

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

Paweł Zagrodzki

Collegium Medicum, Uniwersytet Jagielloński, Kraków

1 WSTĘP

Selen został odkryty w 1817 roku przez szwedzkiego chemika Jönsa Jacoba Berzeliusa. Przez dłuższy czas był uważany za pierwiastek wywierający wyłącznie toksyczne działanie u ludzi i zwierząt, ponieważ *in vivo* ulega on redukcji. Nadmiar selenu wywoływał u zwierząt hodowlanych chorobę alkaliczną, podobną do niej chorobę Degnala oraz błędną kołowaciznę. Obecnie wiadomo, że selen jest pierwiastkiem niezbędnym zarówno dla eukariotów jak i prokariotów.

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

mózgu u kurcząt. Równoczesny deficyt selenu i witaminy E powoduje częste przypadki martwych porodów, zahamowanie rozwoju i przedwczesną śmierć szceniąt.

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

Było to jedno z najważniejszych odkryć w biochemii w latach siedemdziesiątych. Ono, jak również późniejsze odkrycia innych selenobiałek, stymulują intensywne badania nad fizjologiczną rolą związków selenu, problemami żywieniowymi związanymi z dobowym zapotrzebowaniem na ten pierwiastek, objawami klinicznymi niedoboru selenu, rolą deficytu selenu w etiologii i przebiegu różnych chorób i stanów patologicznych.

Dodatkowym impulsem do badań nad biochemią selenu było odkrycie w roku 1990, że dejodaza jodotyroniny typu I posiada w centrum aktywnym atom selenu. Konsekwencją tego faktu jest znaczący wpływ selenu na metabolizm związków jodu zarówno u zwierząt jak i u ludzi.

2 CEL PRACY

Większość badań nad interakcjami pomiędzy jodem i selenem wykonano dotychczas na zwierzętach doświadczalnych. Natomiast piśmien-

nictwo poświęcone temu zagadnieniu u ludzi jest znacznie węższe i dotyczy najczęściej albo populacji żyjących w specyficznych warunkach geograficznych, np. w Zairze lub w Tybecie, albo stanowiących specyficzną grupę pacjentów, np. chorzy na fenylketonurię. Z drugiej strony, pomimo stwierdzonego w niektórych rejonach Europy, równoczesnego niedoboru obu pierwiastków, problem interakcji pomiędzy nimi u ludzi zdrowych, zamieszkujących takie tereny nie został dotychczas całościowo opracowany. Dlatego w niniejszej pracy zwrócono szczególną uwagę na rolę statusu selenowego w metabolizmie tarczycy u dzieci z umiarkowanym niedoborem obu pierwiastków.

Jako szczegółowe cele pracy przyjęto:

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

Podstawowe zerowe hipotezy statystyczne (H_0), których weryfikację podjęto w niniejszym opracowaniu zakładały, że:

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

3 MATERIAŁY I METODY

3.1 Badana populacja dzieci

Badaniem objęto populację dzieci uczęszczających do szkół publicznych w czterech miejscowościach na terenie województwa tarnobrzeskiego: Janowie Lubelskim, Rudniku, Nowej Dębie i Sandomierzu. Zbadane dzieci ($n=136$, 90 dziewcząt, 46 chłopców) zostały wyselekcjo-

nowane na podstawie wcześniejszych badań epidemiologicznych, podczas których stwierdzono u nich obecność wola stopnia IA lub wyższego. Dzieci znajdowały się w przedziale wiekowym 7-16 lat (średnia wieku $11,1 \pm 2,1$). Od dzieci pobrano krew w celu oznaczenia stężenia selenu (B-Se), aktywności peroksydazy glutationowej (pIGSHPx), stężenia hormonu tyreotropowego (TSH) i wolnej tyroksyny (fT4). Pobrano również próbki moczu w celu oznaczenia stężenia jodu (IU). Grupę porównawczą stanowiły dzieci w tym samym przedziale wiekowym, leczone z powodu drobnych urazów w Oddziale Ortopedii Polsko-Amerykańskiego Instytutu Pediatrii CMUJ w Krakowie ($n=38$, 19 dziewcząt, 19 chłopców). Dzieci te wolne były od klinicznych symptomów chorób tarczycy i zaburzeń metabolicznych.

3.2 Metody zastosowane do oznaczania badanych parametrów

Stężenie selenu w pełnej krwi (Se-B) oznaczono metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej w kuwecie grafitowej przy użyciu aparatu Perkin Elmer® Model 5100 ZL, wyposażonego w korekcję tła Zeemana oraz automatyczny dozownik AS-70. Oznaczenie aktywności peroksydazy glutationowej w osoczu krwi (pIGSHPx) przeprowadzono w oparciu o metodę Paglii i Valentine'a (1967) z modyfikacjami Günzlera i wsp. (1974). Oznaczenie stężenia hormonu tyreotropowego w osoczu krwi (TSH) zostało wykonane przy użyciu licznika promieniowania gamma - Gamma 4000 firmy Beckman (USA) stosując zestaw odczynników firmy Orion Diagnostica (Finlandia). Oznaczenie stężenia wolnej tyroksyny w osoczu krwi (fT4) zostało wykonane przy użyciu licznika promieniowania gamma - Gamma 4000 firmy Beckman (USA) stosując zestaw odczynników firmy Immunotech (Francja). Oznaczenie stężenia jodu w moczu (IU) zostało przeprowadzone metodą Drożdża (1992) w oparciu o reakcję Sandella-Kolthoffa. Pomiar przy użyciu spektrofotometru DU 5 firmy Beckman. Pomiar ultrasonograficzny objętości tarczycy (TV) przeprowadzono (tylko w grupie badanej) przy użyciu przenośnego ultrasonografu Siemens Sonoline SI 400 z liniowym przetwornikiem 7,5 MHz (51 mm). Badanie przeprowadzono w pozycji siedzącej. Zmierzono szerokość, głębokość i długość każdego płata tarczycy. W tym samym czasie,

w którym pobierano materiał do badań biochemicznych, przeprowadzono badania antropometryczne dzieci.

3.3 Obliczenia statystyczne

Analizę statystyczną przeprowadzono przy pomocy programu *STATISTICA*.

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

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

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

4 WYNIKI

Podstawowe statystyki opisowe dla grupy badanej i porównawczej zebrano w Tabeli 1.

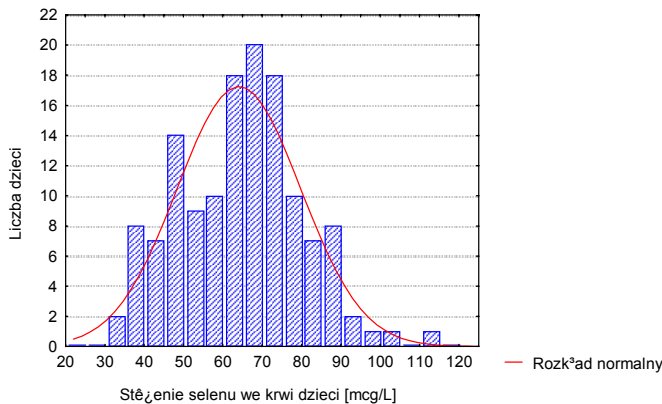
Tabela 1. Podstawowe statystyki opisowe dla parametrów dot. metabolizmu selenu i jodu w grupie badanej i grupie porównawczej (B-Se – stężenie Se we krwi, pIGSHPx – aktywność peroksydazy glutationowej we krwi, fT4 – stężenie wolnej tyroksyny w osoczu krwi, TSH - stężenie hormonu tereotropowego w osoczu krwi, IU – stężenie jodu w moczu).

Parametr	Grupa badana					Grupa porównawcza				
	Jednostka	N	Średnia	Min	Max	N	Średnia	Min	Max	p
B-Se	µg/L	136	64.4	30.3	111.5	37	85.3	52.6	128.4	<0.001
pIGSHPx	U/L	135	111.0	49.4	207.8	38	182.4	115.8	283.0	<0.001
fT4	pmol/L	135	14.9	1.2	24.4	38	15.0	8.50	20.6	NS
TSH	IU/L	134	1.57	0.17	6.01	37	1.99	0.26	4.86	NS
IU	µmol/L	136	0.60	0.08	2.87	17	0.92	0.28	1.84	<0.005

Dwa parametry w grupie badanej (TSH i IU) oraz dwa parametry w grupie porównawczej

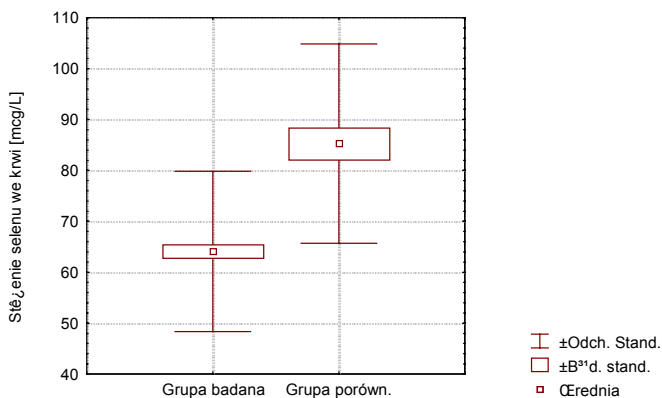
(fT4 i IU) nie miały rozkładu normalnego. Pozostałe parametry posiadały rozkład normalny. Dla przykładu - rozkład stężeń selenu

we krwi dzieci z grupy badanej pokazano na rys. 1.

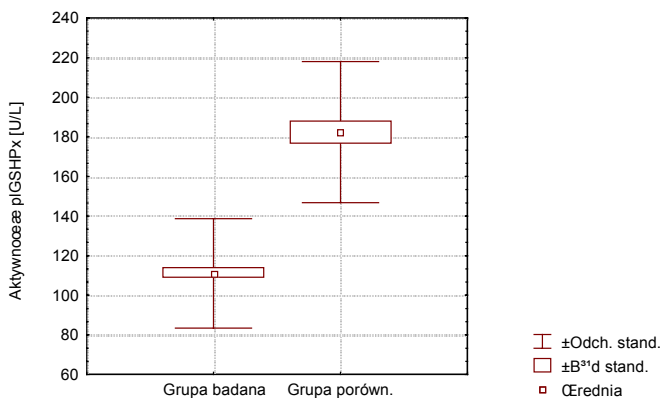


Rys. 1. Rozkład stężeń selenu [µg/L] we krwi dzieci z grupy badanej.

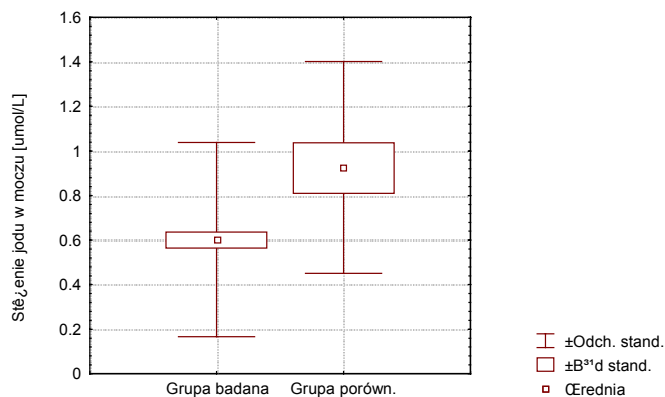
Statystycznie istotne różnice pomiędzy grupą badaną i porównawczą stwierdzono dla następujących parametrów: Se-B, pIGSHPx, IU (rys. 2-4).



Rys. 2. Stężenie selenu we krwi [µg/L] dzieci w grupie badanej i grupie porównawczej (test t-Studenta, $p < 0,001$).

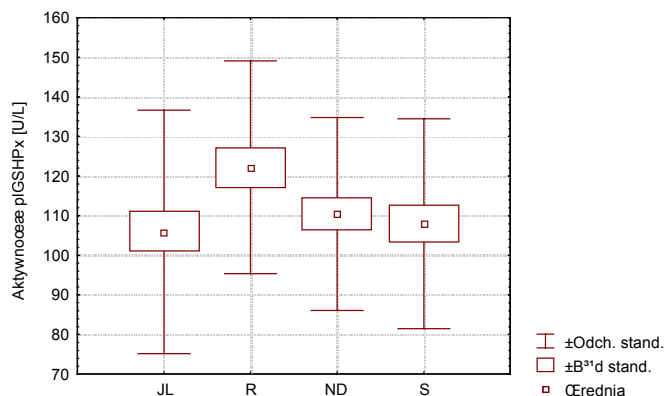


Rys. 3. Aktywność peroksydazy glutationowej [U/L] w osoczu krwi dzieci z grupy badanej i grupy porównawczej, (test Kruskala-Wallisa, $p < 0,001$).



Rys. 4. Stężenie jodu [µmol/L] w moczu dzieci z grupy badanej i grupy porównawczej (test Kruskala-Wallisa, $p < 0,005$).

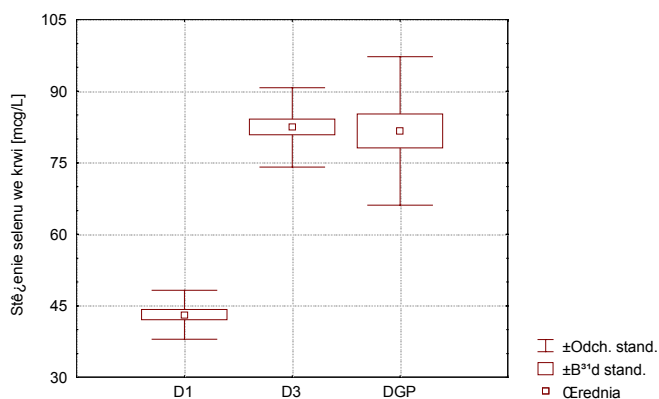
Wykazano brak statystycznie istotnych różnic w stężeniach TSH i fT4 pomiędzy grupą badaną i porównawczą. Niemal wszystkie wartości TSH i fT4 znajdowały się w zakresie wartości prawidłowych. U dzieci z grupy badanej nie stwierdzono znamiennego wpływu płci, wieku i miejsca zamieszkania na Se-B i pIGSHPx. Dla przykładu - aktywność peroksydazy glutationowej w osoczu dzieci z różnych miejscowości w grupie badanej pokazano na rys. 5.



Rys. 5. Aktywność peroksydazy glutationowej [U/L] w osoczu dzieci z różnych miejscowości (JL - populacja z Janowa Lubelskiego, R - populacja z Rudnika, ND - populacja z Nowej Dęby, S - populacja z Sandomierza; jednoczynnikowa analiza wariancji, $p > 0,05$).

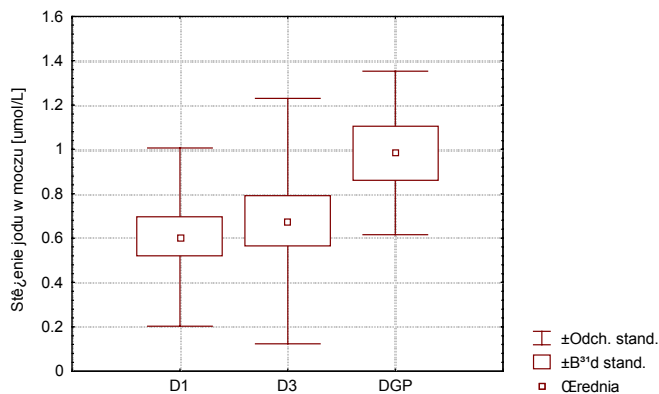
Jakkolwiek nie stwierdzono statystycznie istotnych różnic wartości średnich fT4 i TSH między grupą porównawczą oraz całą grupą badaną, to jednak różnice takie stwierdzono w niektórych podgrupach dziewcząt w grupie badanej. Z grupy tej wyodrębniono podgrupę dziewcząt (oznaczaną dalej jako D1), u których stężenie Se było poniżej pierwszego kwartyła ($n=21$) oraz podgrupę dziewcząt

charakteryzującą się stężeniem Se powyżej trzeciego kwartyła (odpowiednio: D3, n=24). Różnica wartości średnich stężeń Se pomiędzy D1 i D3 oraz D1 i dziewczętami w grupie porównawczej (DGP, n=19) była statystycznie istotna. Natomiast grupy D3 i DGP nie różniły się stężeniem Se. Wartości stężeń w grupach D1, D3 oraz DGP przedstawiono na rys. 6.



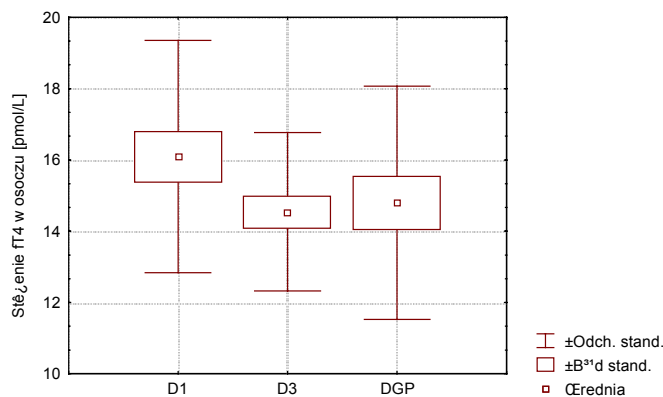
Rys. 6. Stężenie Se [µg/L] we krwi dziewcząt w grupach D1, D3 i DGP (objaśnienia w tekście); poziom istotności różnic pomiędzy D1 i D3 oraz D1 i DGP: $p < 0,001$.

Obie grupy dziewcząt (D1, D3) odróżnia od grupy DGP znacznie niższa aktywność pIGSHPx ($p < 0,001$) oraz znamienne niższe wartości średnie stężeń jodu w moczu (rys. 7).

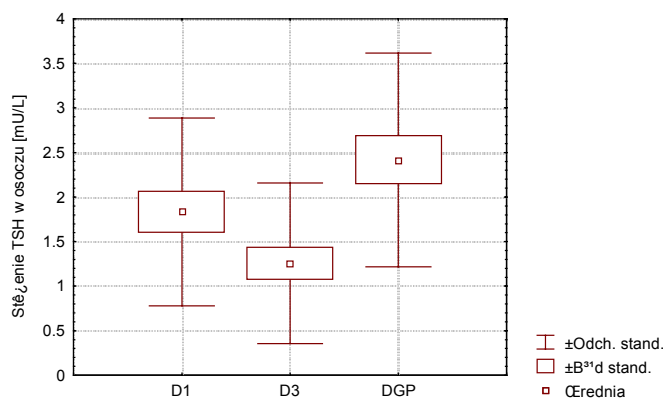


Rys. 7. Stężenie jodu [µmol/L] w moczu dziewcząt w grupach D1, D3 i DGP; poziom istotności różnic między D1 i DGP: $p < 0,001$; między D3 i DGP: $p < 0,05$.

W grupach posiadających powyższe cechy stwierdzono statystycznie istotne różnice wartości średnich ft4, TSH oraz stosunku ft4/TSH (rys. 8 i 9).



Rys. 8. Stężenie ft4 [pmol/L] w osoczu dziewcząt w grupach D1, D3 i DGP; poziom istotności różnic między D1 i D3: $p < 0,05$.



Rys. 9. Stężenie TSH [mU/L] w osoczu u dziewcząt w grupach D1, D3 i DGP; poziom istotności różnic między D1 i D3: $p < 0,05$, między DGP i D3: $p < 0,001$.

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

Analiza statystyczna, przeprowadzona dla analogicznych grup chłopców, tzn. o stężeniu Se poniżej pierwszego i powyżej trzeciego kwartyła, nie ujawniła statystycznie istotnych różnic wartości średnich ft4 i TSH w tych grupach.

Dla wszystkich możliwych par pięciu parametrów (Se-B, pIGSHPx, TSH, ft4, IU) obliczono współczynniki korelacji Pearsona lub Spearmana. Ponadto w grupie badanej podjęto próbę ustalenia korelacji pomiędzy wymienionymi parametrami a całkowitą objętością tarczycy (TV) oraz całkowitą objętością tarczycy odniesioną do górnych zakresów normy objętości tarczycy w ocenie

USG wg.: Delange'a (TVD), Gołkowskiego i wsp. (TVGO) lub wg. Gutekunst'a (TVGU) a także całkowitą objętością tarczycy odniesioną do powierzchni ciała (TV/BSA), wg. wzoru

$TV/BSA = TV / (W^{0,425} \cdot H^{0,725} \cdot 71,84 \cdot 10^{-4})$
gdzie W – masa ciała [kg], H – wysokość [cm].
Wzajemne zależności w grupach - badanej i porównawczej zebrano w Tabelach 2 i 3.

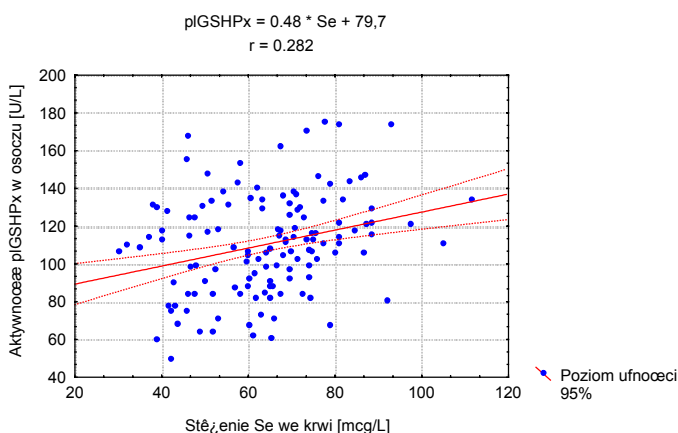
Tabela 2. Wartości współczynnika korelacji Pearsona (P) lub Spearmana (S) między analizowanymi parametrami w grupie badanej. Poziomy istotności: a) p<0,001, b) p<0,01, c) p<0,05.

	PIGSHPx	fT4	TSH	IU	TV	TVD	TVGO	TVGU	TV/BSA
Se	0,282 ^{pa}	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
PIGSHPx		NS	NS	NS	NS	-0,277 ^b	-0,234 ^{sb}	-0,234 ^{sb}	-0,180 ^{sc}
fT4			NS	NS	-0,333 ^{sa}	-0,299 ^{pa}	-0,356 ^{sa}	-0,253 ^{sb}	-0,306 ^{sa}
TSH				NS	NS	-0,211 ^{sc}	NS	-0,233 ^{sb}	NS
IU					NS	NS	NS	NS	NS

Tabela 3. Wartości współczynnika korelacji Spearmana między analizowanymi parametrami w grupie porównawczej. Dla podanych współczynników poziom istotności p<0,05.

	PIGSHPx	fT4	TSH	IU
Se	NS	NS	-0,385	-0,549
PIGSHPx		NS	NS	NS
fT4			NS	NS
TSH				NS

Przykładowo - zależność pomiędzy pIGSHPx i Se w grupie badanej przedstawiono na rys. 10.



Rys. 10. Prosta regresji dla zależności aktywności pIGSHPx od stężenia Se we krwi, krzywe ufności oraz punkty pomiarowe.

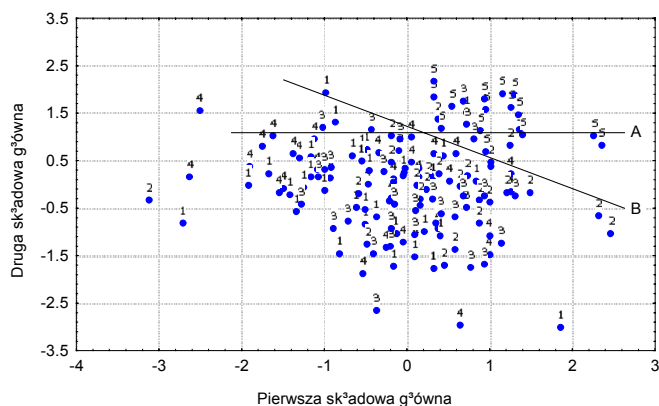
Posługując się kryteriami sformułowanymi w rozdziale „Obliczenia statystyczne”, postanowiono uwzględnić tylko dwie pierwsze składowe główne. Wyniki analizy składowych głównych dla grupy badanej i porównawczej – łącznie - przedstawiono w Tabelach 4-5. Całkowity procent zmienności parametrów wyjaśniony przez dwie pierwsze składowe wynosił 54,6%. Na rys. 11 przedstawiono rozrzut wszystkich analizowanych obiektów (wszystkich dzieci) w układzie dwóch pierwszych składowych głównych obliczonych dla obu grup łącznie.

Tabela 4. Wartości własne macierzy korelacji parametrów (Se-B, pIGSHPx, TSH, fT4, IU) oraz procent zmienności wymienionych parametrów wyjaśniony przez dwie pierwsze składowe główne łącznie w grupach: badanej i porównawczej.

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

Tabela 5. Współczynniki pierwszej i drugiej składowej głównej oraz współczynniki korelacji pomiędzy parametrami i składowymi głównymi łącznie w grupach: badanej i porównawczej.

Parametr	I składowa		II składowa		Zasoby wspólne
	wsp. I skład.	wsp. korel.	wsp. II skład.	wsp. korel.	
fT4	0,512	0,663	-0,074	-0,076	0,390
TSH	-0,222	-0,287	0,571	0,585	0,485
Se	0,190	0,246	0,693	0,710	0,662
PIGSHPx	0,613	0,793	0,433	0,444	0,786
IU	0,526	0,681	-0,029	-0,030	0,406



Rys. 11. Rozrzut analizowanych obiektów (wszystkich dzieci) w układzie dwóch pierwszych składowych głównych obliczonych łącznie dla grupy badanej i porównawczej.

Oznaczenia: 1 - populacja z Janowa Lubelskiego, 2 - populacja z Rudnika, 3 - populacja z Nowej Dęby, 4 - populacja z Sandomierza, 5 - grupa porównawcza. Prosta A rozdziela w kierunku pionowym obszar zgrupowania obiektów należących głównie do grupy porównawczej od obszaru

5 Dyskusja

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

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

Poza niedoborem Se w środowisku, dodatkowym czynnikiem zmniejszającym spożycie tego pierwiastka na obszarze województwa tarnobrzesckiego może być duża zawartość siarki w glebach i wodach, wielokrotnie przekraczająca wartości średnie dla Polski. W niniejszej pracy nie oznaczano stężeń związków siarki w częściach składowych środowiska ani w pożywieniu, w związku z czym korelacja pomiędzy stężeniem Se we krwi i S w środowisku

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

Pomiar aktywności pIGSHPx służy do określenia biologicznej aktywności selenu. Rozkład aktywności pIGSHPx w osoczu krwi w różnych populacjach kształtuje się podobnie jak stężenia Se. Poza dziećmi z niektórymi chorobami, niską aktywność tego enzymu stwierdzono u zdrowych dzieci na Węgrzech i w Niemczech. Większość wyników dla zdrowych dzieci, podanych przez różnych autorów, zawarta jest w przedziale $140\text{-}210 \text{ U/L}$ osocza - znacznie przesuniętym w prawo w stosunku do zakresu aktywności tego enzymu w grupie badanej. Brak standaryzacji metod oznaczania aktywności pIGSHPx sprawia jednak, że porównanie wyników różnych autorów dotyczących aktywności tego enzymu ma bardzo ograniczone znaczenie. Dlatego bardziej zasadne wydaje się porównywanie względnych różnic aktywności pIGSHPx, tj. stosunku aktywności pIGSHPx u dzieci badanych do aktywności enzymu u dzieci z grupy porównawczej. W Tabeli 6 zestawiono, wyliczone przez autora, stosunki stężeń Se i stosunki aktywności pIGSHPx we krwi kilku badanych populacji.

Tabela 6. Stosunki stężeń Se w pełnej krwi i stosunki aktywności pIGSHPx w osoczu w różnych grupach dzieci.

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

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

Wyniki oznaczania Se-B, pIGSHPx oraz IU jednoznacznie wskazują, że grupa badana była niedoborowa ze względu na oba pierwiastki (Se, I), natomiast status selenowy i jodowy grupy porównawczej był znacznie wyższy. Jednak także w tej grupie pewien odsetek dzieci wykazywał obniżone stężenie jodu w moczu. Ponieważ cały obszar kraju objęty jest endemią wola w stopniu umiarkowanym lub lekkim, przeto w żadnej grupie dzieci nie można wykluczyć wystąpienia przypadków niedoboru jodu.

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

W Tabelach 2 i 3 zebrano wszystkie obliczone korelacje pomiędzy badanymi parametrami. Statystycznie istotna dodatnia korelacja pomiędzy stężeniem Se a aktywnością pIGSHPx we krwi ($p < 0,001$) w grupie badanej jest zasadniczo zgodna z wynikami innych autorów mierzących stężenie Se i aktywność GSHPx w pełnej krwi lub stężenie Se i aktywność pIGSHPx w osoczu u osób zdrowych.

W niniejszym opracowaniu nie znaleziono ujemnej korelacji pomiędzy stężeniem Se we krwi a stężeniem wolnej tyroksyny w osoczu, czego oczekiwano, zakładając, że niedobór Se hamuje odjodowanie T4 do T3. Korelację taką wykazali Kvicala i wsp. (1995): $r = -0,173$, $p < 0,01$. Grupa zbadana przez nich była jednak w tym przypadku znacznie bardziej liczna, obejmując kobiety i mężczyzn w przedziale wiekowym od kilku do kilkudziesięciu lat. Na-

tomiasz w większych przedziałach wiekowych autorzy ci nie wykazali istotnej statystycznie korelacji pomiędzy tymi parametrami. Również w pracy Dohána i wsp. (1996) nie stwierdzono takiej korelacji.

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

W niniejszym opracowaniu znaleziono ujemną korelację pomiędzy fT4 i TV w całej badanej grupie ($r = -0,330$, $p < 0,001$, $n = 132$) oraz w podgrupie dziewcząt ($r = -0,346$, $p < 0,005$, $n = 86$). W pracy Kvicaly i wsp. (1995) stwierdzono podobną korelację pomiędzy tymi parametrami jedynie u mężczyzn powyżej 18 roku życia. W Tabeli 2 wykazano również istotne korelacje pomiędzy stężeniem fT4 w osoczu a znormalizowanymi objętościami tarczycy. Wszystkie korelacje były ujemne.

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

Jaśniej zarysowane różnice stężeń hormonów (fT4, TSH) przyniosła analiza, w której wyodrębniono z grupy badanej podgrupę dziewcząt, o najniższych wartościach stężenia Se-B (D1),

oraz podgrupę dziewcząt o najwyższym stężeniu Se (D3) i grupy te zestawiono z podgrupą dziewcząt z grupy porównawczej (DGP). Grupy D1 i D3 odznaczały się takim samym stopniem niedoboru jodu ale różnym statusem selenowym (rys. 6-7). Znamienne wyższe stężenie fT4 w grupie D1 w stosunku do D3, jak również w stosunku do DGP, należy przypisać deficytowi selenu (rys. 8). Za tą tezę przemawiają również rezultaty uzyskane przez innych autorów dla dzieci leczonych z powodu fenyloketonurii oraz dla dzieci żyjących na obszarach jednoczesnego niedoboru obu pierwiastków.

Stężenie TSH w grupie D1 nie różniło się znamienne od stężenia tego hormonu w grupie DGP, jednak było znamienne wyższe aniżeli w grupie D3 (rys. 9). Zaobserwowany efekt jest zgodny z wynikami badań na zwierzętach, u których stwierdzono, spowodowane deficytem selenu, zwiększenie stężenia fT4 i w konsekwencji - ograniczenie aktywności dejodazy jodotyroniny typu II w przysadce mózgowej. Pociągało to za sobą wzrost wydzielania TSH w tym gruczole. Powyższy mechanizm zaproponowany dla zwierząt żyjących w warunkach drastycznej hipertyroksynemii wywołanej deficytem selenu nie może jednak być bezkrytycznie porównywany z wynikami uzyskanymi w niniejszych badaniach. Tutaj deficyt selenu nie był tak znaczny. Ostrożnie również należy podejść do uzyskanych wyników TSH, ponieważ wiadomo, że wydzielanie TSH przebiega pulsacyjnie w cyklu okołodobowym. Ze względu na dużą rozpiętość pomiędzy najniższymi i najwyższymi wartościami stężeń TSH w osoczu, pojedynczy pomiar stężenia tego hormonu może niekiedy przynieść wartość znacznie różniącą się od wartości średniej. Należy także podkreślić, że pomimo wykazanych istotnych różnic, wahania stężeń obu hormonów w grupach D1 i D3 w zdecydowanej większości przypadków mieściły się w przedziałach wartości prawidłowych.

Fakt, że różnice stężeń hormonów (fT4, TSH) w grupach o odmiennym statusie selenowym, stwierdzono jedynie u dziewcząt, spośród których ok. 70% weszło w okres dojrzewania płciowego, pozwala przypuszczać, że organizm dziewcząt wykazuje większą wrażliwość na niedobór selenu podczas intensywnych przemian hormonalnych, charakterystycznych dla wieku pokwitania. W badaniach Podoby i wsp. (1996) wykazano jednoznacznie, że powyżej 9-10 roku

życia dynamika wzrostu tarczycy uzależniona jest nie tylko od wieku ale również od płci badanych dzieci i jest wyższa dla dziewcząt aż do 15 roku życia. Ponadto, ponieważ zaburzenia tarczycy częściej występują u kobiet, przeto uważa się, że żeńskie hormony płciowe mogą mieć wpływ na wydzielanie TSH i hormonów tarczycy. Chociaż wyniki uzyskane przez różnych autorów w badaniach nad tym zagadnieniem są niejednoznaczne, to dodatkowej przesłanki dostarczają wspomniane wcześniej badania Kvicaly i wsp., (1995), gdzie stwierdzono istotne korelacje pomiędzy: Se i T4/T3, Se i TV oraz Se i TSH - jedynie w niektórych grupach wyselekcjonowanych ze względu na wiek i płeć, a znak odpowiednich współczynników korelacji zmieniał się dla różnych grup wiekowych i płci.

W celu uchwycenia współzależności pomiędzy oznaczanymi parametrami oraz przedstawienia obserwacji w układzie dwuwymiarowym, posłużono się statystyczną metodą składowych głównych (PCA) (tabele 4-5, rys. 11). Próba aproksymacji pięciowymiarowej przestrzeni parametrów (Se-B, pIGSHPx, fT4, TSH, IU) za pomocą płaszczyzny wyznaczonej przez dwie pierwsze składowe główne związana była ze znaczną utratą informacji, ponieważ część wariancji nie wyjaśnionej przez model składowych głównych przekraczała 40%. Wiadomo jednak, że możliwe jest zastosowanie PCA do interpretacji statystycznej badań próbek biologicznych nawet z taką utratą informacji.

Pierwsza składowa główna jest jednocześnie miarą zasobów jodu i metabolizmu selenu, gdyż wysokie współczynniki korelacji z tą składową wykazują zarówno fT4 i IU jak również pIGSHPx (Tabela 5). Z drugą składową główną korelują Se, pIGSHPx i TSH. Świadczy to o wyraźnej współzależności tych parametrów. Przedstawienie obserwacji w układzie dwuwymiarowym potwierdza fakt odrębności grupy porównawczej, która tworzy łatwo widoczne, zwarte zgrupowanie (rys. 11).

6 WNIOSKI

1. Obniżone stężenie selenu we krwi i jodu w moczu badanych dzieci wskazuje na równoczesny niedobór obu tych pierwiastków.

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

Skrócona, angielska wersja pracy doktorskiej „Wpływ niedoboru selenu na metabolizm hormonów tarczycy u dzieci z Polski Południowo-Wschodniej“ ukazała się w czasopiśmie *Environmental Health Perspectives*, (2000), vol. 108, 67-71, „The role of selenium in iodine metabolism in children with goiter“.