patientinnen in Bezug auf Allgemeinbefinden, Stimmungslage und Energie.

Dabei sollte auch geklärt werden, ob Selen über einen stimulierenden Einfluß auf das Immunsystem die Autoantikörperbildung eher anregt, oder sie durch einen entzündungshemmenden Einfluß vielmehr zur Rückbildung bringt.

### **3. MATERIAL UND METHODEN**

#### **3.1 Studiendesign**

Es handelt sich bei dieser Studie um eine geblindete, prospektive, randomisierte, placebokontrollierte, klinische „Intention to treat“-Pilotstudie, die in der Endokrinologischen Ambulanz der Medizinischen Klinik, Ziemssenstr.1, der Ludwig-Maximilian-Universität München durchgeführt wurde.

##### **3.1.1 Einschluß- und Ausschlußkriterien**

Eingeschlossenen in die Studie wurden Patientinnen mit Autoimmunthyreoiditis, die ansonsten gesund waren, TPO-AK und/oder TGAK-Konzentrationen  $>350$  IU/ml im Serum nachweisbar hatten und sich an der Studienteilnahme nach eingehender Aufklärung über die Studienziele und Nebenwirkungen von Selen einverstanden erklärten.

Nicht eingeschlossen wurden Patientinnen unter 18 oder über 65 Jahren, solche mit schweren Allgemeinerkrankungen oder Schwangere bzw. Patientinnen, die einer Teilnahme nicht zustimmten.

Ausgeschlossen waren ebenfalls mit entzündungshemmenden Medikamenten (Glukokortikoide, Interferon etc.) behandelte sowie multimorbide Patientinnen.

Die Diagnose der Autoimmunthyreoiditis wurde anhand der typischen Anamnese, Klinik, sowie des echoarmen Ultraschallmusters und positiven Autoantikörpern gestellt.

*Primäres Studienziel war der Verlauf der*

- Thyreoperoxidasen-Antikörper-Konzentration (TPO-AK).

*Sekundäres Studienziel:*

- Thyreoglobulin-Antikörper-Konzentration (TGAK)

- Schilddrüsenparameter FT4, FT3, bTSH

- Sonographisches Muster und Perfusion der Schilddrüse (Duplex) und
- Änderungen des subjektiven Wohlbefindens der Patientinnen in Bezug auf Allgemeinbefinden, Stimmungslage und Energie (SF 12-Fragebogen).

### **3.1.2 Stratifizierung**

Es wurden insgesamt 71 Patientinnen stratifiziert und in zwei vergleichbare Gruppen aufgeteilt, von denen die eine *Selen* und die andere *Placebo* erhielt. Wegen Schwangerschaft wurde eine Patientin aus der Studie ausgeschieden, so daß letztendlich 70 Patientinnen eingeschlossen blieben, von denen 36 Selen und 34 Placebo erhielten.

Die Patientinnen wurden jeweils in 2 Altersgruppen unterteilt, in eine mit den Patientinnen unter 45 Jahren und in eine, deren Alter bei 45 und darüber lag. Zur Randomisierung erfolgte eine Bildung von Paaren mit vergleichbarer TPO-AK-Konzentration und zugehöriger Altersgruppe. Nach dem Zufallsverfahren wurde jeweils eine Partnerin der mit Selen substituierten Gruppe einer anderen aus der Placebogruppe gegenübergestellt.

Zur prospektiven Datenerfassung wurden während des gesamten Untersuchungszeitraumes, neben einer organisierten Datensammlung, die Probenentnahmen sichergestellt.

### **3.1.3 Behandlung**

Die Therapie der Patientinnen der Selen(+)-Gruppe erfolgte mit dem Präparat Selenase 100 peroral<sup>®</sup> der Firma biosyn Arzneimittel GmbH, welches 100 µg Selen als Natriumselenit 5 H<sub>2</sub>O in 0,9 %iger Natriumchlorid-Lösung enthält. Das Präparat wurde von der Firma zur Verfügung gestellt.

Die Dosierung betrug 200 µg Natriumselenit pro Tag über einen Zeitspanne von 3 Monaten. Die Placebogruppe erhielt 2 weiße Placebotabletten. Wir baten die Patientinnen um eine Einnahme der Studienmedikation mit Wasser im Abstand

von 2 Stunden nach einer Mahlzeit sowie um den Verzicht auf andere Spurenelemente oder Vitamine während der gesamten Studiendauer.

Des Weiteren erhielten alle Patientinnen in diesem Zeitraum eine Hormonsubstitution mit L-Thyroxin in einer die Euthyreose aufrechterhaltenden Dosierung.

### **3.1.4 Apparative Diagnostik**

Ultraschall- und farbkodierte Dopplersonographie dienten zur Dokumentation von Echogenität und Perfusion der Schilddrüse vor Studienbeginn und nach dreimonatiger Therapie mit der Studienmedikation. Die Echoarmut der Gesamtschilddrüse ist ein spezifisches Kriterium für das Vorliegen einer AIT. Es hat eine Spezifität von über 95% und eine Sensivität von 80%. Der Grad der Perfusion spiegelt die Entzündungsaktivität der Erkrankung wider (Hayashi N, 1986) (Hegedus L, 2001).

### **3.1.5 Fragebogen SF 12**

Mit Hilfe des standardisierten Fragebogens SF 12 wurden sowohl zu Studienbeginn, als auch nach dreimonatiger Therapie die Lebensqualität erfragt und verglichen. Der Fragebogen enthält die Beschreibung des subjektiven Befindens, Sozialverhaltens, der Leistungsfähigkeit und Verfassung der Patientinnen, d.h. Fragen in Bezug auf:

1. den Gesundheitszustand im Allgemeinen,
2. die Fähigkeit zur Verrichtung mittelschwerer Tätigkeiten (Staubsaugen, Tisch verschieben, Golf spielen, kegeln),
3. die Fähigkeit, mehrere Treppenabsätze zu steigen,
4. Schwierigkeiten bei der Verrichtung alltäglicher Arbeiten im Beruf und zu Hause aufgrund seelischer Probleme,
5. die Verfassung (ruhig und gelassen, voller Energie, entmutigt und traurig),

6. die Beeinträchtigung der sozialen Kontakte durch körperliche oder seelische Probleme,
7. die körperliche Leistungsfähigkeit (schnell rennen, joggen, schnell spazierengehen, langsam gehen, unfähig zu gehen),
8. die Stimmung in den vorausgegangenen 2 Wochen (ängstlich, deprimiert, traurig, reizbar, niedergeschlagen),
9. Schwierigkeiten bei der Verrichtung täglicher Aufgaben in den vorherigen 2 Wochen
10. Kontakte zu Mitmenschen während der vorausgegangenen 2 Wochen
11. Veränderung des Gesundheitszustandes im Vergleich zu 2 Wochen vorher,
12. den allgemeinen Gesundheitszustand in den vorangegangenen 2 Wochen

## **3.2 Laborparameter**

### **3.2.1 Schilddrüsen-Autoantikörper**

Blutproben wurden zu Studienbeginn und nach dreimonatiger Therapie entnommen.

Die Plasmakonzentrationen der TPO-AK und TGAK wurden mit dem im Handel erhältlichen Enzymluminiszenz Assay (Byk-Sangtec) gemessen.

Bei diesem Test handelt es sich um den Sandwichtest LIAISON® Anti-TPO, einem zweiseitigen immunluminometrischen Assay. Für die Beschichtung der Festphase (Magnetpartikel) wird TPO-Antigen (rekombinant), und für den Tracer werden polyclonale Antihuman-IgG-Antikörper verwendet.

Nach der automatischen Vorverdünnung von Patientenproben, Kalibratoren und Kontrollen werden während der ersten Inkubation die in Probe und Kalibrator enthaltenen Anti-TPO-Antikörper von dem auf der Festphase immobilisierten rekombinanten TPO gebunden. Ungebundenes Material wird in einem Waschzyklus entfernt.

In der zweiten Inkubation reagiert der Tracer-Antikörper mit den bereits gebundenen Anti-TPO-Antikörpern. Der Tracerüberschuß wird in einem zweiten Waschzyklus entfernt.

Die Messung erfolgt durch Zugabe der Starterreagentien. Mittels der induzierten Chemilumineszenzreaktion werden die Anti-TPO-AK-Testergebnisse erzeugt. Das in RLUs (relative light units) gemessene Lichtsignal ist direkt proportional zur Anti-TPO-AK-Konzentration der Probe (Byk.Syngtec Diagnostica, Ref: 311.701).

### **3.2.2 Selenbestimmung**

Die beste Methode zur Erfassung des Selenstatus ist die Messung von Selen im Serum (Néve J, 1991), da die Selenkonzentration sowohl mit der GPx-Aktivität, als auch mit der Aufnahme über die Nahrung korreliert (Alfthan G, 2000).

Die Aussagekraft der Selenbestimmung in anderen Kompartimenten (Urin, Haare) ist aufgrund zahlreicher Störeinflüsse weniger geeignet (Néve J, 2000).

Bei jeder Blutabnahme, d.h. vor Therapiebeginn und nach 3 Monaten Selen-substitution, wurden jeweils 2 Monovetten® von 9 ml Vollblut mit Trenngel zur Gewinnung von Serum aufgezogen. Die Abnahme erfolgte mit Stahlkanülen direkt aus einem venösen Blutgefäß. Das System zur Blutabnahme stammte von der Firma Sarstett.

Die Blutproben wurden sofort nach Abnahme der Weiterverarbeitung zugeführt, so daß die Zeit zwischen der Probengewinnung und dem Beginn der Probenaufarbeitung maximal eine Stunde betrug. Die Proben für Serum und Plasma wurden bei 4000 U/min 6 Minuten lang zentrifugiert, das Serum und das Plasma aliquotiert, bei einer Temperatur von -40°C eingefroren und erst zur Untersuchung wieder aufgetaut.

Die Proben, die zur Untersuchung auf den Selengehalt außer Haus gegeben werden mußten, wurden zur Verschickung in Trockeneis gepackt und ohne Unterbrechung der Kühlkette nach Ankunft im weiterverarbeitenden Labor sofort wieder bei einer Temperatur von -30°C gelagert.

Die Messung der Selenkonzentration im Serum wurde freundlicherweise im firmeneigenen Labor von GN-Pharm in Fellbach in den geblindeten Proben durchgeführt. Hierbei wurde das gesamte Selen gemessen, sowohl das freie, als

auch das an Albumin und das an Selenoproteine wie an die Glutathionperoxidase, Typ I-Iodthyronin-5'-Deiodase und an das Selenoprotein P gebundene.

Als Meßmethode diente die elektrothermale Messung im Graphitrohr mit einem Atom-Absorption-Spektrometer Z 8100, Autosampler SSC 200 der Firma Hitachi (Tiran B, 1993). Die Berechnung des Wertes erfolgte über eine einfache, externe Standardaddition mit BKG-Korrektur aktiv.

Die verwendeten Reagentien: Se-Standardlösung 1 g/L (Merk), HNO<sub>3</sub> suprapur (Merk), Triron x-100, Pd Modifier, Rhodiumnitrat, 700 µL RH-Nitrat + 5 mL mit aqua bidest. Zur Vermeidung eines frühzeitigen Verlustes durch Atomisation wurde ein Palladiummodifier (PdCl<sub>2</sub>) verwendet.

### **3.2.3 Schilddrüsenparameter**

Sowohl die Konzentrationen des FT<sub>4</sub> und des FT<sub>3</sub>, als auch des TSH wurden ebenfalls mit den kommerziellen Enzymlumineszenz Assays der Firma Byk-Sangtec bestimmt.

Diese Tests laufen vollautomatisch auf einem ACS:180 der Firma Chiron Diagnostics. Hierbei handelt es sich um kompetitive Immunoassays. Das Schilddrüsenhormon konkurriert mit Acridiniumester-markiertem Schilddrüsenhormon um die in beschränkter Anzahl zur Verfügung stehenden Bindungsplätze am polyklonalen Kaninchen-anti-Schilddrüsenhormon-Antikörper, der kovalent an paramagnetische Partikel gebunden ist. Je mehr freie Schilddrüsenhormone im Serum vorhanden sind, umso geringer ist die Bindung des markierten Hormons.

TSH wurde ebenfalls auf einem Ciba Corning ACS gemessen. Dies ist ein zweiseitiger Chemilumineszenz (Sandwich) Immunoassay, der eine konstante Menge von zwei verschiedenen Antikörpern verwendet. Der erste Antikörper, beziehungsweise die feste Phase stellt ein polyklonaler Schaf-anti-TSH-Antikörper dar, der kovalent an paramagnetische Partikel gebunden ist. Nach einem Waschschrift wird Maus-Anti-TSH-Antikörper zugegeben, an dem Luciferase gebunden ist. Die Lumineszenz korreliert mit der Menge an TSH.



### **3.3 Statistik**

Die Veränderungen von Antikörper- und Schilddrüsenhormonwerten wurden mit Hilfe des Wilcoxon Matched-paired signed ranks test verglichen.

Zusätzlich verwendeten wir den Students T-test für gepaarte Proben und für Subgruppenanalysen den Chi<sup>2</sup>-Test.

## 4. ERGEBNISTEIL

### 4.1 Charakteristika der Patientinnen zu Beginn der Studie

#### 4.1.1 Allgemeine Charakteristika und Auswahlkriterien der Patientinnen

Von den ursprünglich 110 vorausgewählten Patientinnen erfüllten insgesamt 71 die Einschlußkriterien und wurden in die Studie aufgenommen. Es erfolgte der Ausschluß einer Patientin wegen Schwangerschaft, so daß 70 Probandinnen an der Studie teilnahmen.

Das Durchschnittsalter war in beiden Gruppen untereinander vergleichbar (41.6  $\pm$  12.1 Jahre in der Verumgruppe; 43.0  $\pm$  12.1 Jahre in der Placebogruppe).

**Tab. 4: Patientinnen zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und Aufnahme in die Studie**

	<b>Verum-Gruppe</b>	<b>Placebo-Gruppe</b>	<b>gesamt</b>
Patientinnen insgesamt	36	34	70
Alter (Median (min.-max ))	41,6 $\pm$ 12,1 Jahre	43,0 $\pm$ 12,1 Jahre	

#### 4.1.2 Klinische Parameter und Laborwerte

##### 4.1.2.1 Autoantikörper

Die TPO-Antikörperkonzentrationen waren zu Studienbeginn in beiden Gruppen identisch, da die Randomisierung der Patientinnen primär nach den TPO-AK-

Konzentrationen erfolgt war. Sie betragen  $904 \pm 205$  U/ml in der Verum- versus  $1090 \pm 277$  U/ml in der Placebogruppe.

Die TGAK-Konzentrationen lagen anfangs in der Verumgruppe signifikant höher, als in der Placebogruppe. Sie betragen  $1507 \pm 390$  U/ml versus  $1089 \pm 255$  U/ml in der Placebogruppe ( $p=0.05$ ).

#### **4.1.2.2 Selen**

Die Serum-Selen-Spiegel der Patientinnen waren zu Studienbeginn in beiden Gruppen nahezu gleich hoch, in der Verumgruppe bei  $69 \pm 12$  µg/l und in der Placebogruppe bei  $72 \pm 12$  µg/l.

In der Verum-Gruppe lagen die Serum-Selen-Spiegel zu Studienbeginn bei 19 Patientinnen unterhalb, bei 10 knapp über der Untergrenze der Normwerte (70 - 120 µg/l), bei 6 über 80µg/l bzw. bei 1 Patientin über 90µg/l.

In der Placebo-Gruppe waren die Serumselenwerte zu Studienbeginn vergleichbar niedrig, d.h. mit Serum-Selen-Konzentrationen von  $< 70\mu\text{g/l}$  bei 18 Patientinnen, zwischen 70-80µg/l bei 11 Patientinnen, zwischen 80-90µg/l bei 2 Patientinnen, zwischen 90-100µg/l bei 2 Patientinnen und über 100µg/l bei einer Patientin.

Es bestand keine Korrelation zwischen Selenspiegel und Alter, Geschlecht sowie Ausprägung der Erkrankung. Ebenso zeigte sich kein Zusammenhang zwischen Selen- und Antikörperwerten.

#### **4.1.2.3 Schilddrüsenparameter**

TSH-, FT4- und FT3-Ausgangskonzentrationen waren in beiden Gruppen identisch. Alle Patientinnen befanden sich unter L-Thyroxin-Medikation in einer euthyreoten Stoffwechsellage (siehe Tab. 6).

**Tab. 5: Medianwerte (min.-max.) der Schilddrüsenparameter zu Studieneinschluß**

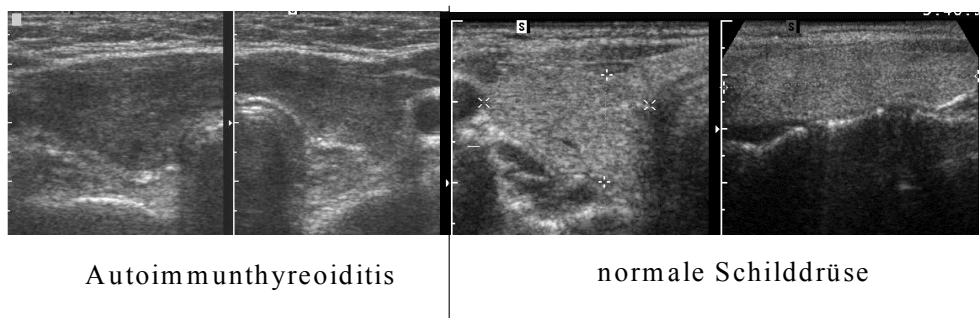
	<b>Serum-Spiegel</b>	<b>Referenzwerte</b>
<b>TSH (µgU/ml):</b>		(0,4 – 4,0)
Verum (n-36)	1,2 ± 1,5	
Placebo (n-34)	1.4 ± 2,0	
<b>FT 4 (ng/dl):</b>		(0,8 – 1,8)
Verum (n-36)	1,4 ± 0,3	
Placebo (n-34)	1,4 ± 0,9	
<b>FT 3 (pg/ml):</b>		(2,3 – 4.3)
Verum (n-36)	3,0 ± 1,0	
Placebo (n-34)	3,0 ± 2,6	

#### 4.1.3 Technische Untersuchung

##### 4.1.3.1 Ultraschall

Bei allen Patientinnen fand sich eine echoarme, bei den meisten eine kleine bis atrophische Schilddrüse. Es gab keine Unterschiede in beiden Gruppen.

**Abb. 5: Ultraschall der Schilddrüse**



## 4.2 Verlauf der Parameter

### 4.2.1 Selen

Unter Selentherapie stiegen die Selen-Serumwerte bei allen 36 Patientinnen signifikant auf  $86 \pm 9.8 \mu\text{g/l}$  ( $p=0.001$ ) an.

In der Placebo-Gruppe verhielten sie sich bis zum Studienende unverändert bei Werten um  $73 \pm 18 \mu\text{g/l}$  (Fig.2).

Nach dreimonatiger Selentherapie konnte ein signifikanter Anstieg auf Serum-Selen-Werte über  $90 \mu\text{g/l}$  Serumselen bei 12 Patientinnen erreicht werden, über  $80 \mu\text{g/l}$  bei 13 Patientinnen und größer  $70 \mu\text{g/l}$  bei 6 Patientinnen.

Nach dreimonatiger Placebothherapie blieben die Serum-Selen-Werte nahezu unverändert verteilt. Sie lagen nach wie vor bei 18 Patientinnen unter  $70 \mu\text{g/l}$ , bei 7 Patientinnen über  $70 \mu\text{g/l}$ , bei 4 Patientinnen über  $80 \mu\text{g/l}$ , bei 2 Patientinnen über  $90 \mu\text{g/l}$  und bei 3 Patientinnen über  $100 \mu\text{g/l}$ .

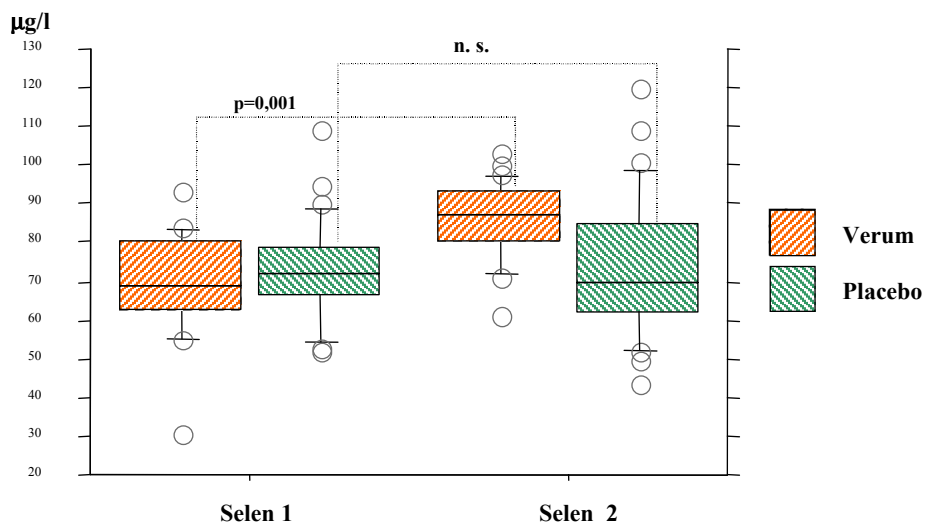
**Tab. 6: Serumselengehalt in  $\mu\text{g/l}$  zu Studienbeginn und -ende im Vergleich**

<b>Serumselen- gehalt in <math>\mu\text{g/l}</math></b>	<b>&lt; 70</b>	<b>70–80</b>	<b>80–90</b>	<b>90–100</b>	<b>100–110</b>	<b>&gt;110</b>
Verum-Gruppe, Studienbeginn.	19	10	6	1	0	0
<b>Verum-Gruppe, Studienende</b>	<b>11</b>	<b>6</b>	<b>13</b>	<b>11</b>	<b>1</b>	<b>0</b>
Placebo-Gruppe, Studienbeginn	18	11	2	2	1	0
<b>Placebo- Gruppe, Studienende</b>	<b>18</b>	<b>7</b>	<b>4</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>0</b>

**Tab. 7: Serum-Selen-Konzentrationen ( $\mu\text{g/l}$ )**

	<b>vorher</b>	<b>nach 3 Monaten Therapie</b>	<b>Signifikanz</b>
<b>Verum</b>	$69 \pm 12$	$86 \pm 9.8$	( $p = 0.001$ )
<b>Placebo</b>	$72 \pm 12$	$73 \pm 18$	(n. s.)

**Abb. 6: Serum -Selen Spiegel vor und nach Therapie**



## 4.2.2 Autoantikörper

### 4.2.2.1 TPO-AK

#### TPO-AK-Verlauf der Selengruppe:

Die zu Studienbeginn nahezu identisch hohe Antikörperkonzentration der TPO-AK der Verumgruppe sank signifikant auf 63.6%, im Vergleich zu den Werten bei Studieneintritt (100%). In absoluten Werten ausgedrückt, sanken sie signifikant

von  $904 \pm 205$  U/ml auf  $575 \pm 146$  U/ml ( $p=0.016$  mit Wilcoxon's matched Paartest gerechnet;  $p=0.015$  mit Student Paartest) (Tab. 8).

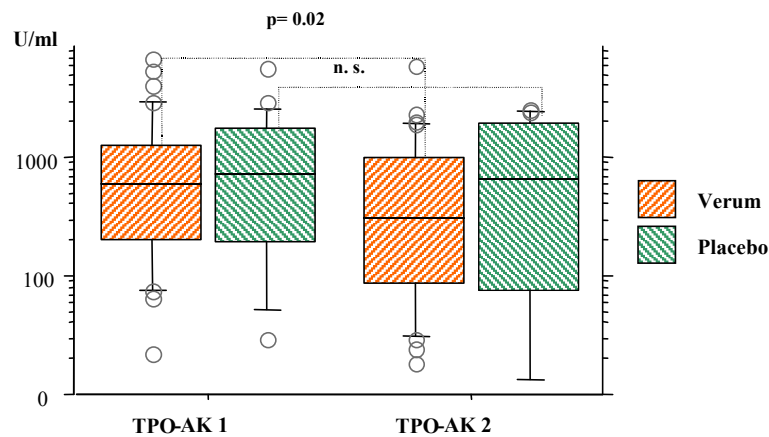
### **TPO-AK-Verlauf der Placebogruppe:**

Bei der TPO-AK-Konzentration der Kontrollgruppe konnte dagegen mit den gleichen Tests keine signifikante Änderung verzeichnet werden. Sie bewegten sich von Anfangswerten von  $1090 \pm 277$  U/ml auf Werte von  $959 \pm 267$  U/ml zu Studienende (Fig.1). Sie sanken insgesamt nur um 12 % (Tab. 8).

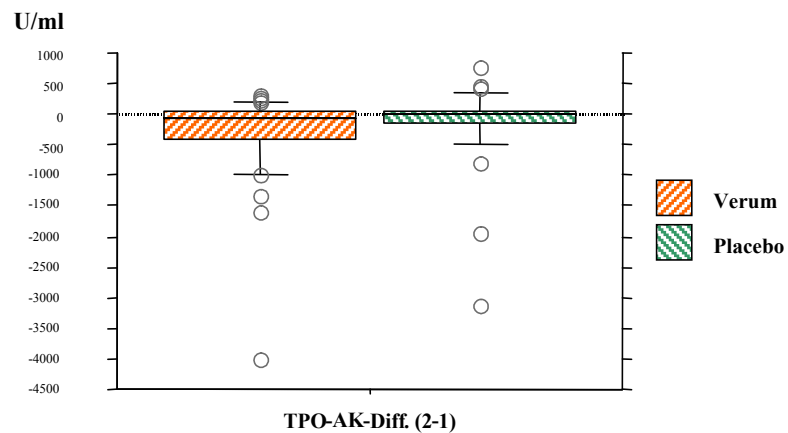
### **Subgruppenanalyse der Patientinnen mit TPO-AK > 1200 U/ml:**

In der Verumgruppe ( $n=12$ ) sanken die TPO-AK von 100% auf 60%,  
In der Placebogruppe ( $n=8$ ) stiegen die TPO-AK von 100% auf 110%.

**Abb. 7: TPO-AK-Spiegel vor und nach Therapie**



**Abb. 8: TPO-AK-Differenz vor und nach Therapie**



#### 4.2.2.2 TGAK

##### **TGAK-Verlauf der Selengruppe:**

Die TGAK-Konzentration der Selengruppe sank nicht signifikant von 100% zu Studienbeginn auf 91.2%, absolut ausgedrückt von einem Durchschnittswert von  $1507 \pm 390$  U/ml auf  $1375 \pm 484$  U/ml ( $p=0.33$ ) (Tab. 8).

##### **TGAK-Verlauf der Placebogruppe:**

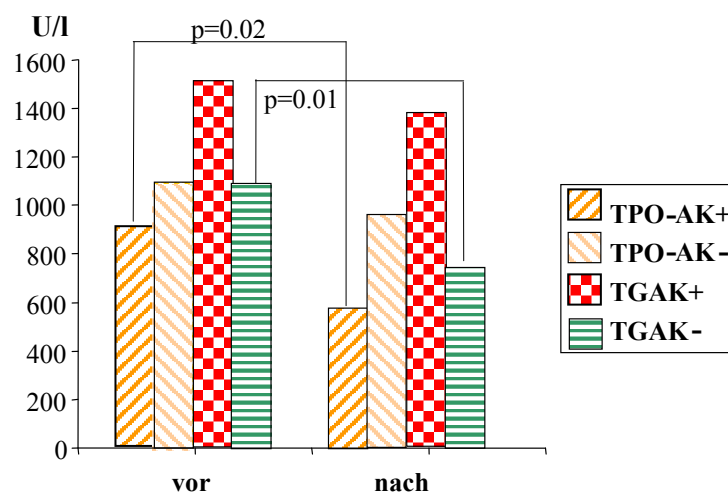
In der Placebogruppe verringerten sich die TGAK-Werte dagegen von  $1089 \pm 225$  U/ml auf  $742 \pm 161$  U/ml ( $p=0.014$ ) mit dem Wilcoxon-Paartest und  $p=0.015$  mit dem gepaarten Student t-Test (Tab. 8).



**Tab. 8: TPO-AK- und TGAK-Verlauf**

Gruppe	vorher	nachher	Signifikanz	AK- Veränderung
<b>TPO-AK</b>				
Verum	904 ± 205	575 ± 146	p = 0.016	-36 %
Placebo	1090 ± 277	959 ± 267	p = 0.75	-12 %
<b>TGAK</b>				
Verum	1507 ± 390	1375 ± 484	p = 0.33	-9 %
Placebo	1089 ± 225	742 ± 161	p = 0.014	-32 %

**Abb. 9: Mittlere TPO -AK- und TGAK-Konzentrationen vor und nach Therapie**



#### 4.2.2.3 Komplette Normalisierung von TPO-AK und TGAK

Eine komplette Normalisierung, d.h. ein Rückgang beider Antikörper auf Werte unter 50 U/ml zeigte sich bei 9 Patientinnen in der Verum-Gruppe, im Gegensatz zu einem Rückgang bei 2 Patientinnen in der Placebo-Gruppe ( $p=0.015$  mit dem Chi<sup>2</sup>-Test).

#### 4.2.3 Schilddrüsenparameter

Das FT4 und FT3, wie auch des TSH verhielten sich unverändert während des Studienverlaufes und blieben in den normalen Grenzen.

**Tab. 9: Verlauf der Schilddrüsenparameter im Durchschnitt**

	<b>vorher</b>	<b>nach 3 Monaten</b>	<b>Signifikanz</b>	<b>Referenzwerte</b>
<b>TSH (µU/ml):</b>				(0,4 – 4,0)
Verum (n-36)	1.2 ± 1.5	0.9 + 3.3	(n.s.)	
Placebo (n-34)	1.4 ± 2.0	1.2 + 2.7	(n.s.)	
<b>FT 4 (ng/dl):</b>				(0,8 – 1,8)
Verum (n-36)	1.4 ± 0.3	1.4 + 0.3	(n.s.)	
Placebo (n-34)	1.4 ± 0.9	1.3 + 0.9	(n.s.)	
<b>FT 3 (pg/ml):</b>				(2,3 – 4,3)
Verum (n-36)	3.0 ± 1.0	3.0 + 1.2	(n.s.)	
Placebo (n-34)	3.0 ± 2.6	3.0 + 2.4	(n.s.)	

#### 4.2.4 Ultraschall- und Dopplersonographie-Untersuchungsergebnisse

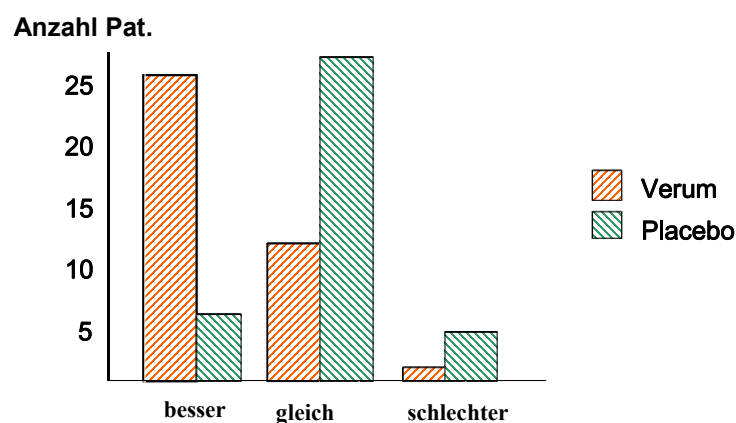
Eine Verbesserung der Echogenität beobachteten wir in der Verum-Gruppe bei 9 Patientinnen, im Gegensatz zu einer Verbesserung bei 2 Patientinnen in der Placebo-Gruppe. Es handelte sich bei diesen – mit Ausnahme einer Patientin - um dieselben, bei denen ebenfalls die Antikörperkonzentrationen unter 50 U/l gesunken waren.

#### 4.2.5 SF 12-Fragebogenauswertung

Das subjektive Befinden betreffend, verbesserten sich Allgemeinbefinden, Energie, körperliche und geistige Leistungsfähigkeit und Stimmung bei 25 Patientinnen in der Verum-Gruppe. Im Vergleich dazu gaben nur 6 Patientinnen aus der Placebo-Gruppe positive Veränderungen an.

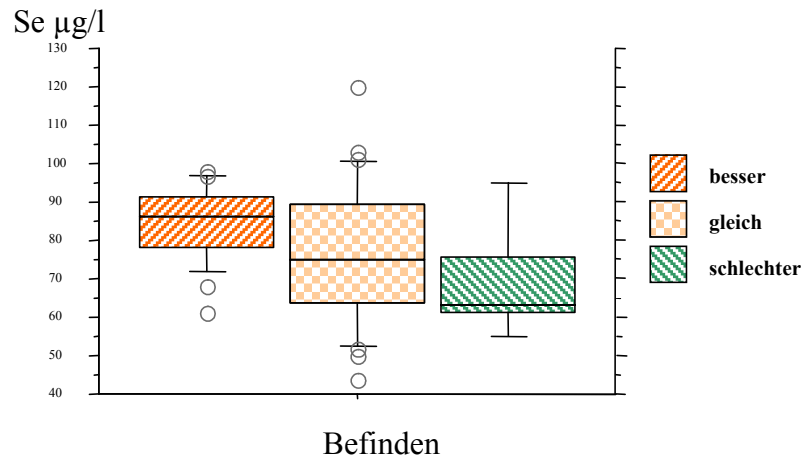
Keine Änderung stellten 10 Patientinnen in der Verum- gegenüber 26 in der Placebo-Gruppe fest. In der Verum-Gruppe verschlechterte sich das Befinden bei einer, in der Placebo-Gruppe bei 4 Patientinnen.

Abb. 10: SF12 Lebensqualität



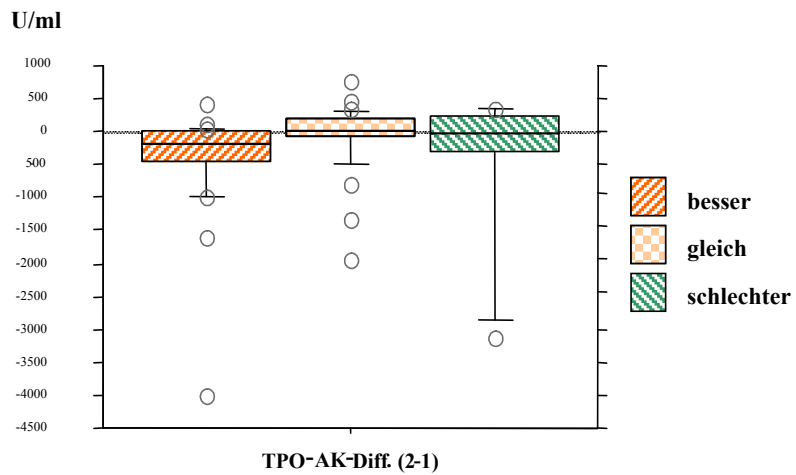
(Chiquadrat-Test  $p < 0.0001$ )

**Abb. 11: Selen Spiegel nach Therapie und Befinden**



Die absoluten Serum-Selen-Spiegel korrelierten mit dem subjektiven Befinden, evaluiert mit Hilfe des SF-12-Fragebogens.

**Abb. 12: TPO-AK-Differenz und Befinden**



Das Befinden korrelierte nicht mit den Änderungen der Autoantikörper-Konzentrationen im Serum.

### **4.3 Nebenwirkungen**

Mögliche unerwünschte Wirkungen infolge der Selensubstitution wie Diarrhoe, Nausea, Grauverfärbung der Haare oder Nagelverlust wurde in keiner der beiden Gruppen festgestellt.

Bis auf ein subjektives Unverträglichkeitsgefühl einer Patientin bei der Einnahme von Selenase auf nüchternen Magen wurden keinerlei Nebenwirkungen verzeichnet.

#### 4.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

In dieser prospektiv randomisierten Studie konnte gezeigt werden, daß

1. eine Selensubstitution mit 200 µg Natrium-Selenit die Konzentrationen der TPO-AK signifikant zu senken und damit die Aktivität der Erkrankung zu vermindern vermag.
2. Bei 9 von 36 Patientinnen normalisierten sich die Antikörper-Konzentrationen und das sonographische Bild der Schilddrüse unter einer Selensubstitution gegenüber von nur 2 der 34 Patientinnen in der Placebogruppe.
3. Die Schilddrüsenhormonwerte änderten sich während der Behandlung nicht.
4. Das subjektive Wohlbefinden verbesserte sich hochsignifikant unter der Selensubstitution und korrelierte mit den Serum-Selenspiegeln.
5. Das subjektive Wohlbefinden ist unabhängig von der Konzentration der Autoantikörper im Serum.
6. Die TGAK-Konzentrationen änderten sich unabhängig von der Substitution mit Selen und lagen am Ende der Studie in der Placebogruppe bei signifikant niedrigeren Werten, wobei diese schon bei Studieneinschluß signifikant niedriger lagen, als in der Verum-Gruppe.

## **5. DISKUSSION**

### **5.1 Therapeutische Wirkungen von Selen**

Mit dieser randomisierten, prospektiven Studie gelang erstmals der Nachweis, daß die krankheitsspezifischen TPO-AK-Konzentrationen bei Patientinnen mit einer AIT unter einer dreimonatigen, oralen Substitution mit 200 µg Natrium-Selenit pro Tag von 100 % auf 64 % signifikant gesenkt werden konnten.

Klinisch noch bedeutsamer ist, daß darunter bei 9 von 36 Patientinnen ein vollständiger Rückgang von beiden Autoantikörpern erzielt wurde, d.h. es normalisierten sich sowohl TPO-AK als auch TGAK und sanken auf Werte unter 50 U/l (Normbereich < 200 U/l).

Mit der sonographischen Diagnostik ließ sich darüber hinaus bei diesen Patientinnen ein Rückgang der Entzündungsaktivität durch Zunahme der Echogenität und Abnahme der Perfusion des Schilddrüsengewebes bestätigen.

In der Kontrollgruppe sanken dagegen beide Antikörpertiter nur bei 2 von 34 Patientinnen auf Werte unter 50 U/l. Die TGAK-Konzentrationen der restlichen Patientinnen fielen - im Gegensatz zu den TPO-AK - in der Verum-Gruppe unwesentlich, jedoch in der Placebo-Gruppe signifikant ab.

Da die Patientinnen bei Studieneinschluß randomisiert worden waren, zu Studienbeginn vergleichbar hohe Antikörperkonzentrationen aufwiesen und die Studienmedikation geblindet war, muß das Ergebnis der Studie auch bei den relativ geringen Fallzahlen als signifikant angesehen werden und stellt möglicherweise ein neues therapeutisches Prinzip bei der AIT dar.

Zwei Gründe sprechen für die Wahrscheinlichkeit einer günstigen Beeinflussung des Entzündungsprozesses sowie der TPO-AK-Bildung bei AIT-Patienten mit Hilfe einer Selentherapie:

Zum einen scheint die differenzierte *immunmodulatorische Wirkung* von Selen einen wichtigen, dafür ausschlaggebenden Faktor darzustellen (Harbige LS, 1996) (Kiremidjian-Schumacher L, 1994), zum anderen die *verringerte oxidative Schädigung* der Thyreozyten infolge einer durch Selensubstitution *erhöhten GPx-Aktivität* und deren Auswirkungen auf den Arachidonsäure-Metabolismus (Vanderpas JB, 1990) (Contempre B, 1991, 1993, 1995, 1996) (Goyens P, 1987).

## 5.2 Immunmodulatorische Wirkung von Selen

Es ist heute bekannt, daß Selen auf unterschiedlichste Art und Weise entscheidend in das Immungeschehen eingreift. Eine Aufzählung aller bisher beobachteter Mechanismen würde den Rahmen dieser Arbeit sprengen, so daß hier nur für das Thema besonders relevant erscheinende Aspekte beschrieben werden.

Dazu gehört z.B., daß unter Selentherapie eine *geringere Expression von NF- $\kappa$ B* stattfindet. Das beeinflußt nicht nur die Bildung von Chemokinen, sondern auch die Expansion der verschiedenen Abwehrzellen. Es entsteht eine experimentell nachweisbar begrenzte Entzündungsreaktion und damit ein geringerer Gewebeschaden, als ohne Selensubstitution.

In einer Studie wurde dies an selenarm wie selenreich ernährten Mäusen gezeigt, die z.B. mit einem ein *ARDS auslösenden Influenza-Virus* infiziert worden sind. Bei den *selendefizienten Tieren* fand eine gesteigerte Expression von NF- $\kappa$ B mit einer verstärkten Bildung von Chemokinen statt. Es kam auch im Vergleich zur Verumgruppe zu einer signifikanten Erniedrigung der CD8<sup>+</sup> Lymphozyten und zu einer verstärkten Differenzierung von TH 2-Zellen durch die CD4<sup>+</sup> Lymphozyten (s. Abb. 13). Durch den verstärkt ausgelösten Gewebeschaden verstarb daraufhin eine deutlich größere Anzahl an ARDS von den selenarm ernährten Mäusen, als von denen, die Selen erhalten hatten (Beck MA, 2001).

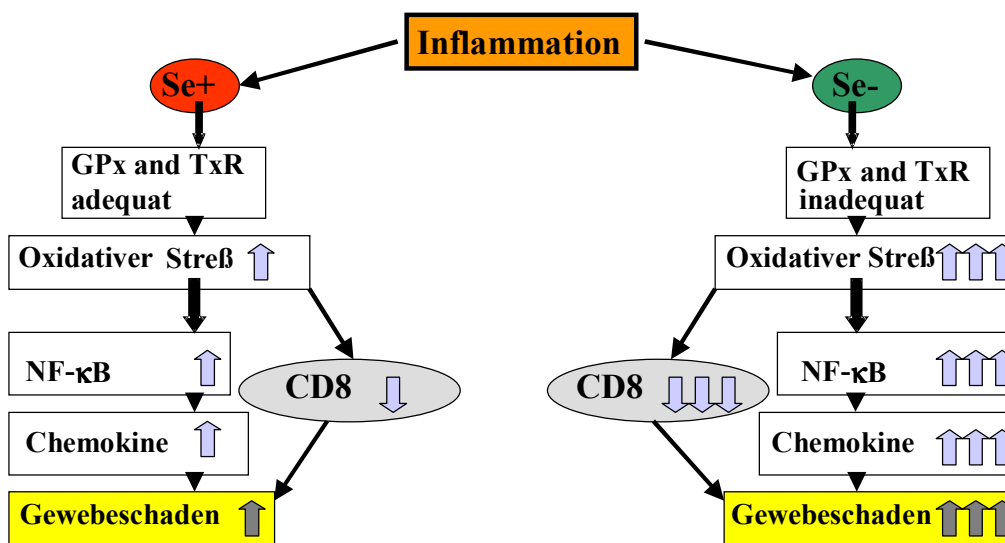
Obwohl eine Entzündung infektiösen Ursprungs primär nicht mit einem autoimmun entstandenen, inflammatorischen Geschehen gleichzusetzen ist, veranschaulicht dieses Ergebnis doch sehr deutlich, welche einen wesentlichen Einfluß Selen auf das Immunsystem ausübt.



Die wesentliche Rolle des redoxsensitiven Transkriptionsfaktors NF- $\kappa$ B in der Regulation der inflammatorischen Antwort bestätigte sich aber auch in zahlreichen anderen Arbeiten (Flohé L, 1997 a) (von Gagern G, 1999) (Makropoulos V, 1996). In einer Studie an menschlichen T-Zellen sowie Lungenadenokarzinomzellen kam es ebenfalls zu einer Inhibition der NF- $\kappa$ B-DNA-Bindung unter Selen-therapie (Kim IY, 1997).

An Sepsiskranken wurde in einer weiteren Studie ersichtlich, daß das Ausmaß der NF- $\kappa$ B-Aktivierung eng mit deren Letalität korreliert. Unter einer Selensubstitution sanken deutlich sowohl NF- $\kappa$ B-Aktivität, als auch Sterblichkeit der Patienten (Zimmermann T, 1997) (von Gagern G, 1999).

**Abb. 13: Entzündungsreaktion in Abhängigkeit von der Selenversorgung**



Zu den NF- $\kappa$ B aktivierenden Mediatoren zählen z.B.:

- peroxidiertes LDL,
- die Phospholipase A<sub>2</sub>,
- UV-Licht,
- proinflammatorische Zytokine (TNF- $\alpha$ , IL -1 $\beta$  und IL-17)
- sowie *reaktive Sauerstoffspezies*.

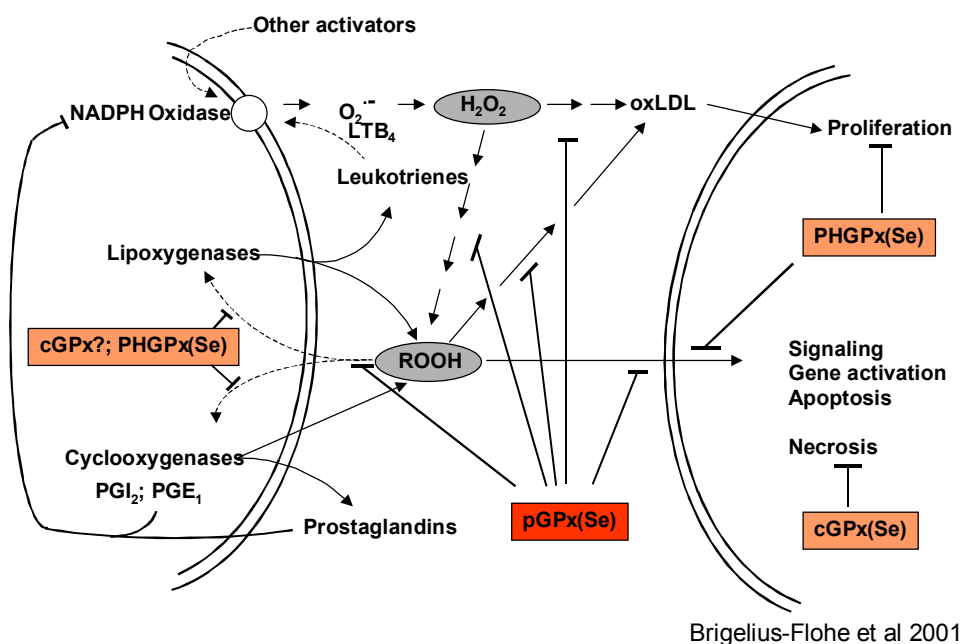
Zusammenfassend spricht vieles dafür, daß ein *erhöhtes Radikalenaufkommen* bei gestörtem Redoxgleichgewicht eine vermehrte NF-κB-Aktivierung mit einer überschießenden Entzündungsreaktion verursacht. Ein *Redoxgleichgewicht* hingegen scheint durch seinen modulierenden Einfluß eine verminderte Aktivierung von NF-κB zu bewirken. Da eine Selensubstitution die GPx-Aktivität erhöht, die für ein solches Gleichgewicht sorgt, ist anzunehmen, daß demnach keine überschießende NF-κB-Aktivierung stattfindet (siehe Abb. 14).

### 5.3 Auswirkung von Selenmangel auf den Arachidonsäure-Metabolismus

Während einer Entzündungsreaktion wird der *oxidative Streß* über ein vermehrtes Aufkommen von Arachidonsäure-Metaboliten verstärkt (siehe Abb. 14).

Der Grund hierfür ist, daß die radikalen Sauerstoffspezies - neben ihrer direkten inflammatorischen Wirkung auf das Gewebe - wohl darüber hinaus zusätzlich einen *stimulierenden Effekt* auf die *Cyclo-* und *Lipoxygenasen* ausüben. Daraus resultiert eine erhöhte Produktion von *Prostaglandinen* und *Leukotrienen*.

Abb. 14: Entzündungsmodulierender Effekt von Selenoenzymen



Diese Entzündungsmediatoren lösen dann entweder eine lokale Inflammation aus oder verstärken eine schon vorhandene Entzündung. Dabei setzen sie wohl einen *Circulus vitiosus* in Gang, indem sich immer mehr Peroxide im entzündeten Gewebe anhäufen, die wiederum ihrerseits die Aktivität von Cyclo- und Lipoxigenase noch hinzukommend stimulieren (siehe Abb. 15) (Spallholz JE, 1990). Wird eine solche Entwicklung nicht gebremst, folgt ein *akuter bzw. chronischer Entzündungsprozeß*, möglicherweise begleitet von Apoptose, Nekrose und fibrotischer Umwandlung.

Im speziellen Fall der Schilddrüse resultieren hieraus *Atrophie* und *Unterfunktion* (Contempre B, 1996), im Fall anderer Gewebe und Organe gleichfalls narbige Umwandlung und Funktionsverlust.

Schon 1996 gelang Contempre und Mitarbeiter der Nachweis an Ratten, daß eine ausreichende Selensubstitution die oxidative Schädigung der Thyreozyten verhindert. In einem anderen Experiment an Mäusen führte ebenfalls die Erhöhung der GPx-Aktivität unter Selentherapie zu einem sichtbaren Schutz des Gewebes vor einer mit NADPH-NADH-induzierten Oxidation der Lipide und Proteine (Cheng WH, 1999 b)).

#### **5.4 Autoantikörper-Verlauf unter Selentherapie**

##### **Rückgang der TPO-AK:**

Wie schon im Kapitel 2.3 ausgeführt, wird heute davon ausgegangen, daß die organspezifischen Autoimmunerkrankungen nach *viralen Infekten* oder dem Einwirken *anderer Streßfaktoren*, unter der Voraussetzung einer entsprechenden *genetischen Veranlagung*, auftreten und es zur Bildung von Antikörpern gegen körpereigenes Gewebe kommt (Weetman A, 1994). Zur Auslösung dieser Immunantwort müssen die Thyreozyten laut Weetman schon eine primäre Schädigung durch einen solchen Streßfaktor erfahren haben.

Es stellt sich die Frage, ob die *Hydroperoxide*, die physiologisch laufend in extrem großen Mengen bei der Synthese der Schilddrüsenhormone entstehen, nicht auch einen solchen Faktor darstellen könnten.

Werden durch sie im Selenmangel Bestandteile der Schilddrüsenzellen oxidiert, wäre es denkbar, daß die dadurch oxidativ ausgelöste Entzündung des Gewebes, ebenso wie eine viral verursachte, eine IFN- $\gamma$ -Produktion in Gang bringen könnte. Die daraufhin ausgelöste, in Kapitel 2.3 beschriebene Kaskade an Folgereaktionen, könnte dann zur *Aktivierung von B-Lymphozyten* sowie zur Bildung von *Autoantikörpern* führen (s. Kap. 2.3) (Contempre B, 1996).

Da an diesen komplexen Abläufen *Sauerstoffradikale* fortwährend entscheidend beteiligt sind, gehen wir davon aus, daß es in der Verum-Gruppe durch die Supplementierung von Selen gelungen ist, eine *überschießende* Immunreaktion zu bremsen, womit möglicherweise auch die TPO-AK-Bildung zu einem Rückgang gebracht werden konnte.

#### **Unverändert hoch gebliebene TG-AK-Titer:**

Während die TPO-AK in der Verum-Gruppe signifikant abfielen, blieben die TGAK nahezu unverändert hoch. Zu deren signifikanten Abfall kam es aber in der Placebogruppe.

Wo sich der TPO-AK-Rückgang, wie oben beschrieben, am besten mit der *immundämpfenden Wirkung* der antioxidativen Selenoenzyme erklärt, lassen die fast unverändert hoch gebliebenen TGAK-Werte in der Verum-Gruppe spekulativ auf eine durch Selen bewirkte *Stimulation* der humoralen Abwehr mit einer im Gegenteil angeregten Antikörper-Produktion schließen (Toledano R, 2000) (Hawkes WC, 2001).

Wie kommt es durch Selen zu einer Stimulation des Immunsystems?

Zu den vielseitigen Wirkungen von Selen gehört auch eine Hochregulierung der *IL-2-Rezeptorexpression* auf den Oberflächen von *aktivierten Lymphozyten* und *natürlichen Killerzellen* (Rayman MP, 2000 b)). Dies führt zu einer verbesserten Interaktion zwischen dem *wachstumsregulierenden Cytokin IL-2* und den Immunzellen. Diese Interaktion stellt wiederum die Voraussetzung für *die klonale Expansion von T-Zellen* und für ihre Differenzierung in *zytotoxische T-Zellen* dar (Hawkes, WC 2001).

Im Rahmen einer Studie wurde solch eine immunstimulatorische Wirkung sogar an Probanden unter der Verabreichung von 200 µg Selen pro Tag beobachtet, die *nicht* selenunterversorgt gewesen waren (Kiremidjian-Schuhmacher L, 1994). Bei ihnen lag ein weitgehend „aufgefülltes“ Niveau der Serum-Selen-Konzentration vor, mit einer für amerikanische Verhältnisse normalen diätetischen Aufnahme von 120-135 µg Selen pro Tag.

In einer anderen Arbeit fiel unter Selen-Supplementierung eine verstärkte *Immunglobulin-Synthese* auf (Herzfeld A, 1991) und *in vitro* erhöhten sich signifikant *Phagozytose* und *bakterizide Aktivität von Granulozyten* (Urban T, 1986). Umgekehrt wurde in zwei weiteren Studien ein Verlust der Immunkompetenz im Selenmangel beobachtet (Taylor EW, 1995) (Spallholz JE, 1990).

Auch fand sich nach einer Grippeimpfung bei gleichzeitig erfolgter Verabreichung von 200 µg Selen pro Tag ein im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant angestiegener Antikörpertiter (Kiremidjian-Schuhmacher L, 1994).

Bei Hämodialyse-Patienten aus Rostock und Chieti bewirkte Selen eine verbesserte T-Zell-Antwort auf Phytohaemagglutinin und es kam zu einem signifikanten Anstieg der immunkompetenten Zellen beim T-Zell vermittelten Hypersensitivitäts-Spättyp (Bonomini M, 1995).

Analog dazu kann für unsere Studienpatientinnen angenommen werden, daß die TGAK-Produktion unter Selengabe womöglich aus diesen Gründen in der Verumgruppe eher stimuliert worden und u. U. deshalb nicht abgefallen war. Allerdings spielen die TGAK bei der AIT eine untergeordnete Rolle. Bei ihnen handelt es sich um Autoantikörper, die im Blut im gesamten Organismus zirkulieren und deren Bildung nicht spezifisch in der Schilddrüse stattfindet - im Gegensatz zu den schilddrüsenpezifischen TPO-AK. Aus diesem Grund kommt den TGAK auch eine geringer aussagekräftige diagnostische und klinische Bedeutung zu als den TPO-AK.

Zusammenfassend auf unsere eingangs gestellte Frage bezogen bedeutete dies, daß bestimmte Selenoenzyme womöglich doch auch einen *stimulierenden* Einfluß auf das Immunsystem ausüben können, aber - aufgrund des signifikanten TPO-AK-Rückgangs - vorwiegend *modulierend* auf die Immunantwort einwirken.

## 5.5 Hierarchie der Selenoenzyme in der Selenverteilung

In Abhängigkeit der Zufuhr von Selen tritt ein unterschiedlicher Aktivitätsabfall der einzelnen Selenoenzyme offensichtlich infolge einer Selenumverteilung ein. Wriugler et al entdeckten erst vor wenigen Jahren, daß dies in einer definierten, hierarchischen Reihenfolge stattfindet. Unter den besser bekannten Enzymen werden in einem milden Selenmangel wohl als *erste* die pGPx und die cGPx vermindert synthetisiert, als nächste folgt die PH-GPx. Zum Aktivitätsverlust der Deiodasen und der TxR kommt es erst bei einer extremen Selenmangelernährung (Wriugler K, 1999 c)).

Der Sinn liegt vermutlich in der unterschiedlichen Gewichtung der jeweiligen Aufgaben dieser Enzyme. Bei einem Aktivitätsabfall der verschiedenen GPx, wirkt sich das - im Gegensatz zu dem der TxR und der Deiodasen - nicht direkt lebensbedrohend auf den Organismus aus, so daß sie womöglich deshalb nicht entsprechend hoch in der Hierarchie stehen und schon von einem milden Selenmangel betroffen sind.

### 5.5.1 GPx-Schwellenwert der Plasma-Selen-Konzentration

Die GPx zählen somit zu den Enzymen, die mit *am empfindlichsten* auf einen Selenmangel reagieren. Die *maximale* GPx-Aktivität liegt z.B. im Erythrozyten im Bereich einer Plasma-Selen-Konzentration von 85 – 114µg/l, was einer täglichen Aufnahme von über 90 µg Selen entspricht. Dagegen werden bei einer Aufnahmemenge von < 40µg/Selen/Tag nur ca. 2/3 der maximalen GPx-Aktivität erreicht (Duffield AJ, 1999).

Zu Beginn unserer Studie betrug die Plasma-Selen-Konzentration der Patientinnen im Durchschnitt nur etwa 70 µg/l. Sie lag damit *unterhalb* der zur maximalen GPx-Aktivitätsentwicklung nötigen Schwelle von 85 µg/l. In der Verum-Gruppe bewirkte daraufhin die dreimonatige Substitution von Selen eine signifikante Anhebung des Serum-Selen-Spiegels auf einen Durchschnittswert von 90 µg/l und kam in den Bereich einer *optimalen* GPx-Aktivität zu liegen.

### 5.5.2 Deiodaseaktivität ist erst im starken Selenmangel beeinträchtigt

Im Gegensatz zu den GPx bleiben die Deiodasen, die das Prohormon T4 in das aktive Hormon T3 umwandeln, in einem milden Selenmangel unbehelligt. Sie sollen zu den Selenoenzymen gehören, die hierarchisch höher stehen und die als lebensnotwendige Enzyme infolge einer Selenumverteilung auch im milden Selenmangel noch ausreichend Substrat zur Verfügung gestellt bekommen, um ihre maximale Aktivität aufrechterhalten zu können (Arthur JR, 1990).

Das könnte erklären, warum es auch in unserer Studie unter Selensubstitution zu keiner Änderung der Schilddrüsenhormonwerte kam.

Ähnliches wurde auch in einer Studie mit Patienten nach *subakuter Thyreoiditis* und *Postpartum Thyreoiditis* beobachtet. Selen (100 µg) wurde unter der Vorstellung verabreicht, daß dadurch die wegen der Gewebeerstörung entstandene verminderte Syntheseleistung in der Hormonherstellung durch eine verbesserte 5'-Deiodase-Aktivität ausgeglichen werden könnte. Dies führte jedoch - wie in unserer Studie auch - zu keiner verbesserten Konversion, da der Schilddrüse anscheinend schon vor Supplementierung genügend Selen zur Aufrechterhaltung einer optimalen Deiodasenaktivität zur Verfügung stand (Roti E, 1993).

Die Deiodasenaktivität beginnt erst bei extrem niedriger Selenaufnahme zu sinken. Es kommt dann zu einer verminderten Deiodierung (Olivieri O, 1995) mit Abfall des T3 sowie Anstieg des T4 ohne eine Erhöhung des TSH (Beckett GJ, 1989). In diesem Fall bewirkt eine Selensubstitution einen sichtbaren Effekt auf die Deiodasenaktivität, deren Zunahme sich in einem direkt meßbaren Anstieg des T3 und Abfall des T4 ausdrückt (Behne D, 1990, 1993).

Dies bestätigte sich auch in einem Experiment an Ratten, wo es mit einer einmaligen Injektion von hochdosiertem Selen zu einer völligen Normalisierung des Schilddrüsenhormon-Metabolismus kam, nachdem über 4-5 Wochen eine extreme Schilddrüsenunterfunktion durch selenarmes Futter erzeugt worden war (Beckett GJ, 1989).

## 5.6 Besserung der subjektiven Befindlichkeit

Die engen Interaktionen zwischen Serum-Selen-Konzentration, Immunsystem und Psyche veranlaßten uns zur Einbeziehung eines Evaluationsbogens (SF 12 German Standard Version 1.0) über das subjektive Befinden der Probandinnen.

Es ist bekannt, daß die AIT relativ häufig mit depressiven Gemütszuständen einhergeht (Jackson IM, 1998). Diese sind nicht nur als Folge der Thyreoiditis anzusehen, sondern können womöglich ebenso umgekehrt zum Ausbruch der Erkrankung beitragen.

Aus zahlreichen Studien geht deutlich hervor, daß eine niedrige Selenaufnahme mit einer signifikant höheren Inzidenz von *Depressionen* und *Stimmungsschwankungen* korreliert (Hawkes WC, 1996) (Forster HD, 1993). Der dafür ursächliche Pathomechanismus ist zwar derzeit noch nicht genauer bekannt, aber es spricht vieles dafür, daß Selen auch im Gehirn wichtige Aufgaben erfüllt.

So wurde am Rattenmodell im Selenmangel eine Erniedrigung des *Neurotransmitter-* und eine *Steigerung des Dopaminumsatzes* im frontalen Cortex gemessen (Castano A, 1997).

Auch in klinischen Studien wurde bei Patienten mit niedriger Selenkonzentration eine signifikant höhere Inzidenz von Depressionen und anderen negativen Gemütszuständen wie *Angst*, *Konfusion* und *Feindseligkeit* beobachtet.

Bei *Alzheimerpatienten* fand sich eine Reduktion der Serum-Selen-Konzentrationen auf 60 % im Vergleich zur Kontrollgruppe (Hawkes WC, 1996).

In einer prospektiven Studie wurden Probanden entweder mit niedrig- oder mit höherdosierter Selendiät ernährt. Diejenigen in der Selen(-)-Gruppe wiesen erniedrigte Quotienten für Klarheit/Konfusion, Beschwingtheit/Depression und Zuversicht/Angst auf. Die diätetische Aufnahme der Selen(-)-Gruppe lag bei etwa 30 µg/Tag, was etwa der durchschnittlichen Nahrungs-Selenaufnahme in vielen europäischen Ländern entspricht (s. Tabelle 1). Umgekehrt verbesserten sich bei einer täglichen Aufnahme von 225 µg Selen signifikant die oben genannten Quotienten und ein genereller, negativer Gemütsstatus trat in einem deutlich geringeren Maße auf (Finley JW, 1998).



Ein ähnliches Resultat ergab eine englische Crossover-Doppelblind-Studie, wo durch eine tägliche Verabreichung von 100 µg Selen ebenfalls signifikant *Ängstlichkeit, Depression und Müdigkeit* zurückgegangen waren (Benton D, 1991).

Dabei ergaben sich die am stärksten ausgeprägten positiven Effekte bei denjenigen mit den niedrigsten Ausgangs-Selen-Konzentrationen.

Berr und Mitarbeiter beschrieben ebenfalls eine deutliche Korrelation zwischen einer niedrigen Plasma-Selen-Konzentration und *Senilität mit cognitiver Regression* (Berr C, 2000).

In unserer Studie schilderten diejenigen Patientinnen der Selen(+)-gruppe, die schon zu Studienbeginn unter einem negativen Gemütsstatus und Depressionen litten, nahezu alle eine subjektive Verbesserung ihrer Lebensqualität, im Gegensatz zur Kontrollgruppe. Diejenigen, die sich schon zu Beginn der Studie in einer guten Gemütsverfassung befanden, bemerkten keine zusätzliche Verbesserung.

Diese Ergebnisse stellen insofern ein wichtiges Resultat dar, als auch psychischer Stress *immunstimulierend* wirken und - wie schon erwähnt - einen Trigger für die Auslösung bzw. Verstärkung einer Autoimmunerkrankung darstellen kann.

## **5.7 Selen und klinische Studien immunologischer Erkrankungen**

Bei Sepsis/SIRS-Patienten gelang der Nachweis einer positiven Wirkung unter Selensubstitution in der Intensivmedizin (Gärtner R, 1997, 1999) (Angstworm MWA, 1999). So wurde in der Sepsis-Studie 1997 erstmals ein signifikant positiver Einfluß dieses Spurenelementes auf die Inzidenz des akuten Nierenversagens, die Beatmungsdauer und die Mortalität bei Schwerstkranken beobachtet. In der Selengruppe wurden nur 3 Patienten dialysepflichtig, in der Kontrollgruppe dagegen 9. Die Beatmungszeit war unter Selentherapie um die Hälfte der Zeit auf 9 Tage verkürzt, in der Placebogruppe dauerte sie 18 Tage. Die Mortalität der mit Selen behandelten Patienten betrug 33 %, in der Kontrollgruppe 55 %.

Eine Subanalyse der Patienten mit einem APACHE-II-Score > 20 zeigte eine Mortalität von 70 % in der Selen(-)-gruppe versus einer von 30 % in der Selen(+)-Gruppe (Gärtner R, 1997).

In einer bei chirurgischen Patienten mit SIRS/Sepsis durchgeführten Studie kam es ebenfalls zu einer Senkung der Mortalität von 40 auf 15 % (Zimmermann T, 1997). Infolge dieser signifikanten Ergebnisse schloß sich eine prospektive, randomisierte, multizentrische Phase-III-Studie mit 196 Patienten an, die derzeit noch in 5 deutschen Zentren läuft.

In einer randomisierten Doppelblindstudie bei Patienten mit *chronischer Polyarthrit* konnten sowohl *Entzündungszeichen* als auch *Gelenkschmerzen* durch eine dreimonatige Supplementierung von 200 µg Selen/Tag gesenkt werden (Peretz A, 1992).

Bei Patienten mit *M. Crohn* fiel ein direkter Zusammenhang zwischen einem akuten entzündlichen Schub und dem Antioxidantienstatus auf. Im Vergleich zur Kontrollgruppe lag auch hier ein signifikant erniedrigter Serum-Selen-Spiegel vor (Reimund JM, 2000).

An selendefizienten Mäusen *mutierten* benigne *Cocksackie-Viren (CVB 3/0)* in eine kardiotoxische Form und lösten bei den Versuchstieren eine Myokarditis aus (Beck MA, 1995, 2000 a), b),c)).

Ein Cocksackie-Virus ist auch aus dem Blut von Patienten mit der eingangs beschriebenen Keshan-Krankheit als vermutlicher Cofaktor für die Entstehung der Kardiomyopathie isoliert worden (Beck MA, 1995).

In gleicher Weise transformierten sich *benigne Enteroviren* selendefizienter Mäuse in *virulente* Erreger (Beck MA, 1994). Deswegen wird heute davon ausgegangen, daß Viren *selbst* Selen zu ihrer Replikation benötigen und daß bei unzulänglicher Selenoenzymbildung sowohl im menschlichen, als auch offensichtlich im viralen Organismus kein ausreichender antioxidativer Schutz mehr in den Zellen besteht und deshalb *Mutationen bei der Zellteilung* häufiger vorkommen. Dies bestätigte sich ebenfalls an Knock-out-Mäusen, die keine GPx mehr herstellen konnten (Beck MA, 1998).

Neben Cocksackie- und Influenzaviren sprachen auch andere Viren wie beispielsweise RNA-, Poly-, HIV- oder Hepatitisviren auf eine Selensupplementierung an.

Folgende, in China durchgeführte Studien verdeutlichen den protektiven Effekt von Selen beispielsweise bei Patienten mit *Hepatitis B* und *C* in Bezug auf die Entwicklung eines *hepatozellulären Karzinoms* (HCC):

In der Gegend um Qidong treten besonders häufig *Hepatitis-B-Virus-Infektionen* auf. Dort wiesen zuerst epidemiologische Untersuchungen auf einen inversen Zusammenhang zwischen Serum-Selenspiegel und Krebsinzidenz hin.

Über 4 Jahre durchgeführte Tierstudien zeigten dann, daß durch eine prophylaktische Verabreichung von Selen die *Hepatitis-B-Infektion* um 77 % und *präkanzeröse Leberschäden* um 75 % abnahmen.

Daraufhin wurden unter diesem Aspekt 130.471 Personen in 5 Stadtteilen 8 Jahre lang im Rahmen einer Interventionsstudie beobachtet. Als Ergebnis fand sich in der mit selenhaltigem Speisesalz supplementierten Population eine um 35 % verringerte Inzidenz des *primären Leberzellkarzinoms* (HCC) gegenüber der Kontrollgruppe. Nach Absetzen von Selen in der behandelten Gruppe begann die HCC-Inzidenz wieder zu steigen. Trotzdem hielt die inhibitorische Wirkung von Selen über ca. 3 Jahre nach Behandlungsende an.

Anschließend zeigte eine klinische Studie an 226 Hepatitis-B-surface-Antigen (HBs-Ag)-positiven Personen, die 4 Jahre lang entweder 200 µg Selenhefe-Tabletten oder identisch aussehende Placebohefe-Tabletten erhielten, daß in der Placebogruppe bei 7 der 113 Probanden ein HCC auftrat, hingegen bei den mit Selenhefe behandelten kein Fall diagnostiziert wurde. Nach erneutem Absetzen von Selen entwickelten sich wiederum Leberzellkarzinome in einem mit der Kontrollgruppe vergleichbaren Ausmaß.

Aus diesen langjährigen Beobachtungen wird ersichtlich, daß nur durch eine *kontinuierliche* Seleneinnahme ein anhaltender, chemopräventiver Effekt erzielt werden kann (Yu SY, 1989, 1991, 1997).

Zu einem vergleichbaren Ergebnis kam es auch in einer taiwanischen Studie an 7.342 Männern mit *chronischer Hepatitis B* oder *C*, wo ebenfalls eine signifikant inverse Beziehung zwischen der Plasma-Selen-Konzentration und der Entstehung eines HCC bestand (Yu MW 1999).

Schon 1994 wurde gezeigt, daß Selen auch einen potenten Inhibitor bei der *HIV-Replikation* darstellt (Sappey C, 1994). Bekanntlich geht die Progression von HIV

mit einem Verlust der CD4-Helfer-Zellen einher. In mehr als 20 Publikationen wurde über eine damit parallel verlaufende progressive Abnahme des Plasmaselens berichtet (Look MP, 1997). Selendefiziente HIV-Patienten verstarben nahezu 20mal häufiger an HIV-assoziierten Krankheiten, als solche mit einem adäquaten Selenstatus ( $p < 0,0001$ ) (Baum MK, 1997).

In einer Studie in Miami wurde der Krankheitsverlauf von perinatal an HIV infizierten, erkrankten Kindern 5 Jahre lang verfolgt. Bei allen mit schneller Erkrankungsprogression in einem jüngeren Alter verstorbenen Kindern lag der Serum-Selenspiegel unter  $85 \mu\text{g/l}$  (Campa A, 1999).

Eine ausreichende Versorgung an Selen geht mit einer verbesserten T-Zell-Funktion und einer *verringerten Apoptose* im Tiermodell einher.

Eine adäquate Selensupplementierung verbessert die Widerstandsfähigkeit gegenüber Infektionen über einen modulierenden Eingriff in die Interleukinproduktion und damit in die Th1/Th2-Antwort. Eine durch die Verabreichung von Selen initiierte *IL-2-Rezeptor-Hochregulierung* sowie die *Aktivierung, Differenzierung* und *Proliferation zytotoxischer T-Zellen* und die *Erhöhung des programmierten Zelltodes von T-Helferzellen* wiesen Baum et al nach (Baum MK, 2000 a). Dabei werden die mit der HIV-Erkrankung einhergehenden, hohen Spiegel von IL-8 und TNF- $\alpha$  sowie erhöhte Virusreplikation herunterreguliert und es kommt seltener zu *Kaposi Sarkom, Wasting-Syndrom* und *neurologischen Schäden* (Baum MK, 2000 a).

Bei HIV-seropositiven Patienten wurden neben niedrigen Selenspiegeln gleichzeitig auch erniedrigte Spiegel der Vitamine A, E, und B 12 sowie von Zink festgestellt und sind mit dem Fortschreiten der Krankheit assoziiert. Aber nur Selenmangel erwies sich als ein *signifikanter Marker* für die Erkrankungsprogression und Sterblichkeitsprognostik (Baum, 1998).

Eine große aktuelle Studie wäre noch erwähnenswert, die zwar nicht in Beziehung mit Autoimmunerkrankungen steht, in deren Pathogenese jedoch ebenfalls Redoxstatus und Entzündung eine Rolle spielen: Das *US-National Cancer Institut* bewilligte die *12-Jahres-Studie SELECT* (Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial), in der insgesamt 32.000 Männer eingeschlossen werden, um

den Effekt einer täglichen Supplementierung von Vitamin E und 200 µg Selen als Selenomethionin auf das Risiko von *Prostatakrebs* zu untersuchen.

Gleichermaßen sollte mit der in Europa ursprünglich geplanten *PRECISE-Studie* (Prevention of Cancer by Intervention with Selenium) in England, Dänemark und Schweden die vorher in Pilotstudien beobachtete Krebsrisiko- bzw. Sterblichkeitsenkung an 33.000 Europäern überprüft werden (Rayman M, 2000 b). Die geplante Studie scheiterte jedoch an der Finanzierung.

Aus all diesen klinischen Studien wird ersichtlich, wie bedeutend die Gewährleistung einer ausreichenden Selenversorgung für die Erhaltung der menschlichen Gesundheit, bzw. der Einsatz einer Pharmakotherapie mit höher dosiertem Selen bei den unterschiedlichsten Erkrankungen ist.

## 6. ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK

Initial gingen wir von der Hypothese aus, daß schon ein milder Selenmangel zur Entwicklung und Aufrechterhaltung einer AIT beitragen kann, und daß Selen einen modulierenden Effekt auf das Immunsystem hat.

Aus diesen Überlegungen heraus führten wir eine prospektive, geblindete, randomisierte und placebokontrollierte Studie durch. Eingeschlossen wurden insgesamt 70 Patientinnen mit AIT. Von diesen erhielten 36 drei Monate lang 200 µg Natriumselenit pro Tag, 34 bekamen Placebo.

Als primäres Studienziel erfaßten wir den Verlauf der TPO-AK-Konzentrationen im Serum, als sekundäre Studienziele

- den Verlauf der TGAK-Konzentrationen,
- der FT3- und FT4- und TSH-Plasmaspiegel
- sowie Perfusionsausmaß und Echomuster der Schilddrüse in der hochauflösenden Doppler-Sonographie.
- Außerdem wurde die Lebensqualität anhand eines SF 12-Fragebogens ermittelt.

Es konnte gezeigt werden, daß eine Substitution mit 200µg Natrium-Selenit

- 1) sowohl die TPO-AK-Konzentrationen, als auch die Aktivität der Erkrankung signifikant senkte,
- 2) daß sich darunter bei 9 von 36 Patientinnen die Perfusion, Autoantikörper-Konzentrationen und sonographisches Bild der Schilddrüse normalisierten - in der Placebogruppe nur bei 2 von 34 Patientinnen,
- 3) daß sich die Schilddrüsenhormonwerte dabei nicht veränderten,
- 4) es zu einer hochsignifikanten Verbesserung des subjektiven Wohlbefindens kam, die mit den Serum-Selenspiegeln korrelierte,
- 5) daß diese Veränderung unabhängig vom Verlauf der Serumkonzentration der Autoantikörper eintrat und

- 6) daß sich die TGAK-Konzentrationen unabhängig von der Verabreichung von Selen änderten und zu Studienende signifikant niedrigere Werte in der Placebogruppe erreichten, als in der Verumgruppe.

Mit dieser Pilotstudie gelang uns somit der Nachweis, daß der Einsatz von Selen schon bei einer mäßigen Selenunterversorgung eine signifikante Senkung der Entzündungsaktivität bei einer schilddrüsenpezifischen Autoimmunerkrankung bewirkt.

Interessant wäre eine Folgestudie mit der Fragestellung, ob eine frühzeitige Behandlung den Verlauf von frisch aufgetretenen Erkrankungen verzögernd oder sogar kurativ beeinflussen könnte.

Außerdem halten wir es für wichtig, herauszufinden, in wieweit sich diese Ergebnisse auf andere organspezifische Autoimmunerkrankungen übertragen ließen, wie z.B. auf *Diabetes mellitus Typ I*, *Lupus erythematodes*, *Perniziöse Anämie*, *Vitiligo* etc.

In diesem Zusammenhang bleibt des weiteren zu untersuchen, ob im Rahmen des Syndroms der *polyglandulären Autoimmun-Erkrankungen* (PGA) vorbeugend die Entstehung von Folgeerkrankungen verhindert werden könnte, die häufig in Assoziation mit der AIT auftreten.

Wie schon in anderen Studien gezeigt, besitzt Selen einen positiven Einfluß auf Wohlbefinden sowie auf kognitive Leistungen. Zusätzliche Studien sind auch hier notwendig, um dies weiter abzusichern, damit es Eingang in den klinischen Alltag finden kann.

Wir hoffen, daß die Resultate unserer Studie einen Anstoß dazu geben werden, die Kenntnisse der gleichermaßen gesundheitserhaltenden wie heilsamen Wirkung einer ausreichenden Versorgung dieses derart vielseitigen und lebensnotwendigen Spurenelementes zu erweitern.

## 7. LITERATURVERZEICHNIS

- Allan CB, Lacourciere GM, Stadtman TC (1999): Responsiveness of selenoproteins to dietary selenium. *Ann Rev Nutr* 19 pp. 1-16.
- Alfthan G, Xu GL, Tan WH, Aro A, Wu J, Yang YX, Liang WS, Xue WL, Kong LH (2000): Selenium supplementation of children in a selenium-deficient area in China: blood selenium levels and glutathione peroxidase activities. *Biol Trace Elem Res.* 73:113-25.
- Angstwurm MWA, Schottdorf J, Schopohl J, Gärtner R (1999): Selenium replacement in patients with severe systemic inflammatory response syndrome improves clinical outcome. *Crit Care Med.* 27: 1807-1813.
- Arteel GA, Briviba K, Sies H (1999): Protection against peroxynitrite. *FEBS Lett* 445 pp. 226-230. SummaryPlus, Article, Journal Format-PDF (110 K).
- Arteel GE, Mostert V, Oubrahim H, Briviba K, Abel J, Sies H (1998): Protection by selenoprotein P in human plasma against peroxynitrite-mediated oxidation and nitration. *Biol. Chem.* 379, 1201-1205.
- Arthur JR, Nicol F, Beckett GJ (1990): Hepatic iodothyronine deiodinase: the role of selenium. *Biochem. J.* 272, 537-540.
- Aslund F, Beckwith J (1999): The thioredoxin superfamily: redundancy, specificity, and gray-area genomics. *J. Bacteriol.* 181, 1375-1379.
- Baker A, Payne CM, Briehl MM, Powis G (1997): Thioredoxin, a gene found overexpressed in human cancer, inhibits apoptosis in vitro and in vivo. *Cancer Res.* 57, 5162-5167.
- Barceloux DG (1999): Selenium. *Clin. Toxicol.* 37, 145-172.
- Barnes PJ, (1998): Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. 1: *Clin Sci (Lond)*; 557-72.
- Baum MK, Shor-Posner G, Lai S et al (1997): High risk of HIV-related mortality is associated with selenium deficiency. *J Acquir Immune Defic Syndr* 15 pp. 370-374.
- Baum MK, Shor-Posner G (1998): Micronutrient status in relationship to mortality in HIV-1 disease. *Nutr. Rev.* 56, S135-S139.
- Baum MK, Miguez-Burbano MJ, Campa A, Shor-Posner G (2000 a): Selenium and interleukins in persons infected with human immunodeficiency virus type 1. *J Infect Dis* 182 Suppl 1:S69-73.
- Baum MK (2000 b ): Role of micro nutrients in HIV-infected intravenous drug users. *J Acquir Immune Defic Syndr*; 25 Suppl 1:S49-52.
- Beck MA, Nelson HK, Shi Q, van Dael P, Schiffrin EJ, Blum S, Barclay D, Levander OA (2001): Selenium deficiency increases the pathology of an influenza virus infection. *FASEB J.* 15: 1481-3.
- Beck MA, Shi Q, Morris VC, Levander OA (1995): Rapid genomic evolution of a non-virulent Coxsackievirus B3 in selenium-deficient mice results in selection of identical virulent isolates. *Nat Med* 1, pp. 433-36.



- Beck MA, Esworthy RS, Ho YS, Chu FF (1998): Glutathione peroxidase protects mice from viral-induced myocarditis. *FASEB J* 12, pp. 1143-49.
- Beck MA, Kolbeck PC, Rohr LH, Shi Q, Morris VC, Levander OA (1994): Benign human enterovirus becomes virulent in selenium-deficient mice. *J. Med. Virol.* 43, 166-170.
- Beck MA (2000 a)): Nutritionally induced oxidative stress: effect on viral disease. *Am J Clin Nutr* ; 71 (6 Suppl):1676S-81S.
- Beck MA, Levander OA (2000 b)): Host nutritional status and its effect on a viral pathogen. *J Infect Dis*; Suppl 1:S93-6.
- Beck MA, Matthews CC (2000 c)): Micronutrients and host resistance to viral infection. *Proc Nutr Soc*; 59(4):581-5.
- Beckett GJ, MacDougall DA, Nicol F, Arthur R (1989): Inhibition of type I and type II iodothyronine deiodinase activity in rat liver, kidney and brain produced by selenium deficiency. *Biochem J* 259(3):887-92.
- Behne D, Kyriakopoulos A, Meinhold H, Köhrle J (1990): Identification of type I iodothyronine 5'-deiodinase as a selenoenzyme. *Biochem Biophys Res Commun.* 173:1143-9.
- Behne D, Kyriakopoulos A (1993): Effects of dietary selenium on the tissue concentrations of type I iodothyronine 5'-deiodinase and other selenoproteins. *Am. J. Clin. Nutr.* 57, 310S-312S.
- Behne D, Gessner H, Kyriakopoulos A (1996): Information on the selenium status of several body compartments of rats from the selenium concentrations in blood fractions, hair and nails. *J Trace Elem Med Bio* ; 10(3):174-9.
- Behne D, Pfeifer H, Rothlein D, Kyriakopoulos A (2000): Cellular and subcellular distribution of selenium and selenoproteins. In: A.M. Roussel, A. Favier and R.A. Anderson, Editors, Trace elements in man and animals 10: proceedings of the tenth international symposium on trace elements in man and animals, Plenum Press, New York, pp. 29-33.
- Ben Baouli A, Aube H, Maupoil V, Blettery B, Rochette L (1994): Plasma lipid peroxidation in critically ill patients: importance of mechanical ventilation. *Free Rad Biol Med* 16: 223-228.
- Benton D, Cook R (1991): Selenium supplementation improves mood in a double-blind crossover trial. *Biol Psychiatry* 29 pp. 1092-1098.
- Berger MM, Cavadini C, Bart A, Blondel A, Bartholdi I (1992): Selenium losses in 10 burned patients. *Clin Nutr* 11: 7582.
- Berr C, Balansard B, Arnaud J, Roussel Am, Alperovitch A (2000): Cognitive decline is associated with systemic oxidative stress – the EVA study. *J Am Geriatr Soc.* 48: 1285-91.
- Bianco AC, Salvatore D, Gereben B, Berry MJ, Larsen PR (2002): Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. Thyroid Division, Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital and Harvard Medical School, Boston, Massachusetts 02115, USA. *Endocr Rev*; 23(1):38-89.
- Bonomini M, Forster S, De-Risio F, Rychly J, Nebe B, Manfrini V, Klinkmann H, Albertazzi A (1995): Effects of selenium supplementation on immune parameters

in chronic uraemic patients on haemodialysis. *Nephrol-Dial-Transplant*. 10: 1654-61.

Brigelius-Flohé R, Müller C, Menard J, Florian S, Schmehl K, Wringler K (2001): Functions of GI-GPx: lessons from selenium-dependant expression and intracellular localization. German institute of Human Nutrition, Bergholz-Rehbrücke, Germany. *Biofactors*;14(1-4):101-6.

Brown KM, Pickard K, Nicol F, Beckett GJ, Duthie GG, Arthur JR (2000): Effects of organic and inorganic selenium supplementation on selenoenzyme activity in blood lymphocytes, granulocytes, platelets and erythrocytes. *Clin Sci* 98 pp. 593-99.

Brown KM, Arthur JR (2001): Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public health Nutr.* (2B):593-9.

Cadenas E (1997): Basic mechanisms of antioxidant activity. *BioFactors* 6, 391-397.

Campa A, Shor-Posner G, Indacochea F et al. (1999): Mortality risk in selenium-deficient HIV-positive children. *J Acquir Immun Defic Synd* 20 pp. 508-513.

Castano A, Ayala A, Rodriguez-Gomez JA, Herrera AJ, Cano J, Machado A (1997): Low selenium diet increases the dopamine turnover in prefrontal cortex of the rat. *Neurochem Int* 30, pp. 549-55.

Cheng WH, Fu YX, Porres JM, Ross DA, Lei XG, (1999 a): Selenium-dependent cellular glutathione peroxidase protects mice against a pro-oxidant-induced oxidation of NADPH, NADH, lipids, and protein. *FASEB J.* 13, 1467-1475.

Cheng WH, Valentine BA, Lei XG (1999 b): High levels of dietary vitamin E do not replace cellular glutathione peroxidase in protecting mice from acute oxidative stress. *J Nutr* 128:1070-6.

Cheng WH, Ho, Y.-S., Valentine, BA, Ross DA, Combs GF, Lei XG (1998): Cellular glutathione peroxidase is the mediator of body selenium to protect against paraquat lethality in transgenic mice. *J. Nutr.* 128, 1070-1076.

Cheng YY, Qian PC (1990): The effect of selenium-fortified table salt in the prevention of Keshan disease on a population of 1.05 million. *Biomed. Environ. Sci.* 3, 422-428.

Chu FF, Esworthy RS, Lee L, Wilczynski S (1999): Retinoic acid induces Gpx2 gene expression in MCF-7 human breast cancer cells. *J. Nutr.* 129, 1846-1854.

Clark LC, Combs GF jr, Turnbull BW et al. (1996): Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin: a randomized controlled trial. *JAMA* 276 pp. 1957-1963.

Clark LC, Cantor KP, Allaway HW (1991): Selenium in forage crops and cancer mortality in US counties. *Arch Environ Health* 46 pp. 37-42.

Combs GF jr, Combs SB (1984): The nutritional biochemistry of selenium. *Annu Rew Nutr.* 25-780.

Combs GJ, Gray WP (1998): Chemopreventive agents: selenium. *Pharmacol. Therapeut*; 79, 179-192.

- Contempre B, Duale NL, Dumont JE, Ngo B, Diplock AT, Vanderpas J, (1992): Effect of selenium supplementation on thyroid hormone metabolism in an iodine and selenium deficient population. *Clin Endocrinol Oxf.* 36: 579-83.
- Contempre B, Deneff JF, Dumont JE, Many MC (1993): Selenium deficiency aggravates the necrotizing effects of a high iodide dose in iodine deficient rats. *Endocrinology.* 132: 1866-8.
- Contempre B, Dumont JE, Deneff JF, Many MC (1995): Effects of selenium deficiency on thyroid necrosis, fibrosis and proliferation: a possible role in myxoedematous cretinism. *Eur J Endocrinol.* 133: 99-109.
- Contempre B, Dumont JE, Ngo B, Thilly CH, Diplock AT, Vanderpas J. 1991 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.* 73: 213-5
- Contempre B, Le-Moine O, Dumont JE, Deneff JF, Many MC (1996): Selenium deficiency and thyroid fibrosis. A key role for macrophages and transforming growth factor beta (TGF-beta). *Mol Cell Endocrinol* 124:7-15.
- Dietary Reference Values for Food Energy & Nutrients for the UK (1991): Committee on Medical Aspects of Food Policy (Report on Health and Social Subjects Number 41). London: HM Stationery Office.
- Diplock AT (1994): Antioxidants and disease prevention. *Mol Aspects Med* 15 pp. 293-376.
- Diplock AT (1978): The biological function of vitamin E and the nature of the interaction of the vitamin with selenium. *World Rev. Nutr. Diet* 31, 178-183.
- Duffield AJ, Thomson CD, Hill KE, Williams S (1999): An estimation of selenium requirements for New Zealanders. *Am J Clin Nutr.* 70:896-903.
- Ericsson UB, Erfurth EM, Schutz A (1993): Serum selenium concentrations in patients with autoimmune thyroiditis and non-toxic nodular goiter. *Thyroidology.* 5: 21-4.
- Esworthy RS, Aranda R, Martin GM, Doroshov JH, Binder SW, Chu FF (2001): Mice with combined disruption of Gpx1 and Gpx2 genes have colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 281: G848-G855.
- Falbe J, Regitz M (1992): *Römpp-Chemie-Lexikon.* Stuttgart, New York, S.4106
- Finley JW, Penland JG (1998): Adequacy or deprivation of dietary selenium in healthy men: clinical and psychological findings. *J Trace Elem Exp Med* 11, pp. 11-27.
- Flohé L, Andreesen JR, Brigelius-Flohé R, Maiorino M, Ursini F (2000): Selenium, the element of the moon, in life and earth. *IUBMB Life* 49: 411-20.
- Flohé L, Aumann KD, Steinert P (1998): Role of selenium in the enzymatic reduction of hydroperoxides. *Phosphorous Sulfur Silicon.* 136-138: 25-42.
- Flohé L (1971): Die Glutathionperoxidase: Enzymologie und biologische Aspekte. *Klin. Wochenschr.* 49, 669-683.
- Flohé L (1989): The selenoprotein glutathione peroxidase. In *Glutathione: Chemical, Biochemical and Medical Aspects - Part A.* (Dolphin, D., Poulson, R. and Avramovic, O., eds.) pp. 643-731, John Wiley & Sons Inc., New York.

- Flohé L., Brigelius-Flohé R, Saliou C, Traber MG, Packer L (1997 a ): Redox regulation of NF- $\kappa$ B activation. *Free Rad. Biol. Med.* 22, 1115-1126.
- Flohé L, Günzler WA, Schock HH (1973): Glutathione peroxidase: A selenoenzyme. *FEBS Lett.* 32, 132-134.
- Flohé L, Günzler WA, Loschen G (1979): The glutathione peroxidase reaction: a key to understand the selenium requirement of mammals. In *Trace Metals in Health and Disease* (Kharash N, ed.) pp. 263-286, Raven Press, New York.
- Flohé L, Loschen G, Günzler WA, Eichele E, (1972): Glutathione peroxidase, V. The kinetic mechanism. *Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem.* 353, 987-999.
- Flohé L, Wingender E, Brigelius-Flohé R, (1997 b ): The regulation of glutathione peroxidases. In *Oxidative stress and signal transduction* (Forman, H. and Cadenas, E. eds.) pp. 415-435, Chapman & Hall, New York.
- Follmann H, Haberlein I (1995-1996): Thioredoxins: universal, yet specific thiol-disulfide redox cofactors. *BioFactors* 5, 147-156.
- Forceville X, Vitoux D, Gauzit R, Combes A, Lahilaire P, Chappuis P (1998): Selenium , systemic immune reponse syndrome, sepsis, and outcome in critically ill patients. *Crit Care Med* 26: 1536-44.
- Forster HD (1993): The iodine-selenium connection: its possible roles in intelligence, cretinism, sudden infant death syndrome, breast cancer and multiple sclerosis. *Med Hypotheses* 40:61-5.
- Forth W, Henschler D, Rummel W, Förstermann U, Starke K (2001): in: *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie*; Urban & Fischer Verlag München, Jena.
- Fu Y, Cheng WH, Porres JM, Ross DA, Lei XG (1999): Knockout of cellular glutathione peroxidase gene renders mice susceptible to diquat-induced oxidative stress. *Free Radic. Biol. Med.* 27, 605-611.
- Ganther HE (1999): Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: complexities with thioredoxin reductase. *Carcinogenesis* 20, 1657-1666.
- Gärtner R, Angstwurm MWA, Schlottdorf J (1997): Selensubstitution bei Sepsispatienten *Med. Klein.* 92, Suppl III, 12-14.
- Gärtner R, Angstwurm MWA (1999): Die Bedeutung von Selen in der Intensivmedizin. *Klinische Studien bei Patienten mit SIRS/Sepsis*, *Med. Klin.* 94, 54-57.
- Gärtner R, Albrich W, Angstwurm MWA (2001): The effect of a selenium supplementation on the outcome of patients with severe systemic inflammation, burn and trauma. *BioFactors* 14, 199-2-4.
- Ge K, Xue A, Bai J, Wang S, (1983): Keshan disease - an endemic cardiomyopathy in China. *Virchows Arch. A. Pathol. Anat. Histopathol.* 401, 1-15.
- Goode JF, Cowley HC, Walker BE, Howdle PD, Webster NR (1995): Decreased anti-oxidant status and increased lipid peroxidation in patients with septic shock and secondary organ dysfunction. *Crit Care Med.* 23:646-51.

- Goyens P, Golstein J, Nsombola B, Vis H, Dumont JE (1987): Selenium deficiency as a possible factor in the pathogenesis of myxoedematous endemic cretinism. *Acta Endocrinol Copenh.* 114: 497-502.
- Gramm HJ, Kopf A, Eyrich K (1992): Spurenelementsupplementierung im Rahmen langzeitiger parenteraler Ernährungstherapien. In: Brätter P, Gramm HJ (Hrsg.): Mineralstoffe und Spurenelemente in der Ernährung des Menschen. S. 34-41. Berlin.
- Gu BQ (1983): Pathology of Keshan disease. A comprehensive review. *Chin. Med. J. (Engl.)* 96, 251-261.
- Haglund U, Gerdin B (1991): Oxygen-free Radicals (ORF) and circulatory shock. *Circ Shock* 35: 405-411.
- Halliwell B, Gutteridge JMC (1989): Free radicals in biology and medicine. Clarendon Press Oxford.
- Harbige LS (1996): Nutrition and immunity with emphasis on infection and autoimmune disease. *Nutr-Health.* 10(4): 285-312.
- Hasselmark L, Malmgren R, Zetterstrom O, Unge G (1993): Selenium supplementation in intrinsic asthma. *Allergy* 48: 30-36.
- Hawker FH, Steward PM, Snitch PJ (1990): Effects of acute illness on selenium homeostasis. *Crit Care Med* 18, 442-446.
- Hawkes WC, Hornbostel L (1996): Effects of dietary selenium on mood in healthy men living in a metabolic research unit. *Biol Psychiatry.* 39: 121-128.
- Hawkes WC, Kelley DS, Taylor PC (2001): The effects of dietary selenium on the immune system in healthy men. *Biol Trace Elem Res,* 81(3):189-213.
- Hayashi N, Tamaki N, Konishi et al (1986): Sonography of Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Ultrasound.* 14: 123-6
- Hegedus L (2001): Thyroid ultrasound. *Endocrinol Metab Clin North AM.* 30(2):339-60, viii-ix
- Herzfeld A (1991): Das Verhalten ausgewählter Antioxidantion- und Immunitätsparameter unter Selensubstitution bei Gesunden. In: Kruse-Jarres JD, eds.: Freie Radikale, Antioxidantien und Selen. 25-32, Biosymposia Fellbach.
- Hill KE, Burk RF (1997): Selenoprotein P: Recent studies in rats and humans. *Biomed. Environ. Sci.* 10, 198-208.
- Hill KE, McCollum GW, Boeglin ME, Burk RF (1997): Thioredoxin reductase activity is decreased by selenium deficiency. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 234, 293-295.
- Hunt DR, Lane JW, Beesinger D, Gallagher K, Halligan R, Johnston D, Rowlands BJ (1984): Selenium depletion in burn patients. *J Parent Ent Nutr* 8: 695-9.
- Ip C, (1998) Lessons from basic research in selenium and cancer prevention. *J. Nutr.* 128, 1845-1854.
- Ip C, Lisk DJ, (1995) Efficacy of cancer prevention by high selenium-garlic is primarily dependent on the action of selenium. *Carcinogenesis* 16, 2649-2652.
- Jackson IM, (1998) The thyroid axis and depression. *Thyroid* 8(10):951-6.

- Jiang C, Jiang W, Ip C, Ganther H, Lu J (1999): Selenium-induced inhibition of angiogenesis in mammary cancer at chemopreventive levels of intake. *Mol Carcinog* 26, pp. 213-225.
- Kardinaal AFM, Kok FJ, Kohlmeier L et al. (1997): Association between toenail selenium and risk of myocardial infarction in European men: the Euramic Study. *Am J Epidemiol* 145 pp. 373-379.
- Kim IY, Stadtman TC (1997): Inhibition of NF-kappa B DNA binding and nitric oxide induction in human T cells and lung adenocarcinoma cells by selenite treatment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 12904-12907.
- Kiremidjian-Schumacher L, Roy M, Wishe HI, Cohen MW, Stotzky G, (1994): Supplementation with selenium and human immune cell functions. *Biol Trace Elem Res* 41, pp. 115-127.
- Knekt P, Heliövaara M, Aho K, Alfthan G, Marniemi J, Aromaa A (2000): Serum selenium, serum alpha-tocopherol and the risk of rheumatoid arthritis. *Epidemiology*. 11:405.
- Knekt P, Marniemi J, Teppo L, Heliovara M, Aromaa A (1998): Is low selenium status a risk factor for lung cancer. *Am J Epidemiol* 148, pp. 975-982.
- Köhrle J, Brigelius-Flohé R, Böck A, Gärtner R, Meyer O, Flohé L (2000): Selenium in biology: facts and medical perspectives. *Biol Chem* 381: 849-64.
- LeBoef RA, Laishes BA, Hoekstra WG (1985): Effects of selenium on cell proliferation in rat liver and mammalian cells as indicated by cytokinetic and biochemical analysis. *Cancer res*1985; 45 (11 Pt1):5496-504.
- Look MP, Rockstroh JK, Rao GS, Kreuzer KA, Spengler U, Sauerbruch T (1997): Serum selenium versus lymphocyte subsets and markers of disease progression and inflammatory response in human immunodeficiency virus-infection. *Biol Trace Elem Res* 56 pp. 31-41.
- MacPherson A, Barclay MNI, Scott R, Yates RWS (1997): Loss of Canadian wheat lowers selenium intake and status of the Scottish population. In: P.W.F. Fischer, M.R. L'Abbé, K.A. Cockell and R.S. Gibson, Editors, *Trace elements in man and animals 9: proceedings of the ninth international symposium on trace elements in man and animals*, NRC Research Press, Ottawa pp. 203-205.
- Maiorino M, Coassin M, Roveri A, Ursini F (1989): Microsomal lipid peroxidation: effect of vitamin E and its functional interaction with phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *Lipids* 24, 721-726
- Maiorino M, Flohé L, Roveri A., Steinert P, Wissing JB, Ursini F (1999): Selenium and reproduction. *BioFactors* 10, 251-256.
- Maiorino M, Roveri A, Ursini F (1992): Antioxidant effect of Ebselen (PZ51): Peroxidase mimetic activity on phospholipid and cholesterol hydroperoxides vs. free radical scavenger activity. *Arch. Biochem. Biophys.* 295, 404-409.
- Maiorino M, Wissing JB, Brigelius-Flohé R, Calabrese F, Roveri A, Steinert P, Ursini F, Flohé L (1998): Testosterone mediates expression of the selenoprotein PHGPx by induction of spermatogenesis and not by direct transcriptional gene activation. *FASEB J.* 12, 1359-1370.

- Makropoulos V, Bruening T, Schulze-Osthoff K (1996): Selenium-mediated inhibition of transcription factor NF-kappa-B and HIV-1LTR promoter activity. *Arch. Toxicol.* 70: 277-283.
- Marcocci L, Flohé L, Packer L (1997): Evidence for a functional relevance of the selenocysteine residue in mammalian thioredoxin reductase. *BioFactors* 6, 351-358.
- Matsui M, Oshima M, Oshima H, Takaku K, Maruyama T, Yodoi J, Taketo MM (1996): Early embryonic lethality caused by targeted disruption of the mouse thioredoxin gene. *Develop. Biol.* 178, 179-185.
- Mills GC, (1957): Hemoglobin Catabolism I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *J. Biol. Chem.* 229, 189.
- Mitchell JA, (1997): Sodium salicylate inhibits cyclo-oxygenase-2 activity independently of transcription factor (nuclear factor kappaB) activation: role of arachidonic acid. 1: *Mol Pharmacol*; 51(6):907-12.
- Nelson HK, Shi Q, Van Dael P, Schiffrin EJ, Blum S, Barclay D, Levander OA, Beck MA (2001): Host nutritional selenium status as a driving force for influenza virus. *FASEB J.* 15(10):1846-8. PMID: 11481250.
- Néve J (1991): Methodes in determination of selenium states. *J. Trace Elem. Electrolyte Health Dis.* 5; 1-17.
- Néve J, (1996): Selenium as a risk factor for cardiovascular diseases. *J Cardiovasc Risk* 3 (1): 42-47.
- Néve J (1995): Human selenium supplementation as assessed by changes in blood selenium concentration and glutathione peroxidase activity. *J. Trace. Elem. Med. Biol.* 9, 65-73.
- Olivieri O, Girelli D, Azzini M (1995): Low selenium status in the elderly influences thyroid hormones. *Clin Sci* 89: 637-42.
- Peng A, Yang C, Rui H, Li H, (1992): Study on the pathogenic factors of Kashin-Beck disease. *J. Toxicol. Environ. Health* 35, 79-90.
- Peretz A, Néve J, Duchataeu JP, Famaey JP (1992): Adjuvant treatment of recent onset rheumatoid arthritis by selenium supplementation. *Br J Rheumatol* 31: 281-86.
- Raisbeck MF (2000): Selenosis. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 16:465-80.
- Ramaekers VTh, Calomme M, Vanden Berghe D, Makropoulos W (1994): Selenium deficiency triggering intractible seizures. *Neuropediatrics* 25 pp. 217-223.
- Rayman MP (1997): Dietary selenium: time to act. *BMJ* 314 pp. 387-88.
- Rayman MP, Clark LC (2000 a): Selenium in cancer prevention. In: A.M. Roussel A, Favier and RA Anderson, Editors, *Trace elements in man and animals 10: Proceedings of the tenth international symposium on trace elements in man and animals*, Plenum Press, New York, pp. 575-580.
- Rayman MP (2000 b): The importance of selenium to human health. *Lancet.* 356: 233-41.

- Reilly C, (1996): Selenium in food and health. Blacky Academic and Professional, London
- Reimund JM, Hirth C, Koehl C, Baumann R, Duclos B (2000): Antioxidant and immune status in active Crohn's disease. A possible relationship. *ClinNutr*19: 43-8
- Rocher C, Lalann JL, Chaudiere J (1992): Purification and properties of a recombinant sulfur analog murine selenium-glutathione peroxidase. *Eur J Biochem.* 205(3): 955-60.
- 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 selenium intake. *J Endokrinol Invest.* 16: 481-4.
- Sager M (1994): Spurenanalytik des Selens in: *Analytiker Taschenbuch Nr. 12* (eds: Günzler H, Borsdorf R, Danzer K, Fresenius W, Huber W, Lüderwald I, Tölg G, Wisser H) Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York, pp von 258-308.
- Salonen JT, Alfthan G, Pikkarainen J, Huttunen JK, Puska P (1982): Association between cardiovascular death and myocardial infarction and serum selenium in a matched pair longitudinal study. *Lancet* ii, pp. 175-179.
- Salonen JT, Salonen R, Seppänen K et al. (1988): Relationship of serum selenium and antioxidants to plasma lipoproteins, platelet aggregability and prevalent ischemic heart disease in Eastern Finnish men. *Atherosclerosis* 70 pp. 155-165.
- Sappey C, Legrand-Poels S, Best-Belpomme M, Favier A, Rentier B, Piette J (1994): Stimulation of glutathione peroxidase activity decreases HIV type activation after oxidative stress. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 10, 1451-1461.
- Sattler W, Maiorino M, Stocker R (1994): Reduction of HDL- and LDL-associated cholesterylester and phospholipid hydroperoxides by phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase and Ebselen (PZ 51). *Arch Biochem Biophys* 309, pp. 221-224.
- Schmidt KJ, Bayer W, Schweizer T, Hewel T (1998): Selensubstitution – ein therapeutischer Ansatz bei Schilddrüsenerkrankungen? *Vitaminspur.* 13: 33-39.
- Schmidt KJ, Bayer W (1992): Selen. Aktueller Wissenstand. *Vitaminspur* 1992.
- Schrauzer GN (1998): Selen: neue Entwicklungen aus Biologie, Biochemie und Medizin, 3rd Ed. Johann Ambrosius Barth Verlag, Heidelberg.
- Schubert JR, Muth OH, Oldfield JE, Remmert LF (1961): Experimental results with selenium in white muscle disease of lambs and calves. *Fed. Procc.* 20, 689-694.
- Schumacher K (1999): Einfluß von Selen auf das Nebenwirkungsprofil von adjuvanter Chemotherapie/Radiotherapie bei Patientinnen mit Mammakarzinom. *Med Klin*;94: Suppl III:45-8
- Schwarz K (1976): The discovery of the essentiality of selenium, and related topics. (A personnel account). *Proceedings of the symposium on selenium-tellurium in the environment, Notre Dame, Indiana, May 11-13*, pp 349-376.
- Schwarz K, Foltz CM (1957): Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *J. Am. Chem. Soc.* 79, 3292-3293.



- Seko Y, Imura N (1997): Active oxygen generation as a possible mechanism of selenium toxicity. *Biomed. Environ. Sci.* 10, 333-339.
- Sevanian A, Hodis H, (1997): Antioxidants and atherosclerosis: an overview. *BioFactors* 6, 385-390.
- Sies H (1985): *Oxidative Stress*, Acad. Press, London, New York
- Sies H, Klotz LO, Sharov VS, Assmann A, Briviba K (1998): Protection against peroxynitrite by selenoproteins. *Z. Naturforsch.* 53, 228-232.
- Sokoloff L (1988): Kashin-Beck disease: current status. *Nutr. Rev.* 46, 113-119.
- Sokoloff L (1985): Endemic forms of osteoarthritis. *Clin Rheum Dis* 11: 187-202.
- Spallholz JE, Boylan LM, Larsen HS (1990): Advances in understanding selenium's role in the immune system. *Ann NY Acad Sci* 587 123-39.
- St.Germain DL, Galton VA (1997 ): The deiodinase family of selenoproteins. *Thyroid* 7: 655-668.
- Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes of the Food and Nutrition Board (2000) Institute of Medicine, the National Academies with Health Canada, Dietary reference intakes for vitamin C, vitamin E, selenium and carotenoids. National Academy Press, Washington DC.
- Suadicani P, Hein HO, Gyntelberg F (1992): Serum Selenium concentration and risk of ischemic heart disease in a prospective cohort study of 3000 males. *Atherosclerosis* 96 pp. 33-42.
- Sunde RA (1997): Selenium. In: O'Dell BL, Sunde RA Editors, *Handbook of nutritionally essential mineral elements*, Marcel Dekker Inc, New York pp. 493-556.
- Tanguy S, Boucher F, Besse S, Ducros, V Favier A, de Leiris J (1998): Trace elements and cardioprotection: increasing endogenous glutathione peroxidase activity by oral selenium supplementation in rats limits reperfusion-induced arrhythmias. *J Trace Elem Med Biol* 12, pp. 28-38.
- Taylor EW, Nadimpalli RG, Ramanathan CS (1997), Genomic structures of viral agents in relation to the biosynthesis of selenoproteins. *Biol Trace Elem Res* 56, pp. 63-91.
- Taylor EW (1995): Selenium and cellular immunity. Evidence that selenoproteins may be encoded in the +1 reading frame overlapping the human CD4, CD8, and HLA-DR genes. *Biol Trace Elem Res.* 49: 85-95.
- Thomas JP, Maiorino M, Ursini F, Girotti AW (1990): Protective action of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase against membrane-damaging lipid peroxidation: in situ reduction of phospholipid and cholesterol hydroperoxides. *J. Biol. Chem.* 265, 454-461.
- Thomson CD, Robinson MF, Butler JA, Whanger PD (1993): Long-term supplementation with selenate and selenomethionine: selenium and glutathione peroxidase (EC 1.11 1.9) in blood components of New Zealand women. *Br J Nutr* 69, pp. 577-588.
- Tiran B, Tiran A, Rossipal E et al. (1993): Simple decomposition procedure for determination of selenium in whole blood, serum and urine by hybrid generation atomic absorption spectroscopy. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis.* 7: 211-16.

- Tolando R, Jovanovic A, Brigelius-Flohé R, Ursini F, Maiorino M (2000): Reactive oxygen species and pro-inflammatory cytokine signalling in endothelial cells: effect of selenium supplementation. *Free Radic. Biol Med.* 28:979-86.
- Underwood EJ. Trace elements in human and animal nutrition. 4th Edn. New York: Academic Press, 1977: 303-345.
- Urban T, Jarstrand C (1986): Selenium effects on human neutrophilic granulocyte function in vitro. *Immunopharm* 12: 167-72.
- Ursini F, Bindoli A (1987): The role of selenium peroxidase in the protection against oxidative damage of membranes. *Chem. Phys. Lipids* 44, 255-276.
- Ursini F, Maiorino M, Gregolin C (1985): The selenoenzyme phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *Biochim. Biophys. Acta* 839, 62-70.
- Ursini F, Maiorino M, Brigelius-Flohé R, Aumann KD, Roveri A, Schomburg D, Flohé L (1995): Diversity of glutathione peroxidases. *Meth. Enzymol.* 252, 38-53.
- Ursini F, Zamburlini A, Cazzolato G, Maiorino M, Bittolo-Bon G, Sevanian A (1998): Postprandial lipid hydroperoxides: a possible link between diet and atherosclerosis. *Free Rad. Biol. Med.* 25, 250-252.
- Vanderpas JB, Contempre B, Duale NL et al (1990): Iodine and selenium deficiency associated with cretinism in Northern Zaire. *Am J Clin Nutr* 52, pp. 1087-1093.
- Virtamo J, Valkiela E, Alfthan G, Punsar S, Huttunen JK, Karvonen MJ (1985): Serum selenium and the risk of coronary heart disease and stroke. *Am J Epidemiol* 122 pp. 276-282.
- Vitoux D, Chappuis P, Arnaud J, Bost M, Accominotti M, Roussel AM (1996): Selenium, Glutathione peroxidase, peroxides and function plaquettaires. *Am Biol Clin Paris* 54 (5): 181-187.
- von Gagern G, Zimmermann T, Albrecht S, Bachmann L, Zwipp H, Saeger HD (1999): Bedeutung von Selen in der Regulierung der inflammatorischen Antwort durch Transkriptionsfaktoren bei Polytraumapatienten. Eine klinische Studie. *Med. Klin.* 94, 62-65.
- Watabe S, Makino Y, Ogawa K, Hiroi T, Yamamoto Y, Takahashi SY (1999): Mitochondrial thioredoxin reductase in bovine adrenal cortex its purification, properties, nucleotide/amino acid sequences, and identification of selenocysteine. *Eur. J. Biochem.* 264, 74-84.
- Weber GF, Maertens P, Meng X, Pippenger CE (1991): Glutathione peroxidase deficiency and childhood seizures. *Lancet* 337 pp. 1443 1444.
- Weetman A, McGregor AM (1994) Autoimmune thyroid disease: further developments in our understanding. *Endocr Rev.* 15: 788-830.
- Whanger P, Vendeland S, Par YC Xia Y (1996): Metabolism of sub-toxic levels of selenium in animals and humans. *Ann Clin Lab Sci* 2, pp.
- Whanger PD, Pedersen ND, Hatfield J, Weswig PH. (1976): Absorption of selenite and selenomethionine from ligated digestive tract segments in rats. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 153, 295-297.

- WHO (1996): Food and Agriculture Organisation, International Atomic Energy Agency expert group, Trace elements in human nutrition and health. WHO, Geneva.
- Wilson DS, Tappel AL (1993): Binding of plasma selenoprotein P to cell membranes. *J. Inorg. Biochem.* 51, 707-714.
- Wringler K, Brigelius-Flohé R (1999 a): Expression of GI-GPx in selenium deficiency. *Free Rad. Biol. Med.* 27, S23 (Abstr.)
- Wringler K, Brigelius-Flohé R (1999 b): Gastrointestinal glutathione peroxidase. *BioFactors* 10, 245-249.
- Wringler K, Böcher M, Flohé L, Kollmus H, Brigelius-Flohé R (1999 c): mRNA stability and selenocysteine insertion sequence efficiency rank gastrointestinal glutathione peroxidase high in the hierarchy of selenoproteins. *Eur. J. Biochem.* 259, 149-157.
- Yang GQ, Chen JS, Wen ZM, Ge KY, Zhu LZ, Chen XC, Chen XS (1984): The role of selenium in Keshan disease. *Adv. Nutr. Res.* 6, 203-231.
- Yang GQ, Xia YM (1995): Studies on human dietary requirements and safe range of dietary intakes of selenium in China and their application in the prevention of related endemic diseases. *Environ Sci*; 8(3):187-201.
- Youn YK, LaLonde C, Demling R (1991): Use of antioxidant therapy in shock and trauma. *Circ Shock* 35, 245-249.
- Yoshizawa K, Willet WC, Morris SJ, Stampfer MJ, Spiegelman D, Rimm EB, Giovannucci E (1998): Study of prediagnostic selenium level in toenails and the risk of advanced prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 90 pp. 1219-1224.
- Yu MW, Horng I-S, Chiang Y-C, Liaw Y-F, Chen CJ (1999): Plasma selenium levels and the risk of hepatocellular carcinoma among men with chronic hepatitis virus infection. *Am J Epidemiol* 150 (4): 367-374.
- Yu SY, Li WG, Zhu YJ, Yu WP, Hou C (1989): Chemoprevention trial of human hepatitis with selenium supplementation in China. *Biol Trace Elem Res*; 20(1-2):15-22.
- Yu SY, Zhu YJ, Li WG, Huang QS, Huang CZ, Zhang QN, Hou C (1991): A preliminary report on the intervention trials of primary liver cancer in high-risk populations with nutritional supplementation of selenium in China. *Biol Trace Elem Res.* 29:289-94.
- Yu SY, Zhu YJ, Li WG (1997): Protective role of selenium against hepatitis B virus and primary liver cancer in Qidong. *Biol Trace Elem Res* 56, pp. 117-24.
- Zhang W, Ramanathan CS, Nadimpalli RG, Bhat AA, Cox AG, Taylor EW (1999): Selenium-dependent glutathione peroxidase modules encoded by RNA viruses. *Biol Trace Elem Res* 70 pp. 97-116.
- Zhang P, Liu B, Kang SW, Seo MS, Rhee SG, Obeid LM (1997): Thioredoxin peroxidase is a novel inhibitor of apoptosis with a mechanism distinct from that of Bcl-2. *J. Biol. Chem.* 272, 30615-30618.
- Zimmermann T, Albrecht S, Kuhne H, Vogelsang U, Grutzmann R (1997): Selensubstitution bei Sepsispatienten. Eine prospektiv randomisierte Studie. *Med-Klin.* 92 Suppl 3: 3-4.

## **8. DANKSAGUNG**

Herrn Professor Dr. med. Gärtner danke ich ganz besonders dafür, daß er mir diese interessante Promotion ermöglichte. Sie konnte erst durch seine innovativen Ideen und richtungsweisenden Ratschläge in Planung und Durchführung der Studie entstehen.

Allen Patienten danke ich für ihre Teilnahme an der Studie, für ihr Vertrauen und dafür, daß sie ausnahmslos bis zum Studienende mitmachten und regelmäßig die Studienmedikation einnahmen.

Für die zuverlässige Unterstützung beim Sammeln der Proben und Daten sowie für die gute Kooperation möchte ich allen Beteiligten danken. Durch die Hilfsbereitschaft und die systematische, präzise Arbeit von Frau Petra Rank wurde mir die Arbeit im Labor von Professor Gärtner sehr erleichtert.

Herrn Dr. Johannes Dietrich danke ich für die große Hilfe bei der Auswertung der Daten und bei der Erstellung der Graphiken für die Kongreßpräsentationen.

Danken möchte ich auch den Mitarbeitern des Labors der Firma GN-Pharm in Fellbach für die Messung der Selenkonzentrationen.

Außerdem danke ich allen Freunden und anderen Kollegen, die mich bei dieser Promotion mit ihrem technischen und fachlichen Rat unterstützten.

Und vor allen Dingen gilt mein herzlichster Dank meinen Eltern und Brüdern für ihre großzügige Unterstützung, ohne die diese Arbeit nicht hätte entstehen können, sowie meiner Tochter für ihre sorgfältige und kompetente Rezension.

## 9. LEBENSLAUF

Name	Barbara Carla Helene Gasnier, geb. Zitzmann
Geburtsdatum	15.09.1951
Geburtsort	Kronach in Oberfranken
Konfession	evangelisch
Eltern	Liselotte Zitzmann, geb. Müller Horst Zitzmann
Schulbildung	1962 – 1968 Kaspar-Zeuss Gymnasium Kronach  Unterbrechung der Ausbildung infolge der Geburt von Tochter Christiane am 09.01.1969  1973 – 1975 Fachschule für Kosmetik Janina Bilski Frankfurt, Abschluß: Diplomkosmetikerin  1975 – 1977 Giessener Sprachen- und Dolmetscherschule Gießen, Abschluß: Dolmetscherin  1978 – 1979 Wilhelm-Knapp-Berufsaufbauschule Weilburg, Abschluß: Mittlere Reife  1979 – 1981 Hessenkolleg Frankfurt, Abschluß: Abitur 11.1981
Berufliche Tätigkeit	1981 – 1992 Geschäftsführerin im eigenen Unternehmen in Paris für Inneneinrichtung von Hotels und Restaurants, Frankreich (Import / Export von / nach England, Italien, Afrika, China, USA)
Studium	1993 – 2000 Ludwig-Maximilian-Universität München 3. Staatsexamen am 07.12.2000, Teilapprobation
Promotion	Beginn: Mai 2000
ÄiP	2001 Beginn der Tätigkeit als Ärztin im Praktikum im Kreiskrankenhaus Starnberg 2002 Fortführung des AiPs im Krankenhaus Neuwittelsbach in München