

K. Eder
A. Kralik
M. Kirchgeßner

Beeinflussung des Stoffwechsels der Schilddrüsenhormone bei defizitärer bis subtoxischer Selenversorgung

Influence of deficient to subtoxic selenium intake on metabolism of thyroid hormones

Zusammenfassung Die Auswirkungen einer unterschiedlichen Selenversorgung auf Parameter des Stoffwechsels der Schilddrüsenhormone sollten in einem Versuch mit 72 männlichen wachsenden Sprague Dawley Ratten untersucht werden. Die Tiere wurden in 6 Gruppen eingeteilt, wovon eine Gruppe eine selenarme halbsynthetische Diät auf Caseinbasis mit einem Se-Gehalt von 38 µg/kg erhielt. Die übrigen Gruppen erhielten die selbe Diät, die durch Zulage von Na₂SO₃·5H₂O auf Selengehalte von 50, 100, 300, 600 und 3 000 µg/kg gebracht wurde. Die Versuchsdauer betrug 40 Tage. Die unterschiedliche Zufuhr von Selen hatte keinen Einfluß auf Futteraufnahme, Entwicklung der Lebendmasse, hämatologische und ausgewählte klinisch-chemische Parameter. Ein Selenmangel bei der Gruppe, die die nicht supplementierte Basisdiät erhalten hatte, konnte

anhand der Aktivität der Glutathion-Peroxidase und der Selenkonzentration im Serum diagnostiziert werden. Beide Parameter stiegen ab einer Se-Zulage von 300 µg/kg noch an, allerdings geringfügig. Die Konzentration von T₃ im Serum und die Aktivität der Typ-I-Deiodase in der Leber der Gruppe ohne Selenzulage war im Vergleich zu den bedarfsgerecht (100, 300 µg/kg) versorgten Gruppen vermindert. Bereits eine Selenzulage von 50 µg/kg Diät konnte die Aktivität der Typ-I-Deiodase auf die Werte der bedarfsgerecht versorgten Gruppen mit 100 und 300 µg Selenzulage anheben. Bei den Gruppen mit 600 und 3 000 µg/kg Diät Selenzulage war die Konzentration von T₃ im Serum im Vergleich zu den bedarfsgerecht versorgten Gruppen auf etwa die Hälfte reduziert. Durch die Selenzulage von 3 000 µg/kg Diät war die Aktivität der Typ-I-Deiodase gegenüber den bedarfsgerecht versorgten Gruppen vermindert, die Verminderung war jedoch nicht statistisch signifikant. Die Konzentrationen von T₄ und fT₄ waren durch die unterschiedliche Selenzufuhr kaum verändert. Die Untersuchung zeigt insgesamt, daß sowohl unzureichende als auch über den Bedarf hinausgehende Selenzufuhr zu Veränderungen im Stoffwechsel der Schilddrüsenhormone führt.

Summary In an experiment with 72 male weanling Sprague Dawley rats the effect of varying selenium intake on parameters of thyroid hormone metabolism was investigated. The animals were divided into 6 groups. One of the groups was fed a semi-synthetic diet based on casein which was poor in selenium (38 µg/kg). The other groups were fed the same diet supplemented with Na₂SO₃·5H₂O to achieve a selenium concentration of 50, 100, 300, 600 and 3 000 µg/kg. The experiment lasted 40 days. Different selenium intake had no effect on food intake, weight gain, hematological and selected clinical-chemical parameters. Determination of glutathione peroxidase activity and selenium concentration of serum showed a selenium deficiency in animals fed the diet not supplemented with selenium. Serum T₃ concentration and hepatic type-I-deiodinase activity were decreased in the group without selenium supplementation in contrast to the groups fed diets adequate in selenium (100, 300 µg/kg). A diet supplementation of 50 µg/kg already increased hepatic type-I-deiodinase activity to levels of the groups fed diets adequate in selenium. In groups supplemented with 600 and 3 000 µg/kg diet, serum T₃ concentration was reduced by half of groups fed diets

Eingegangen: 15. April 1995
Akzeptiert: 20. Juni 1995

K. Eder · A. Kralik
Prof. Dr. Dr. h.c. mult. M. Kirchgeßner (✉)
Institut für Ernährungsphysiologie
85350 Freising-Weihenstephan

adequate in selenium.

Supplementation with 3 000 µg Se/kg lowered the type-I-deiodinase activity in contrast to groups fed diets adequate in selenium, but not significantly. Serum concentrations of T₄ and fT₄ were not changed by various selenium intake. The results of this investigation show an alteration in thyroid hormone metabolism at low selenium intake as well as at high selenium intake.

Schlüsselwörter Selen – Glutathion-Peroxidase – Schilddrüsenhormone – Thyroxin – Triiodthyronin – Typ-I-Deiodase

Key words Selenium – glutathione peroxidase – thyroid hormones – thyroxine – triiodothyronine – type-I-deiodinase

Abbreviation index GSH-Px = Glutathion-Peroxidase · ID-I = Typ-I-Deiodase · MCV = mittleres korpuskuläres Zellvolumen der Erythrozyten · ppb = parts per billion · ppm = parts per million · Se = Selen · T₃ = Triiodthyronin · T₄ = Gesamt-Thyroxin · fT₄ = freies Thyroxin

Einleitung

Seit der Entdeckung der Essentialität von Selen (29) war das Enzym Glutathionperoxidase (GSH-Px) lange Zeit das einzige bekannte Selenoprotein (28). Beckett et al. (7) fanden im Rahmen von Selenmangelversuchen erste Hinweise auf einen Zusammenhang von Selen und der Konversion von Thyroxin (T₄) in Triiodthyronin (T₃). Die Identifizierung der Typ-I-Deiodase (ID-I) als Selenoprotein erfolgte wenig später (10, 12). Das von der Schilddrüse sezernierte T₄ wird in der Peripherie durch enzymatische Deiodierung in seine bioaktive Form T₃ umgewandelt. Dies geschieht hauptsächlich durch die Typ-I-Deiodase, die vorrangig in Leber und Niere lokalisiert ist (19).

In der vorliegenden Arbeit sollten die Auswirkungen einer unterschiedlich hohen Selenversorgung auf den Stoffwechsel der Schilddrüsenhormone untersucht werden. Dabei sollte bei wachsenden Ratten die Verabreichung selenarmer Diäten mit einer Selenkonzentration von 0,038 mg/kg bzw. 0,050 mg/kg eine deutlich unter dem Bedarf (0,180 mg/kg; AIN-93, 27) liegende Versorgung darstellen. Selenkonzentrationen von 0,100 und 0,300 mg/kg in der Diät wurden als adäquate Selenversorgung, ein Selengehalt von 3,0 mg/kg als subtoxisch erachtet.

Zur Erfassung des allgemeinen physiologischen Status der Versuchstiere wurden darüber hinaus verschiedene klinisch-chemische und hämatologische Parameter bestimmt.

Material und Methoden

72 männliche wachsende Sprague Dawley Ratten mit einer anfänglichen Lebendmasse von 47 ± 3 g wurden in eine Depletionsgruppe und fünf Zulagengruppen à 12 Tiere eingeteilt. Die Depletionsgruppe erhielt eine halbsynthetische Diät auf Caseinbasis mit einem Selengehalt von 38 ± 3 µg/kg. Für die Zulagengruppen wurde diese Diät mit Na₂SeO₃·5H₂O supplementiert, so daß in den einzelnen Diäten absolute Selengehalte von 50, 100, 300,

600 und 3 000 µg/kg resultierten. Die Zusammensetzung der Diät ist in Tabelle 1 dargestellt. Die Zugabe sämtlicher Spurenelemente zur Diät erfolgte in flüssiger Form beim Anteigen der Diät, um eine gleichmäßige Verteilung zu gewährleisten. Alle Versuchsgruppen erhielten die Diät zur freien Aufnahme. Die Versuchsdauer betrug 40 Tage.

Als Trinkwasser stand Reinstwasser zur freien Aufnahme zur Verfügung, das durch Zusatz von NaCl s.p. auf die durchschnittliche Osmolarität von Leitungswasser gebracht wurde. Die Haltung der Tiere erfolgte in Makrolonkäfigen in einer klimaregelten Kammer bei einer Temperatur von 23 °C und einer relativen Luftfeuchte von 60 % und zwölfstündigem Licht-Dunkel-Zyklus. Um eine Kontamination mit Selen zu vermeiden, wurde auf Einstreu verzichtet. Am Ende des Versuches wurden alle Tiere unter Ethernarkose dekapitiert und das Serum gewonnen. Nach dem Ausbluten wurde die Leber entnom-

Tabelle 1 Zusammensetzung der Basisdiät

Komponenten	Anteil (g/100 g)
Casein	20,0
Maisstärke	32,8
Saccharose	30,0
Cellulose	3,0
Kokosfett	6,5
Distelöl	1,5
DL-Methionin	0,2
Mineralstoffmischung ¹⁾	4,0
Vitaminmischung ²⁾	2,0

¹⁾ Mineralstoffe pro kg Diät: CaCO₃ s.p. 13,6 g; Na₂HPO₄ (wasserfrei) s.p. 8,57 g; KH₂PO₄·7H₂O s.p. 8,2 g; KCl s.p. 6,0 g; MgCl₂·6H₂O 3,4 g; FeSO₄·7H₂O 248,8 mg; ZnSO₄·7H₂O 175,9 mg; KJO₃ s.p. 3,5 mg; CuSO₄·5H₂O 59,0 mg; MnSO₄·5H₂O 123,1 mg; NaF s.p. 1,2 mg; NiSO₄·6H₂O 4,48 mg; Na₂MoO₄·2H₂O 0,5 mg; SnCl₂·2H₂O 0,57 mg; CrCl₃·6H₂O 0,51 mg; NH₄VO₃ 0,23 mg; Na₂SiO₃·5H₂O 1,51 mg

²⁾ Vitamine pro kg Diät: 5 000 I.E. Retinol; 300 I.E. Cholecalciferol; 150 mg α-Tocopherolacetat; 5 mg Menadion-Natriumbisulfid; 5 mg Thiaminmononitrat; 10 mg Riboflavin; 6 mg Pyridoxinhydrochlorid; 50 mg Ca-D-Pantothenat; 20 mg Nikotinsäure; 0,2 mg Folsäure; 0,025 mg Vitamin B₁₂; 1 000 mg Cholinchlorid; Saccharose und Maisstärke (1+1) ad 20 g

men, in flüssigem Stickstoff tiefgefroren und bis zur Analyse bei -80 °C aufbewahrt.

Zur Bestimmung des Selenstatus der Versuchstiere wurde die Aktivität der Glutathionperoxidase (GSH-Px) im Serum herangezogen. Die Bestimmung erfolgte nach der Methode von Paglia und Valentine (26), die von Levander et al. (21) modifiziert wurde. Die quantitative Bestimmung von Selen im unverdünnten Serum erfolgte mittels Atomabsorptionsspektroskopie (AAS) mit Graphitrohrfentechnik (HGA-500, Fa. Perkin-Elmer, Überlingen). Zur Bestimmung der Selenkonzentration der Diät mittels AAS wurden die Proben zunächst einem offenen NaBaufschluß mit einem HNO₃/HCl/HCO₄-Säuregemisch unterzogen.

Die Konzentrationen der Schilddrüsenhormone T₃, T₄ und freies T₄ (fT₄) im Serum wurden mit enzymimmunologischen Testsätzen (ELISA) der Fa. Boehringer, Mannheim, ermittelt.

Als Maß für die Aktivität der Typ-I-Deiodase in der Leber diente die während einer bestimmten Zeiteinheit aus T₄ gebildeten Menge an T₃. Grundlage dieser Bestimmung ist die Methode von Visser et al. (32, 33). Als Homogenisierungsmedium für das Lebergewebe wurde 7 %ige Rinderserumalbuminlösung (RSA) gewählt, da die Anwesenheit aller übrigen Medien zu sehr niedrigen Wiederfindungsraten von T₃ im Testansatz führte. 3,0 g Lebergewebe und 9 ml RSA (7 %) wurden in einem Potter-Elvehjem-Homogenisator (Fa. B. Braun, Melsungen) bei 1 200 U/min im Eisbad eine Minute homogenisiert. Zu 2 ml des Homogenats wurden 20 µl T₄-Lösung (100 mg Thyroxin/l, Merck in 5 mM NaOH) zugegeben und bei 37 °C 10 Minuten inkubiert. Die Reaktion wurde durch Hitzedenaturierung des Proteins (bei 65 °C) gestoppt. Der Überstand wurde nach Zentrifugation (1 100 g, 4 °C, 10 min) zur T₃-Bestimmung eingesetzt. Die gesamte Enzymbestimmung wurde für jede Probe doppelt durchgeführt. Es erfolgte eine Korrektur des in der Probe enthaltenen originären T₃ sowie der nicht-enzymatischen Umsetzung von T₄ zu T₃.

In frisch gewonnenem Blut, das in heparinisierten 1,5 ml Eppendorf-Reaktionsgefäßen aufgefangen wurde, wurden mit einem Coulter Counter (Fa. Coulter Electronics

GmbH, Krefeld) Erythrozytenzahl, Hämatokrit und mittleres korpuskuläres Zellvolumen (MCV) bestimmt. Die Messung der Hämoglobinkonzentration im Rattenblut wurde mit einem Hämoglobinmeter (Fa. Coulter Electronics GmbH, Krefeld) durchgeführt.

Die Serumparameter (Albumin, Alkalische Phosphatase, Calcium, Creatinin, Gesamt-Eiweiß, Harnsäure, Harnstoff, Magnesium, Phosphor) wurden an einem Autoanalyser (Hitachi, Modell 704) mit Testkombinationen der Fa. Boehringer, Mannheim, gemessen.

Die Versuchsergebnisse wurden varianzanalytisch ausgewertet, die Mittelwerte der Behandlungsgruppen wurden einem multiplen Mittelwertsvergleich nach Tukey unterzogen. Die Ergebnisse sind als Gruppenmittelwerte und Standardabweichungen der Einzelwerte dargestellt. Mittelwerte mit unterschiedlichen hochgestellten Buchstaben sind signifikant (p < 0,05) verschieden.

Ergebnisse

Bei den Versuchsgruppen, deren Diäten Selenzulagen bis 300 µg/kg erhielten, bestand hinsichtlich des Endgewichtes und der Futteraufnahme kein Unterschied (Tab. 2). Bei den höher versorgten Gruppen war ein leichter Abfall beider Parameter zu erkennen, der jedoch statistisch nicht signifikant war. Ein Unterschied in der Futterverwertung zeigte sich zwischen den mit 100 und 600 µg Se/kg Diät supplementierten Gruppen.

Zur Bewertung des Selenstatus der Versuchstiere wurden die Aktivität der GSH-Px und die Konzentration von Selen im Serum herangezogen (Tab. 3). Die Aktivität der GSH-Px im Serum stieg mit zunehmender Selenversorgung bis zu einer Selenzulage von 600 µg/kg an. Darüber stieg die Aktivität bei Einsatz der Diät mit 3 000 µg/kg Selen nur noch geringfügig an. Die Konzentration von Selen im Serum nahm mit steigender Selenversorgung signifikant zu.

Die Konzentration von T₃ im Serum der Tiere der Gruppen, deren Diäten mit 0 und 50 µg/kg Selen supplementiert waren, waren vermindert im Vergleich zu den Gruppen mit 100 und 300 µg/kg Selenzulage; ab einer

Tabelle 2 Lebendmasse zu Versuchsbeginn und nach einer Versuchsdauer von 40 Tagen, Futteraufnahme und Futterverwertung bei unterschiedlicher Selenversorgung

	Selenzulage (µg Se/kg Diät)					
	0	50	100	300	600	3 000
Anfangsgewicht (g)	47 ± 4	47 ± 4	47 ± 3	48 ± 2	48 ± 2	48 ± 2
Endgewicht (g)	407 ± 20	407 ± 28	410 ± 31	404 ± 14	386 ± 27	383 ± 28
Futteraufnahme (g)	810 ± 43	809 ± 52	817 ± 63	808 ± 46	795 ± 49	774 ± 58
Futterverwertung* (g)	2,3 ^a 2,3 ± 0,1 ^a ± 0,1	2,3 ^a 2,3 ± 0,1 ± 0,1	2,3 ^a 2,3 ± 0,1 ^a ± 0,1	2,3 ^{a,b} 2,3 ± 0,1 ^{ab} ± 0,1	2,4 ^b 2,4 ± 0,1 ^b ± 0,1	2,3 ^{a,b} 2,3 ± 0,1 ^{ab} ± 0,1

* Futteraufwand je g Zuwachs

Tabelle 3 Aktivität der Glutathionperoxidase (U/ml) und Konzentration von Selen (ng/ml) im Serum

	Selenzulage ($\mu\text{g Se/kg Diät}$)					
	0	50	100	300	600	3 000
Aktivität der GSH-Px im Serum	2,85 ^a $\pm 0,29$	4,13 ^b $\pm 0,65$	4,76 ^{b,c} $\pm 0,75$	5,32 ^c $\pm 0,68$	6,42 ^d $\pm 1,10$	6,68 ^d $\pm 0,99$
Selenkonzentration im Serum	190 ^a ± 19	351 ^b ± 29	490 ^c ± 37	532 ^c ± 46	608 ^d ± 47	689 ^c ± 47

Tabelle 4 Konzentrationen von T₃ (ng/ml), Gesamt-T₄ ($\mu\text{g/dl}$) und fT₄ (ng/dl) im Serum und Aktivität der Deiodase in der Leber (pg T₃/mg Leberprotein⁻¹·min⁻¹)

	Selenzulage ($\mu\text{g Se/kg Diät}$)					
	0	50	100	300	600	3 000
T ₃ (ng/ml)	0,73 ^a $+ 0,20$	0,73 ^a $\pm 0,10$	1,23 ^b $\pm 0,25$	1,26 ^b $\pm 0,17$	0,60 ^a $\pm 0,16$	0,58 ^a $\pm 0,15$
T ₄ ($\mu\text{g/dl}$)	1,73 ^a $+ 0,31$	1,60 ^a $\pm 0,27$	2,00 ^{ab} $\pm 0,36$	1,88 ^{ab} $\pm 0,30$	1,70 ^{ab} $\pm 0,32$	2,16 ^b $\pm 0,41$
fT ₄ (ng/dl)	4,03 ^{ab} $+ 0,43$	4,00 ^{ab} $\pm 0,45$	3,91 ^{ab} $\pm 0,59$	3,90 ^{ab} $\pm 0,66$	3,43 ^a $\pm 0,63$	4,49 ^b $\pm 0,64$
Aktivität der Deiodase	38,1 ^a $+ 14,0$	63,7 ^{abc} $\pm 16,4$	70,6 ^{bc} $\pm 20,9$	72,8 ^{bc} $\pm 21,0$	88,4 ^c $\pm 27,7$	52,5 ^{ab} $\pm 24,0$

Tabelle 5 Hämatologische Parameter der Versuchstiere bei unterschiedlicher Selenversorgung

	Selenzulage ($\mu\text{g Se/kg Diät}$)					
	0	50	100	300	600	3 000
Hämoglobin (g/dl)	13,5 $\pm 1,5$	13,5 $\pm 2,4$	13,6 $\pm 2,1$	12,3 $\pm 1,9$	11,7 $\pm 1,8$	12,9 $\pm 1,8$
Hämatokrit (%)	36,2 ^a $\pm 5,6$	35,6 ^a $\pm 4,1$	36,1 ^a $\pm 4,1$	40,9 ^{ab} $\pm 5,7$	43,0 ^b $\pm 5,4$	43,9 ^b $\pm 6,4$
Erythrozyten (10 ^{12/l})	6,08 ^{ab} $\pm 0,74$	5,87 ^a $\pm 0,95$	5,92 ^a $\pm 0,92$	5,84 ^a $\pm 0,81$	7,00 ^b $\pm 0,88$	6,32 ^{ab} $\pm 1,00$
MCV (μm^3)	56,7 ^a $\pm 1,7$	56,5 ^a $\pm 2,2$	56,7 ^a $\pm 1,4$	68,5 ^c $\pm 2,6$	60,8 ^b $\pm 3,4$	68,5 ^c $\pm 1,7$

Selenzulage von 600 $\mu\text{g/kg}$ trat gegenüber den bedarfsgerecht versorgten Gruppen ebenfalls eine Verminderung der T₃-Konzentration auf (Tab. 4). Die Konzentration von T₄ im Serum wurde durch die Selenversorgung nicht beeinflusst. Die höchsten T₄-Konzentrationen traten bei den mit Zulagen von 100 und 3 000 $\mu\text{g/kg}$ Selen versorgten Gruppen auf. Die Konzentration des fT₄ im Serum zeigte zwischen den einzelnen Gruppen nur geringfügige Unterschiede, wobei ebenfalls kein gerichteter Verlauf ersichtlich war. Lediglich die fT₄-Konzentration bei den

mit 3 000 $\mu\text{g/kg}$ Selen supplementierten Tieren war gegenüber der Gruppe mit 600 $\mu\text{g/kg}$ Selen signifikant erhöht.

Die Aktivität der ID-I in der Leber war bei der Gruppe ohne Selenzulage im Vergleich zu den Gruppen mit einer Selenzulage mit 50 bis 600 $\mu\text{g/kg}$ Diät vermindert. Im Vergleich zu der mit 100 $\mu\text{g Se/kg}$ Zulage versorgten Gruppe war die Aktivität bei der Gruppe ohne Selenzulage um 46 % niedriger. Eine Selenzulage von 50 $\mu\text{g/kg}$ Diät erhöhte die Aktivität der ID-I bereits um 40 %. Mit

Tabelle 6 Ausgewählte klinisch-chemische Parameter der Versuchstiere bei unterschiedlicher Selenversorgung

	Selenzulage ($\mu\text{g Se/kg Diät}$)					
	0	50	100	300	600	3 000
Albumin (g/dl)	3,63 ^b	3,60 ^b	3,72 ^b	3,49 ^{ab}	3,31 ^a	3,58 ^{ab}
	$\pm 0,21$	$\pm 0,20$	$\pm 0,23$	$\pm 0,19$	$\pm 0,34$	$\pm 0,23$
Gesamtprotein (g/dl)	6,27	6,21	6,40	6,25	6,04	6,23
	$\pm 0,29$	$\pm 0,46$	$\pm 0,30$	$\pm 0,21$	$\pm 0,38$	$\pm 0,55$
Alk. Phosphatase (U/l)	696	697	746	645	667	585
	± 179	± 149	± 133	± 143	± 106	± 160
Harnstoff (mg/dl)	43,8	43,7	44,6	40,4	44,2	44,8
	$\pm 5,7$	$\pm 7,0$	$\pm 8,3$	$\pm 7,2$	$\pm 10,9$	$\pm 7,6$
Harnsäure (mg/dl)	3,08 ^b	2,53 ^a	2,56 ^a	2,96 ^{ab}	2,83 ^{ab}	2,93 ^{ab}
	$\pm 0,46$	$\pm 0,31$	$\pm 0,30$	$\pm 0,39$	$\pm 0,30$	$\pm 0,61$
Creatinin (mg/dl)	0,51	0,52	0,53	0,53	0,53	0,52
	$\pm 0,03$	$\pm 0,03$	$\pm 0,03$	$\pm 0,02$	$\pm 0,03$	$\pm 0,05$
Calcium (mmol/l)	2,88	2,93	2,94	2,94	2,85	2,83
	$\pm 0,14$	$\pm 0,10$	$\pm 0,18$	$\pm 0,10$	$\pm 0,22$	$\pm 0,24$
Magnesium (mmol/l)	1,38	1,69	1,58	1,68	1,68	1,45
	$\pm 0,32$	$\pm 0,37$	$\pm 0,33$	$\pm 0,31$	$\pm 0,36$	$\pm 0,56$
Phosphat (mmol/l)	3,18 ^b	3,15 ^b	3,15 ^b	2,91 ^a	3,04 ^{ab}	2,93 ^a
	$\pm 0,20$	$\pm 0,16$	$\pm 0,16$	$\pm 0,25$	$\pm 0,09$	$\pm 0,21$

zunehmender Selenzulage stieg die Aktivität bis zu einer Diät-Selenzulage von 600 $\mu\text{g/kg}$ an. Bei den Tieren der Gruppe mit 3 000 $\mu\text{g Se/kg}$ Zulage fiel die Aktivität wieder ab.

Die Hämoglobinkonzentration im Blut wurde von der unterschiedlichen Selenversorgung nicht beeinflusst (Tab. 5). Der Hämatokrit war bei Se-Zulagen von 0 bis 100 $\mu\text{g/kg}$ Diät annähernd konstant, stieg dann ab einer Zulage von 300 $\mu\text{g Se/kg}$ jedoch leicht an.

Die Gesamtzahl der Erythrozyten ließ keinen gerichteten Einfluß der unterschiedlichen Selenversorgung erkennen. Lediglich bei der Gruppe mit 600 $\mu\text{g Se/kg}$ Zulage war die Erythrozytenzahl im Vergleich zur Gruppe mit 300 $\mu\text{g/kg}$ um durchschnittlich 22 % erhöht. Das MCV der Gruppen, die Diäten mit einer Selenzulage von 0 bis 100 $\mu\text{g/kg}$ erhalten hatten, war nahezu gleich. Bei höheren Selenzulagen war das MCV signifikant erhöht.

Zur Beurteilung des physiologischen Zustandes der Versuchstiere wurden im Serum die Albumin- und Gesamtproteinkonzentration, die Aktivität der alkalischen Phosphatase sowie Harnstoff-, Harnsäure- und Creatinin-konzentration bestimmt. Darüber hinaus wurden die Konzentrationen von Calcium, Magnesium und Phosphat im Serum ermittelt (Tab. 6). Es zeigte sich bei keinem dieser Parameter ein gerichteter Einfluß der Selenzufuhr.

Diskussion

Die Aktivität der GSH-Px im Serum hängt weitgehend vom Selenstatus ab und steigt ab einem Diätselengehalt von 200 bzw. 250 $\mu\text{g/kg}$ nicht weiter an (6, 20, 34). Auch in der vorliegenden Untersuchung war ab einer Selenzulage von 100 $\mu\text{g/kg}$ bis zu 300 $\mu\text{g/kg}$ zur Diät keine wesentliche Zunahme mehr zu beobachten, während die Aktivität jedoch bei einer Zulage von 600 $\mu\text{g/kg}$ noch einmal signifikant anstieg. Eine weitere Steigerung konnte auch durch eine fünffache Selenkonzentration in der Diät (3 000 $\mu\text{g/kg}$) nicht erreicht werden. Im Gegensatz dazu stieg die Selenkonzentration im Serum von der Gruppe mit 300 $\mu\text{g/kg}$ Selenzulage zur Gruppe mit 600 $\mu\text{g/kg}$ (12 %) und weiter zur Gruppe mit 3 000 $\mu\text{g/kg}$ (18 %) deutlich an. In der vorliegenden Untersuchung zeigte sich, wie auch bei anderen Autoren (1, 6, 16, 18, 24), kein Einfluß der Selenzufuhr auf die Gewichtsentwicklung der Versuchstiere. Bei den untersuchten Blutparametern zeigte sich ebenfalls kein Unterschied zwischen der Gruppe ohne Selenzulage und den bedarfsgerecht versorgten Gruppen. Diese Beobachtung deckt sich mit einer Reihe anderer Selenmangelversuche an der Ratte (6, 16, 24). Bei den Versuchsgruppen, die über dem Bedarf liegende Selenzulagen erhalten hatten, war der Hämatokrit

allerdings leicht erhöht. Ursache dafür ist eine Vergrößerung der Zellen, da das MCV bei diesen Gruppen signifikant erhöht war.

Die Verabreichung der nicht mit Selen supplementierten Diät führte in der vorliegenden Arbeit gegenüber einer bedarfsgerechten Versorgung zu einer um 46 % verminderten Aktivität der Typ-I-Deiodase in der Leber, die bereits durch eine Zulage von 50 µg Se/kg Diät wieder auf die Werte der bedarfsgerecht versorgten Gruppen angehoben werden konnte. Untersuchungen anderer Autoren (3, 4, 8) ergaben nach einer Selendepletion von 6 Wochen einen Rückgang der Aktivität der ID-I auf 5–10 % der Werte der Kontrolltiere. Der im Vergleich zur vorliegenden Untersuchung wesentlich stärkere Abfall der Aktivität dürfte auf eine ausgeprägtere Selendepletion der Versuchstiere zurückzuführen sein. Die Typ-I-Deiodase katalysiert neben der 5'-Monodeiodierung von T₄ auch die 5-Monodeiodierung von T₃ (19). Durch eine eingeschränkte Aktivität dieses Enzyms wird gleichzeitig die Produktion und der weitere Metabolismus von T₃ gehemmt, was zu einer weitgehenden Aufrechterhaltung der T₃-Konzentration führt (4, 5, 23, 31). Da in der vorliegenden Untersuchung die Aktivität der ID-I nur um etwa 50 % vermindert war, dürfte auch der weitere Abbau von T₃ nicht völlig gehemmt sein, was die insgesamt verminderten Konzentrationen an T₃ erklären könnte.

Eine stark verminderte Aktivität der ID-I im Selenmangel führt zu einer verminderten Umsetzung von T₄ zu T₃, infolge derer die Konzentration von T₄ ansteigt. Ein weiterer Mechanismus, der zu einer höheren Konzentration von T₄ im Serum von Selenmangeltieren führt, ist eine verstärkte Neuproduktion von Schilddrüsenhormonen in der Schilddrüse, ausgelöst durch vermehrt anfallendes H₂O₂ aufgrund der verminderten GSH-Px-Aktivität innerhalb des Organs (15). Erhöhte Konzentrationen von H₂O₂ in der Schilddrüse fördern die Oxidation von aus dem Blut aufgenommenen Iodid zu elementarem Iod und somit die Synthese der Schilddrüsenhormone.

Während der Anstieg der T₄-Konzentration in der Mehrzahl der in der Literatur beschriebenen Selendepletionsversuche deutlich war (4, 7, 15, 22), trat in der vorliegenden Untersuchung keine Veränderung der T₄-Konzentration auf. Die Konzentration von T₄ im Serum wird bestimmt durch die Synthese und Ausschüttung der Schilddrüse und durch den Umfang der Umsetzung zu T₃ durch Monodeiodierung. Eine gestörte Synthesekapazität der Schilddrüse dürfte im Rahmen der Selendepletion in der vorliegenden Arbeit nicht eingetreten sein. Die Schilddrüse hat bei unzureichender Selenversorgung des Organismus eine Vorrangstellung gegenüber anderen Organen, wobei innerhalb der Selenoproteine der Schilddrüse Selen bevorzugt in die Typ-I-Deiodase eingebaut wird (9, 15). Vadhanavikit und Ganther (30) leiten aufgrund ihrer Untersuchungen für die Typ-I-Deiodase der Schilddrüse einen Selenbedarf von 10 µg/kg Diät ab und halten zur Gewährleistung einer normalen Funktion der Schild-

drüse bezüglich T₄-Konzentration im Serum und GSH-Px-Aktivität in der Schilddrüse als Protektor vor oxidativem Streß 50 µg Se/kg Diät für ausreichend. Da der Selengehalt der Basisdiät der vorliegenden Untersuchung 38 µg/kg betrug, ist eine verminderte T₄-Produktionskapazität der Schilddrüse als Ursache für den fehlenden Anstieg der Konzentration von T₄ im Serum also kaum anzunehmen. Die Konzentration von T₄ im Serum wird durch einen Feed-back-Mechanismus über TSH aufrecht erhalten. Eine Störung dieser Regulation im Selenmangel wurde mehrfach beschrieben (4, 7, 14) und könnte eine mögliche Ursache für das Ausbleiben des Anstiegs der T₄-Konzentration darstellen, der durch die reduzierte Aktivität der ID-I zu erwarten gewesen wäre. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung deuten darauf hin, daß eine marginale Selenunterversorgung möglicherweise hinsichtlich der Konzentrationen der Schilddrüsenhormone stärkere Veränderungen hervorruft, als ein starker Selenmangel, da in diesem Fall die Konzentrationen von T₃ und T₄ absinken, ohne daß in diesem Stadium bereits andere selenmangelbedingte Mechanismen, wie der H₂O₂-Anstieg in der Schilddrüse dem Abfall der Konzentrationen entgegenwirken.

Da die Selenabhängigkeit der Typ-I-Deiodase erst kurze Zeit bekannt ist, ist der Einfluß hoher Dosen von Selen auf dieses Enzym noch wenig untersucht. Die Verabreichung einer Diät mit Zulagen von 600 bzw. 3 000 µg Se/kg zeigte keinen signifikanten Einfluß auf die Aktivität der ID-I in der Leber. Auch die Konzentrationen von T₄ und freiem T₄ waren gegenüber den bedarfsgerecht versorgten Tieren unverändert, während die Konzentration von T₃ im Serum bei den höher versorgten Tieren um mehr als 50 % vermindert war. Auch Vadhanavikit und Ganther (30) beschreiben unveränderte T₄-Konzentrationen bei Selengehalten von 2,5 und 5 mg/kg in der Diät. Bei Versuchen mit einem Selengehalt von 2 mg/kg in der Diät waren die Konzentrationen von T₄ und T₃ in der Schilddrüse unbeeinflusst, die Aktivität der ID-I jedoch um 17 % vermindert (11). Auch in der vorliegenden Arbeit war bei der Gruppe, die die Diät mit 3 mg Se/kg Zulage erhalten hatte, die Aktivität gegenüber der bedarfsgerecht versorgten Gruppe um 26 % vermindert. Während eine über den Bedarf hinausgehende Selenzufuhr wie auch bei Behne et al. (1992) die Aktivität der GSH-Px nicht beeinflußt, zeigen sich im Gegensatz dazu bei der ID-I somit depressive Effekte.

Die verminderte Aktivität der ID-I ließe neben einem geringen Absinken der T₃-Konzentration im Serum einen gleichzeitigen Anstieg der T₄-Konzentration erwarten. Da bei hoher Selenzufuhr jedoch die Konzentration von T₄ unverändert und die Konzentration von T₃ stark vermindert war, dürften neben der verminderten Deiodaseaktivität auch noch andere Faktoren eine Rolle spielen. Bei Erkrankungen des Organismus sinken die Spiegel von T₃ und T₄ im Serum (13, 17). Demzufolge wäre ein Absinken der Konzentrationen der Schilddrüsenhormone auf-

grund eines generellen toxischen Effektes denkbar, da eine Zufuhr von 3 mg Se/kg Diät bei Ratten bereits zu toxischen Auswirkungen führen kann (25). Dies würde den starken Abfall der T₃-Konzentration und auch das Ausbleiben des Anstiegs der T₄-Konzentration infolge verminderter Deiodaseaktivität erklären.

Literatur

1. Adkins RS, Ewan RC (1984) Effect of selenium on performance, serum selenium concentration and GSH-Px activity in rats. *J Anim Sci* 58:346–350
2. Arthur JR, Nicol F (1990) Effects of selenium deficiency on the thyroid gland and on plasma pituitary thyrotrophin and growth hormone concentrations in the rat. *Clin Chem Enzym Comms* 3:209–214
3. Arthur JR, Nicol F, Beckett GJ (1990) Hepatic iodothyronine 5'-deiodinase. The role of selenium. *Biochem J* 272:537–540
4. Arthur JR, Nicol F, Hutchinson AR, Beckett GJ (1990) The effects of selenium depletion and repletion on the metabolism of thyroid hormones in the rat. *J Inorg Biochem* 39:101–108
5. Arthur JR, Nicol F, Beckett GJ (1992) The role of selenium in thyroid hormone metabolism and effects of selenium deficiency on thyroid hormone and iodine metabolism. *Biol Trace Elem Res* 34:321–325
6. Bauersachs S, Kirchgessner M (1992) Hämatologische Parameter sowie Selenkonzentration und GSH-Px-Aktivität in Serum und Leber der Ratte bei unterschiedlicher Selen- und Vitamin-E-Versorgung. *Z Ernährungswiss* 31: 70–81
7. Beckett GJ, Beddows SE, Morrice PC, Nicol F, Arthur JR (1987) Inhibition of hepatic deiodination of thyroxine is caused by selenium deficiency in rats. *Biochem J* 248:443–447
8. Beckett GJ, Beech S, Nicol F, Walker SW, Arthur JR (1993) Species differences in thyroidal iodothyronine deiodinase expression and the effect of selenium deficiency on its activity. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 7:123–124
9. Behne D, Hilmert H, Scheid S, Gessner H, Elger W (1988) Evidence for specific selenium target tissues and new biologically important selenoproteins. *Biochem Biophys Acta* 966:12–21
10. Behne D, Kyriakopoulos A, Meinhold H, Köhrle J (1990) Identification of type I iodothyronine 5'-deiodinase as a seleno-enzyme. *Biochem Biophys Res Comm* 173:1143–1149
11. Behne D, Kyriakopoulos A, Gessner H, Walzog B, Meinhold H (1992) Type I iodothyronine deiodinase activity after high selenium intake, and relations between selenium and iodine metabolism in rats. *J Nutr* 122:1542–1546
12. Berry MJ, Kieffer JD, Harney JW, Larsen PR (1991) Selenocysteine confers the biochemical properties characteristic of the type I iodothyronine deiodinase. *J Biol Chem* 266:14155–14158
13. Burger A, Nicod P, Suter P, Vallotton MB, Vagenakis A, Braverman L (1976) Reduced active thyroid hormone levels in acute illness. *Lancet* 1:653–655
14. Chanoine JP, Safran M, Farwell AP, Tranter P, Ekenbarger DM, Dubord S, Alex S, Arthur JR, Beckett GJ, Braverman LE, Leonard JL (1992) Selenium deficiency and type II 5'-deiodinase regulation in the euthyroid and hypothyroid rat: Evidence of a direct effect of thyroxine. *Endocrinology* 131:479–484
15. Chanoine JP, Braverman LE, Farwell AP, Safran M, Alex S, Dubord S, Leonard JL (1993) The thyroid gland is a major source of circulating T₃ in the rat. *J Clin Invest* 91:2709–2713
16. Hafeman DG, Sunde RA, Hoekstra WG (1974) Effect of dietary selenium on erythrocyte and liver glutathione peroxidase in the rat. *J Nutr* 104:580–587
17. Kaptein EM (1986) Thyroid hormone metabolism in illness. In: Hennemann G (ed) *Thyroid Hormone Metabolism*. Marcel Dekker, London, New York, pp 297–333
18. Lane HW, Tracey CK, Medina D (1984) Growth, reproduction rates and mammary-gland selenium concentration and GSH-Px activity of BALB/c female mice fed two dietary levels of selenium. *J Nutr* 114:323–331
19. Leonard JL, Visser TJ (1986) Biochemistry of deiodination. In: Hennemann G (ed) *Thyroid Hormone Metabolism*. Marcel Dekker, London, New York, pp 189–229
20. Levander OA, Morris VC (1981) Dietary selenium and rat platelet glutathione peroxidase. In: Howell JM, Gawthorne JM, White CL (eds) *Trace Element Metabolism in Man and Animals*. Australian Academy of Science, Canberra, pp 169–171
21. Levander OA, DeLoach DP, Morris VC, Moser PB (1983) Platelet glutathione peroxidase activity as an index of selenium status in rats. *J Nutr* 113:55–63
22. Meinhold H, Böhm G, Haselbach U, Gessner H, Behne D (1991) Effects of selenium deficiency on thyroid hormone synthesis and metabolism. In: Gordon, Gross, Hennemann (eds) *Progress in Thyroid Research*. Balkema, Rotterdam, pp 765–768
23. Meinhold H, Campos-Barros A, Behne D (1992) Effects of selenium and iodine deficiency on iodothyronine deiodinases in brain, thyroid and peripheral tissue. *Acta Medica Austriaca* 19, Suppl 1:8–12
24. Meyer SA, House WA, Welch RM (1982) Some metabolic interrelationships between toxic levels of cadmium and nontoxic levels of selenium fed to rats. *J Nutr* 112:954–961
25. Olson OE (1986) Selenium toxicity in animals with emphasis on man. *J Am College Toxicol* 5:45–70
26. Paglia DE, Valentine WN (1967) Studies on the quantitative and qualitative characterisation of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med* 40:158–169
27. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey GC (1993) AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing committee on the formulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 123:1939–1951
28. Rotruck JT, Pope AL, Ganther HE, Swanson AB, Hafeman DG, Hoekstra (1973) Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science* 179:588–590
29. Schwarz K, Folz CM (1957) Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *J Am Chem Soc* 79:3292–3293
30. Vadhanavikit S, Ganther HE (1988) Nutritional availability and chronic toxicity of selenocyanate in the rat. *J Nutr* 118:718–722
31. Vadhanavikit S, Ganther HE (1993) Selenium requirements of rats for normal hepatic and thyroidal 5'-deiodinase (type I) activities. *J Nutr* 123:1124–1128
32. Visser TJ, Van der Does-Tobé I, Docter R, Hennemann G (1975) Conversion of thyroxine into tri-iodothyronine by rat liver homogenate. *Biochem J* 150:489–493
33. Visser TJ, Feekes D, Docter R, Hennemann G (1978) Sequential deiodination of thyroxine in rat liver homogenate. *Biochem J* 174:221–229
34. Yang ZL, Jia XA, Zhao JY, Li TL, Xu GL (1992) Effects of selenium on ribonucleic acid synthesis and degradation in rat liver. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis* 6:161–167