

Aus dem Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin
der Medizinischen Einrichtungen der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Klinik für Allgemeine Pädiatrie
Schwerpunkte: Stoffwechsel, Infektiologie, Neurologie und Neonatologie
Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. E. Mayatepek

und

Aus dem Institut für umweltmedizinische Forschung
an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf gGmbH
Direktor: Professor Dr. med. J. Krutmann
Arbeitsbereich Toxikologie
Leiter: Professor Dr. med. vet. J. Abel

**Langzeitsupplementation von Phenylketonurie-Patienten mit
anorganischen oder organischen Selenverbindungen -
Veränderungen des Selen- und Glutathionperoxidase-Status
in verschiedenen Körperkompartimenten**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Brigitte Welling

2003

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Universitätsprofessor Dr. med. Dr. phil. A. Labisch, M.A.

Referent: Professor Dr. med. vet. J. Abel

Korreferentin: Universitätsprofessorin Dr. med. R. Kahl

Meinen Eltern
Cordula und Wolfgang Welling

Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG	5
1.1	SELEN.....	5
1.1.1	<i>Geschichtlicher Überblick.....</i>	5
1.1.2	<i>Chemische Eigenschaften.....</i>	6
1.1.3	<i>Bioverfügbarkeit / Pharmakokinetik.....</i>	7
1.1.4	<i>Selenzufuhr und Bedarf des Menschen.....</i>	13
1.1.5	<i>Selenintoxikationen beim Menschen.....</i>	14
1.1.6	<i>Selenmangelercheinungen beim Menschen</i>	15
1.2	ZIEL DER ARBEIT.....	18
2	MATERIAL UND METHODEN.....	19
2.1	PROBANDEN	19
2.2	BEOBACHTUNGS-AUFBAU.....	19
2.3	PROBENGEWINNUNG UND -VERARBEITUNG.....	21
2.4	SUPPLEMENTATIONS-PRÄPARATE	21
2.5	MEßMETHODEN	23
2.5.1	<i>Materialien</i>	23
2.5.2	<i>Aktivitätsbestimmung der Glutathionperoxidase im Plasma.....</i>	23
2.5.3	<i>Aktivitätsbestimmung der Glutathionperoxidase in Erythrozyten.....</i>	26
2.5.4	<i>Konzentrationsbestimmung des Selens in Vollblut, Plasma, Erythrozyten, Haaren und Urin.....</i>	29
2.5.5	<i>Methoden zur Bestimmung der laborchemischen Routineparameter.....</i>	29
2.5.6	<i>Qualität und Präzision</i>	30
2.6	STATISTIK	31
3	ERGEBNISSE	33
3.1	MEßERGEBNISSE.....	33
3.1.1	<i>Deskriptive Darstellung.....</i>	33
3.1.2	<i>Graphische Darstellung.....</i>	35
3.2	KORRELATIONSANALYSE	57
3.3	KINETIKANALYSE.....	60
3.4	AUC- UND BIOVERFÜGBARKEITSANALYSE.....	62
4	DISKUSSION	63
5	ZUSAMMENFASSUNG.....	72
6	ANHANG	73
6.1	MEßERGEBNIS-TABELLEN	73
6.2	PROBANDENLISTE	76
6.3	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	77
6.4	LITERATURVERZEICHNIS	80
6.5	LEBENS-LAUF	87
6.6	ABSTRACT.....	88
6.7	DANKSAGUNG	89

1 Einleitung

1.1 Selen

1.1.1 Geschichtlicher Überblick

Im 13. Jahrhundert beschrieb Marco Polo in seinen Reiseberichten "Von Venedig nach China" (Polo, in T.A. Knust Edition, 1972) die wahrscheinlich ersten beobachteten Selenintoxikationen, als er über eine bei Pferden auftretende Krankheit im Gebiet der Nan Shan- und Tian Shan-Berge Turkestans (heutiges Gebiet der Volksrepublik China) berichtete. Diese Krankheit, welche nach heutigem Wissensstand in Berggebieten mit selenreichen Böden auftrat, wurde damals als "Huffäulnis - (hoof rot)" bezeichnet, da sie bei den betroffenen Tieren zum Verlust der Hufe führte. Wahrscheinlich handelte es sich dabei um die heute bekannte "alkali disease", eine Form der chronischen Selen-intoxikation bei Tieren, welche durch Aufnahme von selenreichen Pflanzen hervorgerufen wird. Über ähnliche Beobachtungen wurde in den westlichen Staaten zum Ende des 19. Jahrhunderts respektive zu Beginn des 20. Jahrhunderts bei verschiedenen Tierarten berichtet (Krehl, 1970). So fand das Element Selen über Jahrzehnte hinweg nur hinsichtlich seiner toxischen Wirkung besondere Beachtung. Erst 1957 erkannte man in einem Tierversuch, dass nicht nur eine überhöhte, sondern auch eine unzureichende Selenzufuhr klinisch relevante Symptome, in diesem Fall Mangelsymptome, auslösen konnte. Schwarz und Foltz zeigten damals, dass selenfrei ernährte Ratten Lebernekrosen entwickelten, deren Auftreten durch Selen als Futterzugabe verhindert werden konnte (Schwarz et Foltz, 1957). Dieser Nachweis einer lebensnotwendigen Wirkung des Selen führte zu einem tief-greifenden Wandel in der Selenforschung. Bei dem ehemals nur als toxisch bekannten Element stand nun die Frage seiner lebensnotwendigen, essentiellen Funktion im tierischen wie auch menschlichen Organismus im Vordergrund. Im Jahr 1973, also 15 Jahre nach Entdeckung der Essentialität von Selen, konnten zwei Arbeitsgruppen fast gleichzeitig nachweisen in welcher Form das Selen im tierischen und menschlichen Organismus eine Rolle spielt. Die Forscher erkannten, dass vier Selenatome in Form von Selenocystein essentieller Bestandteil des Enzyms Glutathionperoxidase sind (Flohé et al., 1973; Rotruck et al., 1973). Damit war der Zusammenhang zwischen Selen und dem bereits seit 1957 bekannten Enzym Glutathionperoxidase, welches als Antioxidans selbst Gegenstand der Forschung ist, aufgedeckt. Ein wichtiger Beitrag zur Bestätigung der Essentialität des Selen für den menschlichen Organismus war die Isolierung des selenenthaltenden Enzyms Glutathion-peroxidase aus menschlichen Erythrozyten im Jahr 1975 sowie aus Humanplazenta im Jahr 1979 durch Awasthi und Mitarbeiter (Awasthi et al., 1975 sowie 1979). In den nachfolgenden Jahrzehnten wurden in menschlichen Geweben neben der zellulären (klassischen) Glutathionperoxidase weitere Selenoenzyme respektive Selenoproteine identifiziert,

wie die (extrazelluläre) Plasma-Glutathionperoxidase, die Phospholipid-Hydroperoxid-Glutathionperoxidase, die gastrointestinale Glutathionperoxidase, die nukleäre Spermien-Glutathionperoxidase, das Selenoprotein P, die Typen I, II und III der Jodthyronin-Dejodase, das Selenoprotein W, die Typen I, II und III der Thioredoxin-Reduktase, die Selenophosphat-Synthetase 2, das T-Zell-15-kDa-Selenoprotein und das mitochondriale Spermienkapsel-Selenoprotein. Ein siebzehntes Selenoprotein M wurde jüngst durch eine molekulargenetische Analyse der Selenocystein-Insertions-Sequenz (SECIS) identifiziert (Korotkov et al., 2002).

1.1.2 Chemische Eigenschaften

Das Element Selen wurde im Jahr 1817 von dem schwedischen Chemiker Jons Jacob Berzelius isoliert und identifiziert (Barceloux, 1999). Beim Erhitzen unbekannter Substanzen aus Abfällen der Schwefelsäurefabrikation nahm Berzelius einen Geruch nach faulem Rettich wahr. Bei dieser gasförmigen Substanz handelte es sich um H_2Se (= Selenwasserstoff). Selen ist ein Nichtmetall der Hauptgruppe VIa im Periodensystem der Elemente, welches chemisch mit den ebenfalls zu dieser Hauptgruppe gehörenden Nichtmetallen Sauerstoff, Schwefel und Tellur verwandt ist. Besonders eng ist die chemische Verwandtschaft zwischen Selen und Schwefel, etwas geringer ausgeprägt ist sie zwischen Selen und Tellur. Um die chemische Verwandtschaft des Elementes Selen mit dem damals bereits bekannten Element Tellur (griechisch „Tellus“ = Erde) hervorzuheben, taufte Berzelius das neu entdeckte Element nach dem Mond (griechisch „Selene“ = Mond bzw. Mondgöttin) (Schmidt et Bayer, 1992). Ein weiteres Element der Hauptgruppe VIa ist das Polonium, welches jedoch im Gegensatz zum Selen und seinen verwandten Elementen zu den Metallen zählt. Selen hat die Ordnungszahl 34 und eine Atommasse von 78,96 g/mol und kommt in vier natürlichen Oxidationsstufen vor:

- (0) elementares Selen, Selenodiglutathion (Dipeptid),
- (-II) Natriumselenid (Na_2Se), Hydroselenid = Selenwasserstoff (H_2Se),
- (+IV) Natriumselenit (Na_2SeO_3), selenige Säure (H_2SeO_3), Seleniumdioxid (SeO_2) und
- (+VI) Natriumselenat (Na_2SeO_4), Selensäure (H_2SeO_4).

Die wichtigsten im Stoffwechsel des Menschen interessierenden Selenverbindungen sind Selensäure (H_2SeO_4), selenige Säure (H_2SeO_3), Selenwasserstoff (H_2Se) und die Selenohydrilgruppe (R-SeH). Letztere ist für den Austausch gegen die Sulfohydrylgruppe (R-SH) in den Aminosäuren Methionin und Cystein von Bedeutung, wobei dann Selenomethionin respektive Selenocystein entsteht. Das elementare Selen ist wasserunlöslich und damit ungiftig, jedoch ist es löslich in stark oxidierenden Säuren bei erhöhten Temperaturen. Verbindungen des sechswertigen Selens (Selenate) sind chemisch am stabilsten in alkalischen Lösungen und oxidierenden Säuren. Alkylverbindungen des Selens (z.B. Dimethylselenid, Trimethylselenonium) sind toxische Selenverbindungen.

dungen und dabei gleichzeitig erste Umsatzprodukte bei der körpereigenen Metabolisierung von absorbiertem Selen. Nach exzessiver Selenaufnahme übersteigt die Rate der Trimethylselenoniumbildung (Hauptausscheidungsprodukt des Selens über den Urin) die Methylierungskapazität und Dimethylselenid (Nebenausscheidungsprodukt) wird verstärkt gebildet. Diese zuletzt genannte chemische Verbindung erzeugt einen strengen knoblauchartigen Geruch, welcher über die Haut bei der Transpiration und über die Atemluft bei der Exhalation abgegeben wird (Oster, 1992). Von biochemischer Bedeutung ist außerdem die starke Tendenz des Selens zur Komplexbildung mit Schwermetallen, wodurch es die toxische Wirkung einer Reihe von Schwermetallen, wie z.B. Cadmium, Kupfer, Blei, Quecksilber und Zink, modifizieren kann (Chowdhury et Chandra, 1987; Lindh et al., 1996).

1.1.3 Bioverfügbarkeit / Pharmakokinetik

Unter dem Begriff der Bioverfügbarkeit versteht man den in den allgemeinen Kreislauf gelangten Anteil einer nicht intravenös verabreichten Pharmakondosis (Karow et Lang, 1996). Bei oraler Zufuhr eines Pharmakons sind Mechanismen zu beachten, welche die orale Bioverfügbarkeit vermindern können: z.B. eine unvollständige oder zu langsame Lösung des Pharmakons im Magen-Darm-Trakt, eine unvollständige Resorption des gelösten pharmakologischen Wirkstoffes durch das Darmepithel oder die zeitliche Dauer der Magen-Darm-Passage, der sog. „first-pass-Effekt“ (d.h. der Wirkungsverlust des Pharmakons bei der Erstpasse durch die Darmwand und / oder die Leber). Der bioverfügbare Anteil eines Pharmakons steht im Blutkreislauf dem Erfolgsorgan bzw. dem Rezeptor als Voraussetzung für den pharmakodynamischen Effekt (= Wirkung des Pharmakons auf den Organismus) zur Verfügung. Die Bioverfügbarkeit eines Pharmakons ist dabei u.a. Ausdruck der Pharmakokinetik (= Wirkung des Organismus auf das Pharmakon). Zu den pharmakokinetischen Vorgängen im Organismus zählen:

1. die Absorption,
2. die Distribution in verschiedene Körperkompartimente,
3. die Metabolisierung und
4. die Exkretion.

Die Bioverfügbarkeit des Selens läßt sich nur schwer darstellen, da verschiedene Selenverbindungen zu berücksichtigen sind, die hinsichtlich der oben genannten Einflußgrößen (Absorption, Distribution) sehr unterschiedlich metabolisiert werden. In Nahrungsmitteln liegt Selen vorwiegend in Form von organischen, selenhaltigen Aminosäuren, wie Selenomethionin und Selenocystein, sowie an Proteine gebunden vor. In der therapeutischen Anwendung werden nicht nur organische Selenverbindungen in Form von selenreichen Hefen und Selenomethionin, sondern auch anorganische Selenverbindungen wie Natriumselenit und Natriumselenat eingesetzt. Die Bio-

verfügbarkeit von Selen hängt dabei nicht nur davon ab, ob es in anorganischer oder organischer Form aufgenommen wurde, sondern es spielen auch Interaktionen mit anderen Substraten wie z.B. Proteinen, ungesättigten Fettsäuren, Vitaminen und anderen Spurenelementen eine Rolle (Schmidt et Bayer, 1992).

Intestinale Absorption

Tierexperimentelle Studien konnten zeigen, dass für unterschiedliche Selenverbindungen auch unterschiedliche Mechanismen der Selenabsorption bestehen. Grundsätzlich lassen sich aufgrund speziesspezifischer Unterschiede bei den Absorptionsmechanismen tierexperimentelle Untersuchungsergebnisse nur bedingt auf den Menschen übertragen. Die Absorption von organischem Selen erfolgt für Selenomethionin über einen aktiven Transportmechanismus in Verbindung mit der schwefelhaltigen Aminosäure Methionin. Selenocystein wird vermutlich in einem gemeinsamen aktiven Transport zusammen mit anderen Aminosäuren absorbiert (Vendeland et al., 1992). Die Absorption von anorganischem Selen erfolgt für Selenat durch einen natriumabhängigen aktiven Transportmechanismus in Verbindung mit Sulfaten, wohingegen Selenit mittels passiver Diffusion absorbiert wird (Vendeland et al., 1992). Für Selenit konnte in jenen Untersuchungen das Bestehen eines aktiven Transportmechanismus nur beim Jejunum des Schafes gezeigt werden, während ansonsten natrium-unabhängige Transportmechanismen und offensichtlich auch passive Diffusion Grundlage der Selenitabsorption waren (Wolfram et al., 1985).

Zur Frage der Selenabsorptionsrate kann allgemein gesagt werden, dass trotz einer gewissen Variationsbreite in der Absorptionsrate organische Selenverbindungen (z.B. Selenomethionin, Selenocystein) in höherem Maße absorbiert werden als anorganische Selenverbindungen (z.B. Selenite, Selenate) (Janghorbani et al., 1982). Swanson et al. zeigten, dass bei Zufuhr von 200 µg Selen / die in Form eines organischen bzw. anorganischen Präparates L-Selenomethionin zu 97 % und Selenit zu 84 % absorbiert wurden (Swanson et al., 1991). Sandstrom et al. haben eine in-vivo-Untersuchung am Menschen mit einer täglichen Supplementation eines Multivitamin-Multimineral-Präparates durchgeführt, welches pro Tablette 50 µg radioaktiv markierten Natriumselenits enthielt. Bei nüchterner Einnahme wurde eine Absorptionsrate von 89 % ± 5 % festgestellt (Sandstrom et al., 1987). Bei der Gabe von [⁷⁵Se]-Selenomethionin wurden unter verschiedenen Dosierungen Absorptions-raten von 96-97 % beschrieben (Griffiths et al., 1976; Thomson et al., 1978). Die durchschnittliche intestinale Absorption von natürlich vorkommendem Selen in Nahrungsmitteln wird mit 55 % angegeben. Unter Berücksichtigung der endogenen Exkretion in die Fäzes kann die wahre Absorptions-rate auf 79 % geschätzt werden (Stewart et al., 1978). Die Absorption von Selenat ist höher als die von Selenit. Studienprobanden der Arbeitsgruppe Thomson und Robinson, welche 1

mg Selen / die in Form von Selenat bzw. Selenit einnahmen, zeigten mit $94 \pm 4 \%$ eine fast vollständige Absorption für Selenat, verglichen mit einer Absorptionsrate von $62 \pm 14 \%$ für Selenit (Thomson et Robinson, 1986). Insgesamt ergaben die vorgenannten Studien, dass sowohl Selenomethionin als auch das in Supplementationspräparaten verwendete Natriumselenit bzw. -selenat und auch natürlich vorkommendes Selen gut absorbiert werden. Die Absorption von Selen über die Lungen und die Haut ist bei Menschen, die keiner spezifischen Exposition unterliegen, vernachlässigbar gering (Schmidt et Bayer, 1992).

Distribution

Die Distribution des Selens verläuft nach der Absorption im Gastrointestinaltrakt zunächst im Blutplasma und von dort aus weiter in die verschiedenen Körperkompartimente, d.h. in die unterschiedlichen Gewebe bzw. Organe. Über die Selenverteilung im menschlichen Blut ist bekannt, dass etwa 70 % des im Blut befindlichen Selens in die Blutzellen aufgenommen werden, wobei anteilig 40 % speziell in die Erythrozyten aufgenommen werden. Daneben gelangen ca. 25 % des aufgenommenen Selens in die Thrombozyten und knappe 6 % in die Leukozyten (Rukgauer et al., 1995). Innerhalb der Erythrozyten bindet das Selen zu mindestens 84 % an das Hämoglobin, während höchstensfalls 16 % in das Enzym Glutathionperoxidase eingebaut werden (Oster et al., 1988). Bei oraler Supplementation von anorganischen und organischen Selenverbindungen zeigte sich unter Supplementation von 200 µg Selenomethionin / die eine überwiegende Bindung an Hämoglobin im Vergleich zur Erythrozyten-Glutathionperoxidase, während bei der Supplementation von 200 µg Selenat / die eine nahezu gleiche Verteilung zwischen Hämoglobin und Erythrozyten-Glutathionperoxidase gefunden wurde (Butler et al., 1991). Die im Plasma verbleibenden ca. 30 % des absorbierten Selens binden hinsichtlich der drei bislang im menschlichen Plasma bekannten Selenoproteine, wie Selenoprotein P, Plasma-Glutathionperoxidase und Albumin entsprechend einer Untersuchung an 21 gesunden Personen zu $53 \pm 6 \%$ des gesamten Plasmaselengehaltes an Selenoprotein P, zu $39 \pm 6 \%$ an Plasma-Glutathionperoxidase und zu $9 \pm 4 \%$ an Albumin (Harrison et al., 1996).

In den verschiedenen Körperkompartimenten konnten in Studien sehr unterschiedliche Selenkonzentrationen gefunden werden (Behne et al., 1988; Oster et al., 1988). In der Untersuchung von Oster et al. bei deutschen, erwachsenen männlichen Unfallopfern ergab sich gemessen an der Selenkonzentration / g Feuchtgewicht folgende absteigende Reihenfolge: Nieren (771 ng Se / g Feuchtgewicht), Leber (291 ng Se / g Feuchtgewicht), Testes, Milz, linker Herzventrikel (170 ng Se / g Feuchtgewicht), rechter Herzventrikel (155 ng Se / g Feuchtgewicht), Prostata, Lunge, Skelettmuskel (111 ng Se / g Feuchtgewicht), Gehirn, Vollblut, Serum und Galle. Auch im Schilddrü-

sengewebe konnten hohe Selenkonzentrationen (720 ng Se / g Feuchtgewicht) von der Arbeitsgruppe Aaseth et al. nachgewiesen werden (Aaseth et al., 1990). Bezogen auf das jeweilige mittlere Organengewicht ergibt sich für die prozentuale Selenverteilung am Gesamtselenbestand des Körpers jedoch folgende absteigende Reihenfolge: Skelettmuskel (46,9 %), Leber (7,9 %), Blut: Erythrozyten und Plasma, Nieren (3,6 %), Gehirn, Lunge, Herzmuskel (0,8 %), Milz, Testes, Galle, Prostata und interstitielle Flüssigkeit, wobei das in den Skelettmuskel eingebaute Selen in Form von Selenomethionin vorliegt (Swanson et al., 1991). Die vorgenannten in Deutschland gemessenen Selenorgangehalte sind im weltweiten Vergleich als relativ niedrig anzusehen.

Auch die Haare sind ein Kompartiment zur Selendistribution. Kopfhaar enthält nach einer Untersuchung von Oster im Mittel $0,305 \pm 0,151 \mu\text{g Se / g Haar}$, wenn nicht nach Alter und Geschlecht differenziert wird. Im Altersbereich zwischen 1-15 Jahren fanden sich Selenkonzentrationen im Bereich von $0,199-0,369 \mu\text{g Se / g Haar}$. Frauen bzw. ältere Personen haben etwas niedrigere Kopfharselengehalte als Männer bzw. jüngere Personen, was jedoch in beiden Vergleichsfällen keine statistische Signifikanz zeigte. Oster konnte zudem nachweisen, dass der Selengehalt der Haare von der täglichen Selenaufnahme abhängig ist und fand positive Korrelationen für den Zusammenhang zwischen Haarselenkonzentration und Selenkonzentration in Serum, Vollblut und Urin (Oster, 1992).

Bei Selendepletion konnte tierexperimentell nachgewiesen werden, dass zuerst im Lebergewebe und in den Erythrozyten, als den hauptsächlichen Glutathionperoxidase-Pools, der Selenspiegel abfällt, während dies in den reproduktiven und endokrinen Organen deutlich langsamer stattfindet. Die Retentionsfaktoren, als Ausdruck der Fähigkeit eines Gewebetyps Selen während nutritiver Depletion zu retinieren, liegen für die reproduktiven und endokrinen Organe hingegen am höchsten. In den beiden letztgenannten Organtypen scheint daher Selen eine bedeutende Rolle zu spielen und es existieren nachweislich Mechanismen zur Aufrechterhaltung einer Selen-Homöostase in der Phase einer Selendepletion. Bemerkenswert ist, dass dabei die Aktivität der Glutathionperoxidase vor der Aktivität anderer Selenoproteine abnimmt (Behne et Hofer-Bosse, 1984).

Metabolisierung und Interaktionen

Zu den Hauptmetabolisierungsschritten des Selens, welche nach Absorption im Darm vor allem in Blut und Leber stattfinden, zählen:

1. die Reduktion von Seleniten zu Seleniden durch die zelluläre Glutathionperoxidase,
2. der Einbau von Seleniden über Selenocystein in die Selenoproteine
(z.B. Glutathionperoxidase, Typ-I-Jodthyronin-5'-Dejodase) und

3. die Methylierung von Seleniden zu ausscheidungsfähigen Metaboliten

(z.B. Monomethylselenol, Trimethylselenonium, Dimethyldiselenid, Dimethylselenid)

(Itoh et Suzuki, 1997).

Sowohl Selenate als auch Selenite werden im Darm relativ gut resorbiert und können beide direkt über den Urin ausgeschieden werden (siehe nachfolgend „Exkretion“). Möglicherweise werden absorbierte Selenate aber auch über den für Hefe und Pflanzen bekannten und bei Säugetieren denkbaren, aber noch nicht nachgewiesenen Zwischenmetaboliten Selenit entsprechend den o.g. Mechanismen zu ausscheidungsfähigen Metaboliten umgewandelt (Oster, 1992). Die methylierten Selenmetaboliten sind im allgemeinen weniger toxisch als die nicht-methylierten Selenverbindungen (Hasegawa et al., 1996). Genauer betrachtet wird absorbiertes anorganisches Selen, insbesondere Selenit, zum größten Teil schnell zu Selenwasserstoff reduziert. Dabei wird reduziertes Glutathion verbraucht, d.h. oxidiert. Anorganische Selenalze sind daher für den Organismus zunächst Oxidantien (= Oxidationsmittel). Der toxische und saure Selenwasserstoff wird durch Methylierung entgiftet und als Trimethylselenid renal ausgeschieden. Bei einer übermäßigen Selenzufuhr und nachfolgend erhöhtem Angebot an Selenwasserstoff wird die Methylierungskapazität überschritten, so dass toxisches Dimethylselenid entsteht. Dieses wird über die Lungen mit typischem knoblauchartigen Geruch abgeatmet. Zusätzlich wird Selenwasserstoff an Serumprotein gebunden oder nach Kondensation mit der Aminosäure Serin zu Selenocystein umgewandelt, welches direkt in die Glutathion-peroxidase eingebaut werden kann (Sunde et Evenson, 1987). Noch besser als Selenit wird Selenomethionin im Organismus aus der Nahrung absorbiert und zu Selenocystein metabolisiert. Es ist jedoch fraglich, ob dieses Selenocystein zum Einbau in die Glutathionperoxidase verwendet werden kann. Vermutlich entsteht in diesem Fall aus dem Selenocystein durch enzymatische Umsetzung überwiegend Selenwasserstoff, welcher wie oben beschrieben metabolisiert und entgiftet wird. Bei Eiweißmangel respektive geringer Methioninzufuhr wird Selenomethionin zum Teil auch zur Proteinsynthese verwendet (Butler et al., 1989). Insbesondere in den Muskelproteinen, aber auch in der Leber können so große Selenmengen gespeichert werden. Im Verlauf der Metabolisierung treten verschiedene Interaktionen mit anderen Substraten, wie z.B. Proteinen, ungesättigten Fettsäuren, Vitaminen und anderen Spurenelementen, auf. Besonders bekannt sind die Interaktionen zwischen Selen und Schwermetallen, die zusammen im Organismus schwerlösliche Selenide (= Selen-Schwermetallkomplexe) bilden. Diese Schwermetallbelastung kann dann zu einer Beeinträchtigung der Versorgung des Organismus mit verfügbarem Selen führen (Kido et al., 1988; Abdulla et Chmielnicka, 1989-1990). Andererseits kann möglicherweise durch eine Selen-Aufnahme eine Schwermetall-Entgiftung im Organismus herbeigeführt werden, was bezüglich Quecksilber, Amalgam und Blei in der Diskussion steht. Hinsichtlich der Interaktion zwischen Selen und Vitaminen ist eine enge Beziehung zwischen Selen und Vitamin C (= Ascor-

binsäure) sowie Vitamin E (= Toco-pherol), einem weiteren Antioxidans neben der bereits genannten Glutathionperoxidase, bekannt. In Bezug auf das Vitamin C (= Ascorbinsäure) wurde in einer in-vivo-Untersuchung erkannt, dass der Körperpool an Selen vom Versorgungszustand an Vitamin C abhängt. Unter einer Vitamin C-armen Diät geht der Selen-Körperpool auf etwa ein Drittel zurück. Als Ursache hierfür wird eine Verminderung der für die Absorption von Selen wichtigen reduzierten R-SH-Gruppen (Sulfohydrylgruppen) unter Vitamin C-Mangel vermutet (Martin et al., 1989). Hinsichtlich der Beziehung zwischen dem Selenstoffwechsel und Vitamin E ist bekannt, dass Selen teilweise in der Lage ist, Vitamin E-Mangelsymptome zu kompensieren (Diplock, 1974; Diplock et al., 1976; Levander, 1982) und zudem Selen den Bedarf an Vitamin E herabsetzt und umgekehrt. Eine weitere wichtige Wechselwirkung besteht zwischen Selen und Fluorid. Es zeigte sich, dass in Fluorose-Endemiegebieten die Selen-Ausscheidung im Urin anstieg und die Selenspiegel im Blut absanken. Die genaue Ursache hierfür ist noch unbekannt (Wasowicz et al., 1988).

Exkretion

Die Exkretion des Selens erfolgt prozentual deutlich unterschiedlich gewichtet über Harn, Stuhl, Atemluft und Schweiß, wobei die Ausscheidung über Atemluft und Schweiß unter physiologischen Bedingungen vernachlässigbar gering ist. Erst bei sehr hoher Selenzufuhr, wie z.B. bei einer Intoxikation, kommt es zu einer Umsetzung des Selens zu Dimethylselenid, welches über die Atemluft mit seinem typischen knoblauchartigen Geruch ausgeschieden wird. In einer Bilanzstudie konnte nachgewiesen werden, dass die Harn- und Stuhlausscheidung von Selen im Sinne einer homöostatischen Regulation der Zufuhr angepaßt ist (Levander et al., 1981). Eine Studie hinsichtlich der prozentualen Selenausscheidung in Harn und Stuhl konnte bei der Gabe von verschiedenen Selenverbindungen in 1 mg-Dosen über einen Zeitraum von fünf Tagen einen deutlichen Anstieg der Selenausscheidung über den Harn nachweisen, wobei sich erhebliche Unterschiede in der prozentualen Harnausscheidung bezüglich der verschiedenen Selenverbindungen ergaben. Im Stuhl wird das enteral aufgenommene und nicht absorbierte Selen ausgeschieden. Diese Mengen sind jedoch vernachlässigbar. Lediglich bei Selenzufuhr werden nennenswerte Mengen (40 %) über den Stuhl ausgeschieden. Die Gesamtexkretion über Stuhl und Harn beträgt bei Selenit 64 % und bei Selenat 90 %, so dass bei diesen Selenverbindungen wahrscheinlich keine Langzeitspeicherung besteht. Bei Selenomethionin werden jedoch insgesamt nur 24 % ausgeschieden, so dass diese Verbindung offensichtlich einer Langzeitspeicherung unterliegt (Thomson et Robinson, 1986). Eine jüngere Studie bestätigte die unterschiedliche prozentuale Selenausscheidung in Abhängigkeit zur jeweilig vorliegenden Selenverbindung. Hier lag nach täglicher Zufuhr von 200 µg Selen über einen Zeitraum von 32 Wochen die mittlere tägliche Selenausscheidung bei 57 % für Selenat und bei 27 % für

Selenomethionin. Das Trimethylselenonium stellte dabei mit 1 % nur einen geringen Bestandteil der Harnausscheidungs-metaboliten dar (Robinson et al., 1997).

1.1.4 Selenzufuhr und Bedarf des Menschen

Die Selengehalte der Acker- und Weideböden schwanken weltweit sehr stark. Somit besteht über die natürliche Nahrungskette eine sehr unterschiedliche Selenzufuhr in den verschiedenen Erdteilen und Ländern. Im weltweiten Vergleich ergibt sich für die mitteleuropäischen Länder eine relativ niedrige Selenversorgung (Nève, 1991). In Deutschland konnte ein deutliches "Nord-Süd-Gefälle" der Selengehalte der Ackerböden nachgewiesen werden (Hartfiel et Bahners, 1988). Bei der täglichen Nahrungs- und Selenzufuhr sind in erster Linie selenreiche Lebensmittel, wie z.B. Fleisch, Fisch und verschiedene Getreidesorten, von besonderer Bedeutung. Obst und Gemüse enthalten nur vernachlässigbar geringe Mengen an Selen und sind somit als Selenzufuhrquelle nicht geeignet. Nach einer Untersuchung von Oster liegt die durchschnittliche tägliche Selenzufuhr in der Bundesrepublik Deutschland für Frauen bei 38 µg Selen / die und für Männer bei 47 µg Selen / die. Damit haben die Bürger der Bundesrepublik zusammen mit den Italienern die niedrigste nutritive Selenaufnahme in West-Europa (Oster, 1992). Der tägliche Selenbedarf liegt dagegen nach Empfehlung des National Research Councils der USA aus dem Jahr 1989 und auch nach Empfehlung der Deutschen Gesellschaft für Ernährung aus dem Jahr 1991 deutlich höher.

Tabelle 1 Empfehlungen zur täglichen nutritiven Selenaufnahme

	National Research Councils der USA, (1989)	Deutsche Gesellschaft für Ernährung, (1991)
Männer ab 19. LJ	70 µg Selen / die	20-100 µg Selen / die
Frauen ab 19. LJ	55 µg Selen / die	20-100 µg Selen / die
Kinder vom 4.-6. LJ	20 µg Selen / die	15-70 µg Selen / die
vom 7.-10.LJ	30 µg Selen / die	15-80 µg Selen / die
vom 11.-14.LJ	40/45 µg Selen / die	20-100 µg Selen / die
vom 15.-18.LJ	50 µg Selen / die	20-100 µg Selen / die

1.1.5 Selenintoxikationen beim Menschen

Die Toxizität des Selens hängt vorwiegend von vier Faktoren ab:

1. der chemischen Form des Selens,
2. der Art der Anwendung,
3. der Dauer der Anwendung und
4. der Interaktionen mit anderen Nahrungsstoffen.

Es muß also berücksichtigt werden, ob es sich in der Nahrung um natürlich vorkommendes Selen oder um eine synthetisch hergestellte Verbindung, z.B. in Ernährungsergänzungsprodukten oder in Arzneimitteln, handelt. Bei den synthetischen Selenverbindungen sind die anorganischen Selenformen, z.B. Selenit oder Selenat, von den organischen Selenformen, z.B. Selenomethionin oder Selenocystein, zu unterscheiden. Tierexperimentell wurde die Toxizität verschiedener Selenverbindungen untersucht. Eine Übersichtsarbeit von Olson zeigt, dass sowohl bei oraler als auch parenteraler Gabe von anorganischen wie auch organischen Selenverbindungen eine LD₅₀ im Bereich von 1-5 mg Selen / kg Körpergewicht beobachtet wurde. Die therapeutische Breite von Selen beträgt 2-3 Zehnerpotenzen (Olson, 1986). Während beim Tier zwischen drei Toxizitätsstadien unterschieden wird (akut, subakut und chronisch), unterscheidet man beim Menschen nur zwischen zwei Toxizitätsstadien (akut und chronisch).

Akute Toxizität beim Menschen

Während elementares Selen bei oraler Aufnahme als ungiftig gilt, können Selenstäube oder Selenwasserstoff durch Inhalation zu akuten Intoxikationen führen. Die Symptomatik wird bestimmt durch Irritation der Schleimhäute der oberen Atemwege, Kopfschmerzen, Schwindel, Müdigkeit und Erbrechen. Zusätzlich kann ein sog. Selenschnupfen, Metallgeschmack im Mund und Knoblauchgeruch der Ausatemungsluft durch Expiration von Dimethylselenid auftreten (Schechter et al., 1980; Lombeck et al., 1987). In schweren Fällen kann es zu Kreislaufversagen, Lebernekrosen oder sogar zum Tod durch Auftreten eines Lungenödems innerhalb weniger Stunden kommen. Erfolgreiche Therapieversuche konnten nur durch forcierte Diurese und durch Inhalation von Chlorgas beim Auftreten eines Lungenödems erzielt werden. Größtenteils handelt es sich bei den akuten Selenintoxikationen jedoch um reversible Schädigungen und die Symptome sind innerhalb von ein bis zwei Wochen rückläufig. Bei oraler Aufnahme von Selen, z.B. in Form von Natriumselenit oder seleniger Säure, werden vor allem gastrointestinale Symptome (Erbrechen / Durchfall), neurologische Störungen, EKG-Veränderungen sowie Störungen des Haar- und Fingernagelwachstums beobachtet (Carter, 1966; Lombeck et al., 1987).

Chronische Toxizität beim Menschen

Hinsichtlich der chronischen Toxizität des Selen sind Untersuchungen aus China von besonderer Bedeutung. Unter den Selengehalten der Acker- und Weideböden und konsekutiv der Selengehalte der Nahrung herrscht in China eine deutliche Spannbreite von Gebieten mit extremer Selenmangelversorgung bis hin zu Gebieten mit sehr hoher Selenzufuhr. In letzteren Gebieten wurde unter der Bevölkerung das Auftreten von chronischen Intoxikationen beobachtet. Bei Selenaufnahmen von mehr als 750 µg Selen / die traten klinische Symptome in Form von dermatologischen Veränderungen (brüchige Fingernägel, sprödes Haar, Haarausfall, Rötung und Schwellung der Haut mit Blasenbildung und Juckreiz) auf. Weitere Symptome können der für Intoxikationen typische knoblauchartige Geruch der Ausatemungsluft, Gewichtsabnahme, Erbrechen und Durchfall sein. Oft besteht zudem eine Anämie oder Zahnkaries. Die bei Tieren unter chronischer Intoxikation beobachteten Leber- und Nierenschäden treten beim Menschen eher selten auf (Wilber, 1980; Yang et al., 1989).

1.1.6 Selenmangelerkrankungen beim Menschen

Während in der Tiermedizin mehrere spezifische Selenmangelerkrankungen bekannt sind (Schaf, Rind, Pferd: Muskeldystrophie, Kardiomyopathie / Huhn, Geflügel: Exsudative Diathese, Proteinmangel, Pankreasatrophie / Ratte, Maus, Kaninchen: Lebernekrosen) (von-Stockhausen, 1990), fehlt in der Humanmedizin der Nachweis eines ursächlichen Zusammenhangs zwischen Selenstatus und Krankheitssymptomen. So ist derzeit noch weitgehend unklar, bei welchen Selenspiegeln Mangelsymptome auftreten und welche weiteren Faktoren den Zeitpunkt des Auftretens von Mangelsymptomen beeinflussen. Bereits die Definition eines „normalen“ Selenstatus ist schwierig, da durch regionale Unterschiede in der nutritiven Selenaufnahme die Selenspiegel der Menschen stark variieren. Bisher wurden im Bereich der Humanmedizin zwei endemische Erkrankungen hauptsächlich auf einen Selenmangel zurückgeführt, die Keshan Disease und die Kashin-Beck Disease.

Im Jahr 1974 wurde mit der Keshan Disease die erste durch Selenmangel bedingte Erkrankung beim Menschen entdeckt. In selenarmen Gebieten Chinas kam es überwiegend bei Kindern und Frauen im gebärfähigen Alter zum Auftreten von kardialen Veränderungen im Sinne einer Kardiomyopathie mit multifokalen Nekrosen und Herzvergrößerung (Chen et al., 1980; Yang et al., 1988). Durch Selen-Supplementation konnte in diesen verschiedenen selenarmen Endemiegebieten die Inzidenz der Keshan Disease von 13,5 bzw. 9,5 ‰ auf 2,2 bzw. 1,0 ‰ gesenkt werden (Yang et al., 1988). Ein niedriger Selenstatus allein kann jedoch nicht der einzige pathogenetische Faktor sein, da die Keshan Disease in Endemiegebieten Chinas teilweise auch noch nach einer adäquaten Selensupplementation auftrat bzw. in anderen selenarmen Gebieten, wie z.B. in Teilen Neuseelands

oder der USA, nicht auftritt. Als weiterer pathogenetischer Faktor wird eine infektiöse Komponente, z.B. eine Coxsackie-B₄-Virusinfektion, vermutet. Dieser Hinweis ergab sich aus einem Tierversuch an Mäusen, bei denen unter Selenmangel eine stärkere Invasion des Herzmuskels mit Coxsackie-B₄-Viren beobachtet wurde als unter ausreichender Selenversorgung (Bai, 1980). Im Jahr 1995 wurde diese Hypothese in einer Arbeit untermauert, die erstmals zeigen konnte, dass Selenmangelernährung genetische Mutationen von Viren auslösen kann. Selenarm ernährte Mäuse, infiziert mit einem nicht kardio-toxischen (= avirulenten) Coxsackie-B₃-Virus, entwickelten Myokardschäden. Die Genomsequenzanalyse des nun kardiotoxischen (= virulenten) Coxsackie-B₃-Virus, welches aus dem Myokard der selenarm ernährten Mäuse isoliert worden war, zeigte Punktmutationen gegenüber dem ursprünglich nicht kardiotoxischen Virus (Beck et al., 1994 sowie 1995). Auch Xu et al. stützt die These, dass Selenmangel zwar ein prädisponierender Faktor, nicht jedoch die alleinige Ursache im Kausal-geschehen der Keshan Disease sei (Xu et al., 1997).

Im weiteren Verlauf der Forschung wurden immer neuere Zusammenhänge zwischen einer Selenmangelsituation beim Menschen und den verschiedensten Erkrankungen entdeckt. Hier ist vor allem die nach ihren Erstbeschreibern benannte Kashin-Beck Disease zu nennen (Allander, 1994), welche hauptsächlich Kinder zwischen 5 und 13 Jahren betrifft. Es handelt sich dabei um eine weitere Erkrankung in Selenmangelgebieten Chinas, aber auch Koreas und der Sowjetunion, die einer enchondralen Ossifikationsstörung der Knochen und Gelenke entspricht. Begleiterscheinungen dieser Erkrankung sind Minderwuchs aufgrund von multifokalen Nekrosen in den Wachstumszonen der langen Röhrenknochen, ggf. skorbutähnliche subperiostale Blutungen und Polyneuritis. Wiederum scheint die Inzidenz der Erkrankung durch eine Selensupplementation gesenkt zu werden (Yang et al., 1988). Die Ätiologie der Kashin-Beck Disease ist noch unklar. Als pathogenetische Faktoren werden neben einem Selenmangel u.a. ein Pilzbefall des Getreides als auch eine hohe Konzentration an organischen Substanzen diskutiert (Peng et al., 1992).

Selenmangelsituationen lassen sich auch bei anderen Erkrankungen, z.B. schweren gastrointestinalen Erkrankungen (Bjerre et al., 1989; Rannem et al., 1998) sowie unter parenteraler Ernährung nachweisen (Vinton et al., 1987; Lockitch, 1989). Studien an Patienten unter parenteraler Ernährung haben wesentlich dazu beigetragen, die Symptomatik eines Selenmangels zu erforschen. Bei einigen Patienten zeigten sich unter parenteraler Ernährung von unterschiedlicher Dauer Myopathien der Skelettmuskulatur in Form von Muskelschmerzen und Muskelschwäche mit teilweise erhöhten Transaminasen und erhöhter Creatinkinase. Die Vollblutselen- und Erythrozyten-GSH-Px-Werte waren dabei erniedrigt (van-Rij et al, 1979 sowie 1981; Kien et Ganther, 1983; Watson et al., 1985; Brown et al., 1986).

Die gravierendsten Selenmangelveränderungen betreffen jedoch den Herzmuskel, bei dem eine drastische Minderung der Ejektionsfraktion des linken Ventrikels nachgewiesen werden konnte. In schweren Selenmangelfällen kam es zu einer dilatativen Kardiomyopathie, die nur teilweise reversibel war (Reeves et al., 1989). Zum Teil wurden auch letale Verläufe bekannt (Lockitch, 1989; Lockitch et al., 1990).

Klinische Symptome des Selenmangels können neben dem Auftreten von Myopathien der Herz- und Skelettmuskulatur auch ein sogenannter Pseudoalbinismus mit Aufhellung von Haut und Haaren, Veränderungen der Haarstruktur in Form von Ausdünnung und Lockenbildung sowie das Auftreten von brüchigen Nägeln sein. Über hämatologische Veränderungen im Sinne einer Erhöhung des mittleren Zellvolumens mit Makrozytose und über endokrinologische Veränderungen bezüglich des Schilddrüsenmetabolismus wurde ebenfalls berichtet (Vinton et al., 1987; Jochum et al., 1994; Terwolbeck et al., 1994).

Die Pathomechanismen der verschiedenen Selenmangelsymptome und deren Modifikationen sind zum Teil noch ungeklärt.

1.2 Ziel der Arbeit

Die Auswirkungen schwerwiegender Selenmangelzustände sind insbesondere durch Forschungsarbeiten in den Endemiegebieten Chinas gut bekannt. Die Auswirkungen langfristig marginaler Selenmangelzustände dagegen sind noch nicht umfassend erforscht und Selensupplementationen wurden diesbezüglich bislang nur kurzzeitig durchgeführt, da die Pharmakokinetik der verschiedenen Selenverbindungen, insbesondere im Hinblick auf eine mögliche toxische Kumulation im menschlichen Organismus, noch nicht hinreichend geklärt ist.

Die Qualität der Selenversorgung wird beim Menschen in der Regel durch Messung der Selenspiegel im Vollblut und Plasma sowie der Aktivität der Glutathionperoxidase im Plasma und Erythrozyten wiedergegeben. Selen kommt prozentual unterschiedlich gewichtet in den verschiedenen Körperkompartimenten des menschlichen Organismus vor und erfüllt dort z.B. als Bestandteil der selenabhängigen Selenoproteine und -enzyme seine spezifischen Funktionen.

In der vorliegenden Dissertation sollen Kinder, welche an der Stoffwechselerkrankung Phenylketonurie (PKU) leiden, prospektiv beobachtet werden. Diese Kinder müssen krankheitsbedingt eine langjährige bis lebenslange Diät aus phenylalaninfreien Aminosäuremischungen respektive Proteinhydrolysaten, eiweißarmen Brot, Gemüse und Obst unter Aussparung der nutritiven Hauptselen-träger (tierisches Eiweiß, Vollgetreideprodukte) einhalten, weshalb sich bei ihnen zwangsläufig ein marginaler Selenmangel entwickelt. Beobachtet werden die Auswirkungen einer langfristigen Supplementation mit verschiedenen Selenverbindungen auf selenabhängige hämatologische Parameter (insbesondere Selen- und GSH-Px-Status) und weitere klinisch-chemische Parameter in verschiedenen, leicht Selen-zugänglichen Körperkompartimenten. Dabei sind auch die pharmakokinetischen Eigenschaften der verschiedenen Selenverbindungen und ihre relative Bioverfügbarkeit von besonderem Interesse.

2 Material und Methoden

2.1 Probanden

Die der vorliegenden Dissertation zugrundeliegenden Beobachtungen wurden im Rahmen der „Deutschen PKU-Verbundstudie“ multizentrisch unter Beteiligung von PKU-Patienten der Universitätskinderkliniken Berlin, Düsseldorf, Heidelberg und München erarbeitet.

Einschlußkriterien

Alter der Probanden zwischen fünf und sechzehn Jahren, keine zusätzlich zur Phenylketonurie bekannten Erkrankungen, diätetisch gut eingestellte Stoffwechsellage repräsentiert durch einen Plasmaselen-Wert ≤ 30 ng/ml.

Probandenkollektiv

Anhand der Einschlußkriterien wurden achtundvierzig Kinder in unsere prospektive Beobachtung aufgenommen, wobei im Verlauf fünf Kinder wegen mangelnder Compliance ausschieden.

Genehmigung der Ethikkommission

Die Durchführung dieser Beobachtung im Rahmen der „Deutschen PKU-Verbundstudie“ wurde von der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf genehmigt.

Einverständnis der Eltern der Probanden

Die Eltern der Probanden wurden in mündlicher und schriftlicher Form in der Ambulanz der Kinderklinik der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf über die prospektive Beobachtung informiert und es wurde anschließend eine schriftliche Einverständniserklärung der Eltern zur Teilnahme ihres Kindes eingeholt.

2.2 Beobachtungsaufbau

Zeitlicher Ablauf

Alle Probanden der prospektiven Beobachtung wurden vor Supplementationsbeginn per Zufallsprinzip drei Beobachtungsgruppen zugeteilt:

Gruppe 1 = Supplementationsbeginn mit anorganischem Natriumselenit,

Gruppe 2 = Supplementationsbeginn mit organischem Selenomethionin und

Gruppe 3 = Supplementationsbeginn mit einem Placebo.

Im Verlauf der 12-monatigen Supplementationsphase fanden neun Untersuchungen der PKU-Kinder zu den Zeitpunkten 0 Tage (Tag des Supplementationsbeginns), 7 Tage, 14 Tage, 28 Tage, 60 Tage, 120 Tage, 180 Tage, 270 Tage und 360 Tage statt. Zu jedem Beobachtungstermin fand sowohl eine körperliche als auch eine laborchemische Untersuchung (siehe nachfolgend „Labor-

chemische Untersuchung“) statt. Da in der abschließenden 360-Tage-Untersuchung bei der Mehrzahl der 43 Probanden laborchemische Auffälligkeiten zu verzeichnen waren, die einen vorzeitigen Selen-supplementationsabbruch von seiten der Probanden dringend vermuten ließen, kamen nur 270 Supplementationstage in dieser Dissertation zur Auswertung. Die Schilddrüsenparameter wurden zentral in der Universitätskinderklinik Berlin gemessen. Aus organisatorischen Gründen wurden diese Parameter nur zu Beginn der Beobachtung von allen Probanden und später unter Supplementation nur von den beiden Verumgruppen bis zum 180. Tag der Supplementation bestimmt.

Laborchemische Untersuchung

Um im Verlauf der Supplementation den Selenstatus der Probanden zuverlässig erfassen zu können, wurden verschiedene Parameter aus leicht Selen-zugänglichen Körperkompartimenten mehrfach bestimmt. Diese Selenparameter sind hinsichtlich ihrer Repräsentanz von Selenstatus respektive Selenbioverfügbarkeit in der nachfolgenden Tabelle dargestellt.

Tabelle 2 Selenparameter und ihre Repräsentanz von Selenstatus respektive Selenbioverfügbarkeit

<u>Parameter:</u>	<u>Repräsentanz von Selenstatus bzw. Selenbioverfügbarkeit:</u>
•Urin-Selen	→ Kurzzeit-Statusparameter (Stunden, Tage)
•Plasma-Selen	→ Kurzzeit-Statusparameter (Tage)
•Vollblut- Selen	→ mittelfristiger Statusparameter (1-4 Wochen)
•Erythrozyten-Selen	→ Langzeit-Statusparameter (2-3 Monate)
•Haar-Selen	→ Langzeit-Statusparameter (Monate)
•Plasma-GSH-Px	→ mittelfristiger Bioverfügbarkeitsparameter (1-2 Wochen)
•Erythrozyten-GSH-Px	→ Langzeit-Bioverfügbarkeitsparameter (2-3 Monate)

Neben den Messungen der GSH-Px in Erythrozyten und Plasma, sowie der Bestimmung des Selens in Vollblut, Plasma, Erythrozyten, Urin und Haaren wurden mit den üblichen Labormethoden noch neunzehn weitere Parameter während der Beobachtung erfaßt. Dies sind im einzelnen: CK, GOT, GPT, Hb, HKT, Krea, LDH, Leuk, MCV, Phe, Prot, Thromb, Chol, Phos, fT₃, fT₄, TSH, Vit.A, Vit.E. Der Phenylalaninspiegel des Vollblutes war hier von besonderer Bedeutung, da er u.a. ein Ein- bzw. Ausschlußkriterium bezüglich der Beobachtungsteilnahme darstellte und Ausdruck der Qualität der diätetischen Stoffwechseleinstellung der Probanden war.

Körperliche Untersuchung

Bei der körperlichen Untersuchung wurden Körperlänge und -gewicht, eine genaue Diätanamnese erhoben und die Erkrankungen seit dem letzten Untersuchungstermin in neurologischer, kardialer

(EKG) und gastroenterologischer Hinsicht erfaßt. Das Auftreten von Myopathien sowie von eventuellen Veränderungen an Haut, Haaren und Nägeln wurde gesondert erfragt.

2.3 Probengewinnung und -verarbeitung

An neun Untersuchungsterminen wurden 20 ml venöses Blut (EDTA-Röhrchen) und 20 ml Urin gewonnen. Zu Beginn der Studie, zum 180-Tage- und zum 270-Tageuntersuchungstermin wurde zusätzlich eine Haarprobe gewonnen.

Von den 20 ml venösen EDTA-Vollblutes wurden 0,5 ml für die Selenmessung in einem auf Selenfreiheit getestetem Eppendorf-Cup separiert und bei -20° C eingefroren. Das restliche EDTA-Blut wurde wie folgt verarbeitet:

1. Zentrifugation in einer Heraeus Christ Zentrifuge über zehn Minuten bei 1300 g
2. Abnahme des Plasmaüberstandes und Verwerfung der Leukozytenschicht
3. Zweimalige Waschung der Erythrozyten in einem Verhältnis von 1:10 mit 0,9 %-iger NaCl-Lösung und erneuter Zentrifugation nach jeder Waschung über zehn Minuten bei 1300 g

Die so gewonnenen Vollblut-, Plasma- und Erythrozytenproben wurden für die Bestimmung der Konzentration von Selen im Vollblut und im Plasma bei -20° C sowie für die Bestimmung der Plasma- und Erythrozyten-GSH-Px-Aktivität bei -70° C tiefgefroren. Für die Messung des Selen im Erythrozyten wurde kein Blut benötigt, da diese Werte anhand der laborchemisch bestimmten Parameter Vollblutselen, Plasmaselen und Hämatokrit berechnet werden konnten. Die 20 ml Urinprobe wurde bei -20° C tiefgefroren. Die Haarproben wurden in Pergamentfolien verpackt und trocken aufbewahrt.

Die Bestimmung aller weiteren für diese prospektive Beobachtung benötigten klinisch-chemischen und hämatologischen Parameter erfolgte durch die jeweiligen Universitätslaboratorien im Rahmen der „Deutschen PKU-Verbundstudie“, so dass hierfür unsererseits keine zusätzliche Probengewinnung und -verarbeitung notwendig war. Die Bestimmung der Schilddrüsenparameter erfolgte, wie schon genannt, für alle Patienten zentral durch die Universitätskinderklinik Berlin nach Versand von bei -70° C tiefgefrorenen Plasmaproben.

2.4 Supplementationspräparate

Die Supplementationspräparate wurden unter Aufsicht eines Pharmazeuten vom Institut für Pharmakologische Chemie/Biologie/Technologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf hergestellt. Bei der Herstellung der Supplementationspräparate verwandten wir Gelatine-Kapseln, die 110 mg eines Selen-/Mannit-Pulvergemisches enthielten, wobei der Selenanteil auf 25µg pro 110 mg Pulver, und damit pro Kapsel, festgelegt wurde. Für den Selenanteil wurde ein mengenmäßiger Tole-

ranzbereich von maximal $\pm 10\%$ definiert. Zur Supplementation wurden daher nur Präparate mit einem Selen-anteil zwischen $22,5\mu\text{g}$ und $27,5\mu\text{g}$ pro Kapsel verwandt. Die Placebo-Präparate enthielten in den Gelatine-Kapseln 110 mg reines Mannit-Pulver.

Die Herstellung von Natriumselenit (Na_2SeO_3)- bzw. Selenomethionin ($\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{Se}$)-Pulver begann mit der Herstellung des höher konzentrierten Stammpulvers. Dieses wurde durch Verreiben von jeweils frei gewählten Mengen an Natriumselenit mit Mannit bzw. Selenomethionin mit Mannit produziert. Damit lag ein frei gewähltes Stammpulver-Konzentrationsverhältnis von Natriumselenit bzw. Selenomethionin zu Mannit vor. Dieses Konzentrationsverhältnis war Ausgangspunkt für die nachfolgende kalkulierte Zugabe von weiterem Mannit, um eine Verdünnung des Stammpulvers auf die gewünschte Konzentration von $25\mu\text{g}$ Selen pro 110mg Pulver und damit pro Kapsel zu erreichen. Wichtig bei den Konzentrationsberechnungen ist die Berücksichtigung des Molekulargewichtes der jeweils verwendeten Wirksubstanz (Na_2SeO_3 bzw. $\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{Se}$) und des sich daraus ergebenden prozentualen Anteils des Selen hinsichtlich dieses Wirkstoffes.

2.5 Meßmethoden

2.5.1 Materialien

Geräte:

Eppendorf Digitalphotometer 6115; Hg Filter 366 nm; Hg Filter 546 nm

Eppendorf-Meßschreiber CKE 6454

Heizgerät Thermomix 1420 B.Braun Melsungen AG

Reagenzien:

Fa. Merck: Kaliumdihydrogenphosphat p. a.; di-Kaliumhydrogenphosphat-3-hydrat p. a.; Kaliumcyanid p. a.; Kaliumhexacyanoferrat p. a.; Natriumhydrogencarbonat p. a.; Natriumacid p. a.; primäres Natriumcarbonat; Kaliumcarbonat

Fa. Boehringer-Mannheim: NADPH₂ 98%, Tetranatriumsalz; Glutathionreduktase from yeast, 5 mg/ml, 120 U/mg; GSH, reduziert, kristallisiert

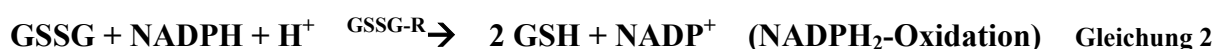
Fa. Serva: Ethylendiamintetraessigsäure * Na₂ EDTA p. a.

Fa. Sigma: t-Butylhydroperoxid, 70% wässrige Lösung, 12 mmol/l

2.5.2 Aktivitätsbestimmung der Glutathionperoxidase im Plasma

(Methode des gekoppelten Enzymtests nach Paglia et Valentine (1967) modifiziert durch Flohé et Günzler (1984))

Das reduzierte Glutathion (GSH) wird mittels des katalytisch wirkenden Enzyms Glutathionperoxidase (GSH-Px) zum Glutathiondisulfid (GSSG) oxidiert, welches wiederum mittels des katalytisch wirkenden Enzyms Glutathionreduktase (GSSG-R) in die reduzierte Form (GSH) rücküberführt werden kann. Dieser Rücktransfer ist dabei an das Coenzym NADPH₂ als Wasserstoffdonator und damit als Reduktionsmittel gekoppelt. Die begleitend ablaufende NADPH₂-Oxidation stellt das Prinzip der kontinuierlichen photometrischen Messung der Aktivität der Glutathionperoxidase im Plasma dar.



Meßreagenzien:

- 0,1 mol/l KPP mit pH 7,0 , 1 mmol/l EDTA
- 10 mmol/l GSH
- 20 µl GSSG-R-Suspension + 5 ml des 0,1 mol/l KPP mit pH 7,0 => GSSG-R 2,4 U/ml
- 1,5 mmol/l NADPH₂ in 0,1 % NaHCO₃
- 12 mmol/l t-BOOH

Der Kaliumphosphatpuffer wird wöchentlich angesetzt, alle übrigen Reagenzien werden am Meßtag frisch hergestellt und eisgekühlt.

Meßansatz in der Halbmikroküvette und Konzentration des Testansatzes:

- 50 µl Plasma
- 550 µl KPP 55 mmol/l im Ansatz
- 100 µl GSH 1 mmol/l im Ansatz
- 100 µl GSSG-R 0,24 U/ml im Ansatz
- 100 µl NADPH₂ 0,15 mmol/l im Ansatz
- 100 µl t-BOOH 1,2 mmol/l im Ansatz

Plasma, Kaliumphosphatpuffer, Glutathion und Glutathionreduktase werden verrührt und danach fünf Minuten in einer auf 37° C erwärmten Küvette inkubiert. Nach dem Zusatz von NADPH₂, erneutem Verrühren und erneuter Inkubation des Ansatzes bei 37° C für fünf Minuten, wird der peroxidunabhängige Verbrauch des Coenzym NADPH₂ als Vorlauf über mindestens fünf Minuten bei einer Wellenlänge von 366 nm gemessen. Die enzymatische Hauptreaktion beginnt mit der Zugabe von t-BOOH, welche nach Verrühren des Ansatzes bis zum vollständigen Verbrauch des NADPH₂ kontinuierlich photometrisch aufgezeichnet wird.

Zur Messung der peroxidunabhängigen Spontanreaktion zwischen Peroxid und GSH wird das Plasmavolumen durch Kaliumphosphatpuffer ersetzt und nach Vorinkubation ebenfalls die enzymatische Hauptreaktion mit t-BOOH gestartet und kontinuierlich photometrisch aufgezeichnet.

Die Extinktionsänderungen unter Abfall der NADPH₂-Konzentration $\Delta[\text{NADPH}_2] / \text{min}$ werden mit Hilfe eines Meßschreibers unter konstantem Papiervorschub von 1 cm / min als Extinktionskurve graphisch aufgezeichnet. Aus den linearen Kurvenabschnitten für Vorlauf und enzymatische Hauptreaktion werden durch Subtraktion der Extinktionsänderung des Vorlaufs von der Extinktions-

änderung der enzymatischen Hauptreaktion die zur Messung der Spontanreaktion zugehörige Extinktionsänderung ΔE als $\Delta \text{ mE} / \text{ min}$ berechnet. Bei der Berechnung der Extinktionsänderung ΔE eines Testansatzes, d.h. einer zu messenden Plasmaprobe, wird ebenso verfahren, jedoch muß hier zusätzlich das Ergebnis der Extinktionsänderung ΔE der Spontanreaktion subtrahiert werden.

Die Umrechnung der Extinktionsänderung der zu messenden Plasmaprobe in Enzymaktivität [U/l] erfolgt mit Hilfe der Gleichung:

$$U/l = \frac{\Delta \text{ mE} * 0,868 * \mu\text{mol} * V_a * \text{ml}}{\text{min} * \epsilon * \text{cm}^2 * d * \text{cm} * V_e * \text{ml} * [\text{GSH}]} \quad \text{Gleichung 3}$$

$$U/l = \frac{\Delta \text{ mE} * 0,868 * \mu\text{mol} * 1000 * \mu\text{l} * \text{ml}}{\text{min} * 3,3 * \text{cm}^2 * 1 \text{ cm} * 50 * \mu\text{l} * 1 * \mu\text{mol}} \quad \text{Gleichung 4}$$

$$U/l = \frac{5,26 * \Delta \text{ mE}}{\text{min}} \quad \text{Gleichung 5}$$

$$U_k = (\Delta \log [\text{GSH}] / t) = 0,434 (\Delta \ln [\text{GSH}] / t) \\ = (0,434 / [\text{GSH}]_0) (d [\text{GSH}] / dt) \\ \Rightarrow 0,868 (\Delta [\text{NADPH}_2] / [\text{GSH}]_0 t) (V_a / V_e), \text{ kinetischer Umrechnungsfaktor} \\ \text{(Flohé \& Günzler, 1984)}$$

$$\epsilon = 3,3 * \text{cm}^2 * \mu\text{mol}^{-1}, \text{ Extinktionsfaktor für NADPH}_2 \text{ bei einer Wellenlänge von 366 nm} \\ \text{(Günzler et al., 1974)}$$

$d = 1 \text{ cm}$, Küvettendurchmesser

$V_a = \text{Ansatzmenge in ml}$ (entspricht hier: $1000 \mu\text{l} = 1 \text{ ml}$)

$V_e = \text{Enzymprobe in ml}$ (entspricht hier: $50 \mu\text{l} = 0,05 \text{ ml}$)

$\text{mE} = \text{Milliextinktion}$

$[\text{GSH}] = [\text{mmol/l}] \Rightarrow [\mu\text{mol/ml}]$ (Konzentrationseinheit aus Testansatz)

Bei allen Plasmaprobenmessungen wurden Doppelbestimmungen durchgeführt.

2.5.3 Aktivitätsbestimmung der Glutathionperoxidase in Erythrozyten

(Methode des gekoppelten Enzymtests nach Paglia et Valentine (1967) modifiziert durch Günzler et al. (1974) und Wendel (1981))

Meßreagenzien:

- 0,1 mol/l KPP mit pH 7,0 , 1 mmol/l EDTA
- 0,25 mol/l KPP mit pH 7,0 , 2 mmol/l EDTA
- 25 mmol/l KPP mit pH 7,0
- 10 mmol/l GSH
- 20 µl GSSG-R-Suspension + 5 ml des 0,1 mol/l KPP mit pH 7,0 => GSSG-R 2,4 U/ml
- 2,5 mmol/l NADPH₂ in 0,1 % NaHCO₃
- 2,5 mmol/l NaN₃ in 0,25 mol/l KPP
- 12 mmol/l t-BOOH
- Drabkin's Reagenz (0,77 mmol/l KCN + 0,6 mmol/l K₃Fe(CN)₆ in 1 mmol/l KPP)
- Transformationslösung (4,5 mmol/l KCN + 0,45 mmol/l K₃Fe(CN)₆ in 0,25 mol/l KPP)

Der Kaliumphosphatpuffer und das Natriumacid (NaN₃) werden wöchentlich angesetzt, das Drabkin's Reagenz ist bei Aufbewahrung im Kühlschrank bei 4° C mehrere Wochen stabil. Alle übrigen Reagenzien werden am Meßtag frisch hergestellt und eisgekühlt.

Hämolyse: Nach Zentrifugation der Blutprobe werden die Erythrozyten zweimal mit 0,9 %-iger NaCl-Lösung gewaschen und 0,1 ml der gewaschenen Erythrozyten mit Aqua dest. in einem Verhältnis von 1:4 versetzt und eine Stunde im Kühlschrank hämolysiert (= 0,5 ml Hämolysat). Danach wird der Hälfte der Hämolysatmenge (= 0,25 ml Hämolysat) 3,15 ml Aqua dest. und 0,35 ml Kaliumphosphatpuffer 0,25 mol/l zugesetzt, so dass sich für den Kaliumphosphatpuffer eine Endkonzentration von 23 mmol/l ergibt. Die Erythrozytenmembranen werden abzentrifugiert und als Hämolysatüberstand abpipettiert und verworfen.

Hämoglobin-Konzentrationseinstellung: Die Hämoglobinbestimmung des Hämolysats erfolgt photometrisch mit Drabkin's Reagenz: 1,0 ml Drabkin's Reagenz + 0,1 ml Hämolysat werden 15 Minuten bei Raumtemperatur in 1 cm-Küvetten inkubiert.

Die vom Hb-Gehalt abhängige Absorption des Hämolysat-Hämoglobins wird bei 546 nm Wellenlänge gemessen ($A_{546} \cdot 16 = \text{mg Hb/ml}$) und die Hb-Konzentration möglichst genau auf den

Hämoglobin-Soll-Wert von 3 mg Hb/ml Hämolysat durch Verdünnung mit 25 mmol/l Kaliumphosphatpuffer eingestellt. Zum Schluß wird durch eine Dreifach-Hb-Messung mittels Drabkin's Reagenz der tatsächliche Hämoglobin-Ist-Wert des eingestellten Hämolysats gemessen, wobei der Mittelwert dieser Dreifach-Hb-Messung zur Berechnung des Korrekturfaktors genutzt wird. Der Korrekturfaktor errechnet sich aus dem Quotienten von Hämoglobin-Soll-Wert, also 3 mg Hb/ml Hämolysat, dividiert durch den Mittelwert des dreifach gemessenen Hämoglobin-Ist-Wertes. Dieser Korrekturfaktor wird zur abschließenden Korrekturberechnung der Ery-GSH-Px-Aktivität benötigt.

Transformation: 2 ml des Hb-eingestellten Hämolysats (= 3 mg Hb/ml) werden mit 1 ml Transformationslösung versetzt und mindestens 20 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Dabei werden die Peroxidase-Eigenschaften der Hämoproteine durch Transformation in Cyanomethämoglobin minimiert und standardisiert. Es resultiert eine Hb-Konzentration von 2 mg Hb/ml Standardlösung.

GSH-Px-Aktivitätsmessung:

Meßansatz in der 1 cm-Halbmikroküvette und Konzentration des Testansatzes:

- 500 µl transformiertes Hämolysat 1 mg Hb/ml im Ansatz
- 100 µl GSH 1 mmol/l im Ansatz
- 100 µl GSSG-R 0,24 U/ml im Ansatz
- 100 µl NADPH₂ 0,25 mmol/l im Ansatz
- 100 µl NaN₃ 0,25 mmol/l im Ansatz
- 100 µl t-BOOH 1,2 mmol/l im Ansatz

Transformiertes Hämolysat, Natriumacid, Glutathion, Glutathionreduktase und NADPH₂ werden verrührt und zehn Minuten in einer auf 37° C erwärmten Küvette inkubiert. Mit der Zugabe von t-BOOH und erneutem Verrühren beginnt die enzymatische Hauptreaktion, welche bis zum vollständigen Verbrauch des Coenzym NADPH₂ kontinuierlich photometrisch aufgezeichnet wird.

Zur Messung der peroxidunabhängigen Spontanreaktion wird das transformierte Hämolysat im oben genannten Testansatz durch Kaliumphosphatpuffer 0,1 mol/l ersetzt und ebenfalls durch Zugabe von t-BOOH die enzymatische Hauptreaktion gestartet und kontinuierlich photometrisch aufgezeichnet.

Die Extinktionsänderung ΔE als $\Delta \text{ mE} / \text{ min}$ wird analog zur Plasmameßmethode berechnet, wobei in diesem Fall beachtet werden muß, dass bei der Aktivitätsbestimmung der Ery-GSH-Px kein peroxid-unabhängiger Verbrauch des Coenzym NADPH₂ als Vorlauf gemessen wird und sich dem-

zufolge die Extinktionsänderung ΔE für die Spontanreaktion direkt aus der enzymatischen Hauptreaktion ergibt. Es gilt aber weiterhin analog zur Plasmameßmethode, dass bei Messungen der Testansätze, d.h. der Plasmaproben, zur Berechnung der Extinktionsänderung ΔE das Ergebnis der Extinktionsänderung ΔE der Spontanreaktion von der Extinktionsänderung ΔE der Testansätze subtrahiert werden muß.

Die Enzymaktivität wird in U/mg Hb bzw. U/g Hb angegeben und mit Hilfe folgender Gleichung umgerechnet:

$$\text{U/mg Hb} = \frac{\Delta E * 0,868 * \mu\text{mol}}{\text{min} * \epsilon * \text{cm}^2 * d * \text{cm} * [\text{GSH}]} \quad \text{Gleichung 6}$$

$$\text{U/mg Hb} = \frac{\Delta E * 0,868 * \mu\text{mol} * \text{ml}}{\text{min} * 3,3 * \text{cm}^2 * 1 * \text{cm} * 1 \mu\text{mol}} \quad \text{Gleichung 7}$$

$$\text{U/mg Hb} = \frac{\Delta E * 0,264}{\text{min}} \quad \text{Gleichung 8}$$

$$\text{U/g Hb} = \frac{\Delta E * 264}{\text{min}} \quad \text{Gleichung 9}$$

$$\begin{aligned} U_k &= (\Delta \log [\text{GSH}] / t) = 0,434 (\Delta \ln [\text{GSH}] / t) \\ &= (0,434 / [\text{GSH}]_0) (d [\text{GSH}] / dt) \\ &\Rightarrow 0,868 (\Delta [\text{NADPH}_2] / [\text{GSH}]_0 t), \text{ kinetischer Umrechnungsfaktor} \\ &\quad \text{(Wendel, 1981)} \end{aligned}$$

$\epsilon = 3,3 * \text{cm}^2 * \mu\text{mol}^{-1}$, Extinktionsfaktor für NADPH_2 bei einer Wellenlänge von 366 nm
(Günzler et al., 1974)

$d = 1 \text{ cm}$, Küvettendurchmesser

mE = Milliextinktion

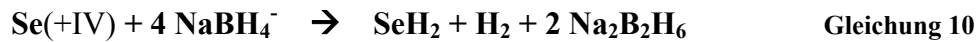
$[\text{GSH}] = [\text{mmol/l}] \Rightarrow [\mu\text{mol/ml}]$ (Konzentrationseinheit aus Testansatz)

Bei allen Messungen wurden Doppelbestimmungen durchgeführt.

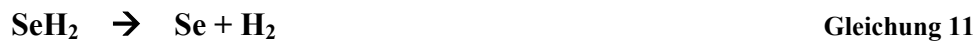
Korrekturberechnung: Zur Berechnung der endgültigen Aktivität der Erythrozyten-Glutathionperoxidase muß abschließend das Ergebnis der Enzymaktivitätsumrechnung aus Gleichung 6-9 mit dem bei der Hämoglobin-Konzentrationseinstellung berechneten Korrekturfaktor multipliziert werden.

2.5.4 Konzentrationsbestimmung des Selen in Vollblut, Plasma, Erythrozyten, Haaren und Urin

Die Konzentrationsbestimmung des Selen im Vollblut und Plasma erfolgt mit Hilfe der Atomabsorptionsspektrophotometrie (Lombeck et al., 1989). Dabei wird mittels Hydridtechnik das in saurer Lösung vorliegende IV-wertige Selenit mit Natrium-Bor-Hydrid in seine Hydridform überführt:



Das entstandene Selenhydrid, der Selenwasserstoff, wird in eine beheizte Quarzküvette überführt und thermisch nach folgender Reaktionsgleichung bei 950° C zersetzt:



Während dieses Zersetzungs Vorganges wird die Absorption der von einer Selen-EDL-Lampe emittierten Strahlung mit der Wellenlänge 196,03 nm aufgezeichnet und integriert, worüber der Selengehalt der Meßprobe quantitativ ermittelt wird.

2.5.5 Methoden zur Bestimmung der laborchemischen Routineparameter

- Die Bestimmung der Schilddrüsenparameter wurde zentral in der Universitätskinderklinik Berlin durchgeführt:

TSH : TSH-IRMAclen (Henning Berlin GmbH)

fT4 : DYNOfest (Henning Berlin GmbH)

fT3 : DYNOfest (Henning Berlin GmbH)

- Alle weiteren laborchemischen Routineparameter wurden nach den üblichen Standard-Labormeßmethoden in den jeweiligen Universitätskinderkliniken bestimmt.

2.5.6 Qualität und Präzision

Die Qualität der Analyse wurde durch Messung von zertifiziertem Referenzmaterial, die Präzision der Analyse durch repetitive Messung von Poolproben überprüft.

Tabelle 2 Richtigkeit der Selenbestimmung in Vollblut und Serum

Standard	Meßwert	Referenzwert
Vollblut Selen Seronorm TE Batch No. 010010 Level 1	90,96 ± 1,35 µg/l (n = 5; 1,48 % rel. SD)	Certified Value: 93 µg/l (89-97 µg/l)
Serum Selen Seronorm TE Batch No. 010017	96,26 ± 1,99 µg/l (n = 7; 2,07 % rel. SD)	Certified Value: 96 µg/l (92-102 µg/l)
Bovine Serum Selen Standard u. Referenzmaterial NBS 1598	43,95 ± 1,37 ng/ml (n = 6; 3,12 % rel. SD)	Certified Value: 42,4 ± 3,5 ng/g (entspricht 43,6 ± 3,6 ng/ml; Umrechnungsfaktor: 1,029)

Tabelle 3 Richtigkeit der Selenbestimmung im Urin

Standard	Meßwert	Referenzwert
Standard Reference Material 2670 Toxic Metals in Freeze- Dried Urine	30 ± 2 ng/ml (n = 7; 6,67 % rel. SD)	Certified Value: 30 ± 8 ng/ml

Tabelle 4 Richtigkeit der Selenbestimmung im Haar

Standard	Meßwert	Referenzwert
Standard Reference Material 397 Trace Elements in Human Hair	1959 ± 67 ng/g (n = 5; 3,42 % rel. SD)	Certified Value: 2000 ± 80 ng/g

Tabelle 5 Präzision der Plasma-GSH-Px-Bestimmung modifiziert nach Flohé et Günzler (1984)

Standard	Meßwert	Referenzwert
Plasma-GSH-Px-Pool	141,6 ± 2,1 U/l (n = 10; 1,48 % rel. SD)	Certified Value: 160,2 ± 3,7 U/l

Tabelle 6 Präzision der Ery-GSH-Px-Bestimmung nach Wendel (1981)

Standard	Meßwert	Referenzwert
Erythrozyten-GSH-Px-Pool	7,2 ± 0,4 U/gHb (n = 10; 5,56 % rel. SD)	Certified Value: 7,6 ± 0,3 U/gHb

2.6 Statistik

Die statistische Auswertung erfolgte mittels SAS-System (SAS-PC, Version 6.08).

- Deskriptive Statistik: Es wurde das arithmetische Mittel sowie die Standardabweichung der Meßwerte berechnet. Die Berechnungen erfolgten nach Gruppen (Gruppe 1 = Supplementation mit anorganischem Natriumselenit, Gruppe 2 = Supplementation mit organischem Selenomethionin, Gruppe 3 = Supplementation mit einem Placebo) und Untersuchungszeitpunkten (0-270 Tage) getrennt. (siehe „Ergebnisse - Deskriptive Statistik“, 3.1)
- Korrelationsanalyse: Zur Untersuchung von Zusammenhängen zwischen verschiedenen Selen-Parametern wurden (verteilungsunabhängige) Rang-Korrelationen (Spearman's Korrelationskoeffizienten, r-Werte) gruppenweise berechnet. Dies erfolgte auf der Basis der zeitlichen Mittelwerte. Die angegebenen p-Werte testen die Hypothese, ob der jeweilige Spearman's Korrelationskoeffizient von Null verschieden ist. P-Werte, welche niedriger als $\alpha = 0,05$ ausfallen, erlauben den Schluß, dass zwischen den korrelierten Größen ein statistischer Zusammenhang besteht, d. h. dass die Größen miteinander signifikant korrelieren. Bei P-Werten niedriger als $\alpha = 0,01$ besteht sogar eine hochsignifikante Korrelation. (siehe „Ergebnisse – Korrelations-analyse“, 3.2)
- Kinetikanalyse: Die klassische Pharmakokinetik verwendet zur Beschreibung der Konzentrations-verläufe Kompartiment-Modelle. Dabei werden bestimmten Bereichen des Organismus, die als Aufenthaltsorte eines Arzneimittels in Frage kommen, Volumina zugeordnet (oft normiert auf das Körpergewicht in l/kg), in denen sich homogene Konzentrationen einstellen. Das wich-

tigste Kompartiment ist das Plasmavolumen, welches für pharmakokinetische Fragestellungen die größte Bedeutung hat und meßtechnisch am einfachsten zugänglich ist (Kojda, 2000). Die kinetische Analyse wurde überwiegend mit einem einfachen 1-Kompartiment-Modell durchgeführt, da nur ein Drittel aller Kurven die Identifizierung eines 2-Kompartiment-Modells erlaubten. Dabei resultiert in 4 der 7 analysierten 2-Kompartiment-Modellen aufgrund einer vernachlässigbar kleinen Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-1}$ letztlich ein 1-Kompartiment-Modell.

Ausnahmsweise wurde die Anpassung der Kurven auf der Basis der zeitlichen Mittelwerte in den einzelnen Gruppen vorgenommen. Eine Analyse der individuellen Kurven erschien aus Gründen großer Streuungen und sehr unterschiedlicher Anzahl an Meßpunkten nicht möglich. Die statistische Beurteilung der kinetischen Parameter erfolgte deshalb mit Hilfe ihrer asymptotischen Standardabweichungen, wie sie aus dem Anpassungsverfahren nach Marquardt geschätzt wurden. Die darauf basierende Konstruktion des 95 %-Konfidenzintervalls erlaubt statistische Vergleiche zwischen den Gruppen bzw. den Parametern. (siehe „Ergebnisse – Kinetik-analyse“, 3.3)

➤ Kinetisches 1-Kompartiment-Modell: $y(t) = Y_1 * (1 - e^{-K_1 * t}) + Y_3$

➤ Kinetisches 2-Kompartiment-Modell: $y(t) = Y_1 * (1 - e^{-K_1 * t}) + Y_2 * (1 - e^{-K_2 * t}) + Y_3$

Daraus abgeleitet wurden:

Y_1, Y_2	Absättigungskonstanten
$Y_3 = \text{Offset}$	Kontrollniveau (für $t = 0$)
K_1, K_2	Geschwindigkeitskonstanten
$T_{1/2-1} = \ln(2)/K_1$	Kumulationshalbwertszeit 1
$T_{1/2-2} = \ln(2)/K_2$	Kumulationshalbwertszeit 2
Kumulation = $Y_1 + Y_3$ bzw. $Y_1 + Y_2 + Y_3$	Kumulationswert
Kompartimente [n]	Anzahl der Kompartimente

- AUC- und Bioverfügbarkeitsanalyse: Die durch Selensupplementation bedingte Konzentrations- bzw. Enzymaktivitätsänderung ist äquivalent den numerischen Flächengrößen unter den Kurven (Area Under Curve / AUC) und wurde mittels Trapezregel (Meier et al., 1981) computergestützt berechnet. Dabei wurden die Ausgangsmeßwerte zu Beginn der Selensupplementation, welche dem sog. Offset entsprechen, von den nachfolgenden Meßwerten des Supplementations-zeitraumes subtrahiert. Aus den AUC-Werten der Verumgruppen wurde dann die relative Bioverfügbarkeit der beiden Verumselenpräparate zueinander als Verhältniszahl in Prozent berechnet. Zur statistischen Berechnung wurde der Student-t-Test für unverbundene Stichproben durchgeführt. (siehe „Ergebnisse - Bioverfügbarkeitsanalyse“, 3.4)

3 Ergebnisse

3.1 Meßergebnisse

3.1.1 Deskriptive Darstellung

Die einzelnen zeitgebundenen Meßwerte der Analysen sind tabellarisch als Mittelwerte mit Standardabweichungen im Anhang unter 6.1 dargestellt.

Bei 43 Kindern mit Phenylketonurie, welche zwischen 5 und 15 Jahren alt waren, wurde das Verhalten selenabhängiger hämatologischer Parameter und weiterer klinisch-chemischer Parameter unter Selen- respektive Placebosubstitution über einen Zeitraum von 270 Tagen untersucht.

Bei ähnlichen Ausgangsspiegeln in allen drei Substitutionsgruppen der jeweiligen Parameter Vollblut-Selen (25-27 ng/ml) und Plasma-Selen (17-19 ng/ml), wurden in den Verumgruppen, insbesondere der Selenomethioningruppe, deutlich höhere Vollblut- (59 bzw. 116 ng/ml) respektive Plasma-Selenspiegel (50 bzw. 88 ng/ml) nach Substitution gemessen, als in der Placebogruppe. Dort lagen die entsprechenden Vollblut- (31 ng/ml) respektive Plasma-Selenspiegel (26 ng/ml) nach Substitution nur wenig höher als zu Beginn der Beobachtung. Die Ausgangsspiegel für die Parameter Erythrozyten-Selen (37-43 ng/ml) respektive Plasma-Glutathionperoxidase (24-33 U/l) differieren mäßig zwischen den drei Gruppen, wobei auch hier am Ende des Substitutionszeitraumes die Spiegel in den Verumgruppen (61 ng/ml sowie 91 U/l), insbesondere der Selenomethioningruppe (162 ng/ml sowie 102 U/l), deutlich gestiegen sind, während in der Placebogruppe je Parameter (41 ng/ml sowie 34 U/l) kaum eine Veränderung zu verzeichnen ist. Bei den Parametern Erythrozyten-Glutathionperoxidase und Haar-Selen liegen die Ausgangsspiegel der Verumgruppen auf ähnlichem Niveau (2,7-2,8 U/g Hb sowie 132 µg/g Haar), während der Ausgangsspiegel der Placebogruppe bei der Erythrozyten-Glutathionperoxidase leicht erhöht (3,4 U/g Hb) und bei Haar-Selen leicht erniedrigt (128 µg/g Haar) ist. Unter Substitution ergeben sich deutliche Spiegel erhöhungen in den Verumgruppen (6,2 U/g Hb sowie 231 µg/g Haar), insbesondere der Selenomethioningruppe (7,6 U/g Hb sowie 339 µg/g Haar), wobei in der Placebogruppe beim Parameter Erythrozyten-Glutathionperoxidase kaum eine Spiegelveränderung auftritt (3,6 U/g Hb), hingegen beim Parameter Haar-Selen nach Substitution eine leichte Spiegelhöhung zu beobachten ist (157 µg/g Haar). Für den Parameter Urin-Selen liegen alle Ausgangsspiegel annähernd gleich hoch (5,3 µg/g Krea) mit Ausnahme der Selenomethioningruppe, deren Ausgangsspiegel etwas niedriger liegt (4,7 µg/g Krea). Nach 270 Tagen Substitution zeigt sich ein fast unveränderter Spiegel in der Placebogruppe (6,4 µg/g Krea) bei deutlich höheren Spiegeln in den Verumgruppen (15,1 µg/g Krea) mit leichter Dominanz der Selenomethioningruppe (18,6 µg/g Krea). Bei den Parametern GOT und GPT liegen in allen drei Gruppen ähnliche Ausgangs- (13-15 U/l sowie 9-10 U/l) und Endspiegel

(12-13 U/l sowie 9 U/l) zum Abschluß der Substitution vor. Bezüglich der Schilddrüsenparameter TSH, T3 und T4 liegen die Ausgangsspiegel bei TSH fast gleich hoch (2,24-2,37 mU/l), ebenso bei T3 in den Verumgruppen (2,69-2,83 nmol/l) mit leicht höherem Ausgangswert in der Placebogruppe (3,46 nmol/l). Beim Parameter T4 finden sich im Vergleich zu den Schilddrüsenparametern TSH und T3 stärker differierende Ausgangsspiegel in allen Gruppen (115-140 nmol/l). Die Selenomethioningruppe hat den höchsten Ausgangsspiegel (140 nmol/l) und die Placebogruppe den niedrigsten (115 nmol/l). Beobachtet wurden bei den Schilddrüsenparametern nur die Verumgruppen bis zum 180. Tag der Substitution, wobei sich in diesem Zeitraum bei TSH sowie auch bei T3 nur leichte respektive geringfügige Spiegelveränderungen zeigen (1,97-2,34 mU/l sowie 2,71-2,94 nmol/l). Beim Parameter T4 dagegen sinkt in beiden Verumgruppen der Spiegel bis zum 14. Tag der Substitution leicht ab und das mit deutlicherem Abfall in der Selenomethioningruppe (116-117 nmol/l). Ab dem 14. und bis zum 180. Tag bleiben dann bei T4 die Mittelwerte der Verumgruppen stabil. Bei den Parametern Protein, Creatinkinase und MCV liegen in allen drei Gruppen ähnliche Ausgangs- (7,26-7,38 g/dl, 40-51 U/l sowie 85-87 fl) und Endspiegel (7,06-7,54 g/dl, 38-49 U/l sowie 84-85 fl) zum Abschluß der Substitution vor.

3.1.2 Graphische Darstellung

Zur Beschreibung der graphischen Kurvenverläufe der kinetischen Parameter werden neben den im Zeitverlauf gemessenen Mittelwerten und Standardabweichungen (siehe „Anhang – Tabellen“, 6.1) ebenfalls die Werte der nachfolgend unter 3.3 tabellarisch dargestellten Kinetikanalyse herangezogen.

Auf Basis der zeitlichen Mittelwerte (in den Graphiken verbunden durch dünne, schwarzgestrichelte Linien) wurde computergestützt eine sog. „Optimumkurve“ des zeitgebundenen Meßwerteverlaufs errechnet, welche in den graphischen Darstellungen durch eine fettgedruckte, rot-durchgezogene Kurve repräsentiert wird. Die fettgedruckte, grün-gestrichelte Gerade repräsentiert die ebenfalls computergestützt errechnete sog. „Kumulationsgerade des extrapolierten Akkumulationsmaximums“ der einzelnen Supplementationsgruppen bei angenommener zeitlich unbegrenzter Supplementierung der Probanden gegen Unendlich.

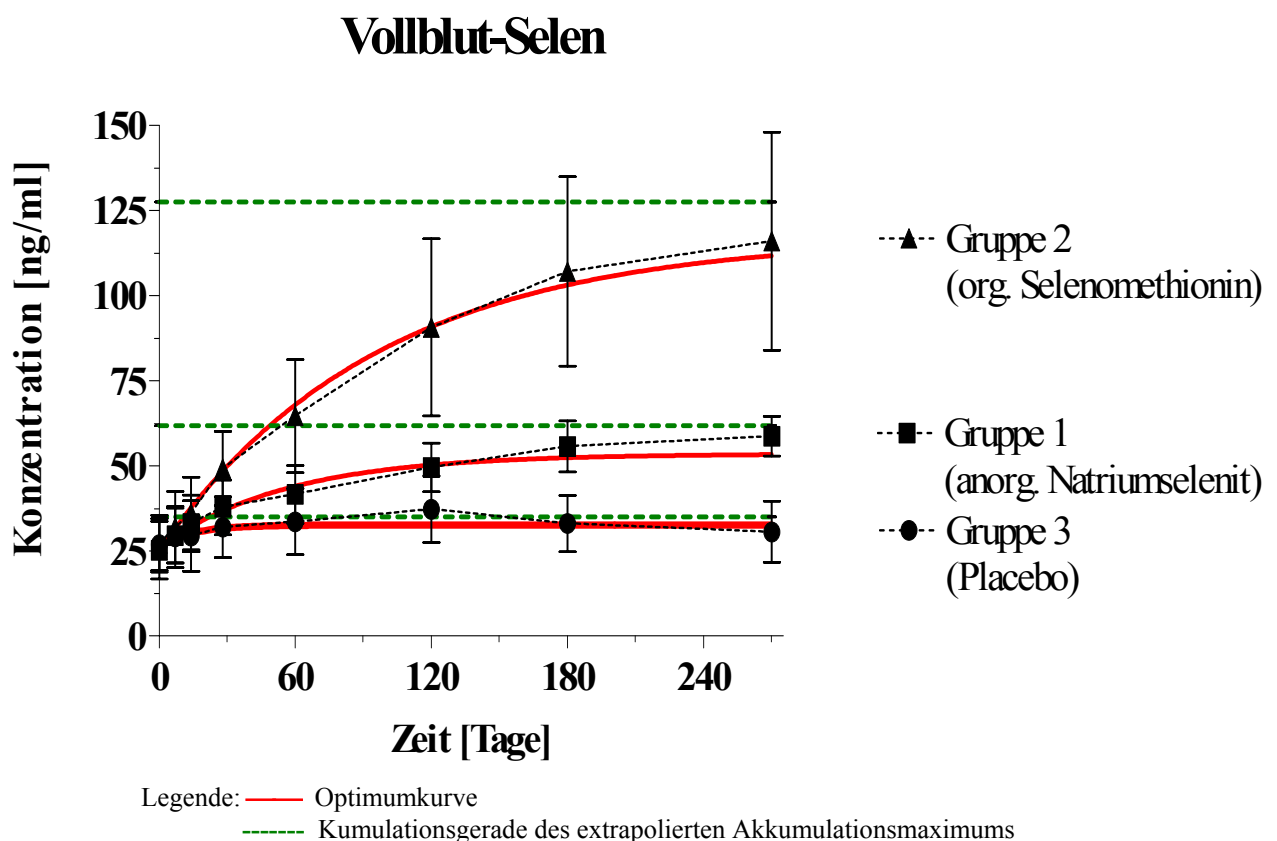


Abbildung 1 Zeitverlaufskurven der Vollblut-Selen-Spiegel nach Substitution mit 25 µg Natriumselenit respektive Selenomethionin im Vergleich zu einer Placebosubstitution angegeben in Mittelwert und Standardabweichung

Vollblut-Selen

Gruppe 1 zeigt einen kontinuierlichen Konzentrationsanstieg mit einer Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-2}$ von etwa 78 Supplementationstagen und nachfolgend langsamerem Konzentrationsanstieg bis zum Erreichen eines Plateauniveaus ab dem ungefähr 120. Supplementationstag bei 50 ± 7 ng/ml VbSe. Das extrapolierte Akkumulationsmaximum, welches bei homogenem Konzentrationsausgleich nach mehr als fünf Halbwertszeiten erreicht würde, liegt bei etwa 62 ng/ml VbSe. In Gruppe 2 findet sich ein schneller und kontinuierlicher Konzentrationsanstieg mit einer Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-2}$ von etwa 82 Supplementationstagen und nachfolgender Anstiegsphase bis zu einem VbSe-Spiegel von 116 ± 32 ng/ml am Ende des Beobachtungszeitraumes. Das extrapolierte Akkumulationsmaximum, welches bei homogenem Konzentrationsausgleich nach mehr als fünf Halbwertszeiten erreicht würde, liegt bei etwa 128 ng/ml VbSe. Ein Plateauniveau wird von Gruppe 2 im Beobachtungszeitraum nicht erreicht. In Gruppe 3 liegen mit einer rechnerischen Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-2}$ von etwa 25 Supplementationstagen über dem gesamten Supplementationszeitraum nur geringe Konzentrationsschwankungen um ca. 32 ± 9 ng/ml VbSe vor. Das extrapolierte Akkumulationsmaximum, welches bei homogenem Konzentrationsausgleich nach mehr als fünf Halbwertszeiten erreicht würde, liegt bei etwa 35 ng/ml VbSe. Mit insgesamt 270 Supplementationstagen betrachten wir für die Verumgruppen einen Zeitraum von ca. 3,5 Halbwertszeiten für Gruppe 1 und von ca. 3 Halbwertszeiten für Gruppe 2, weshalb die Endmittelwerte in beiden Gruppen nicht die extrapolierten Akkumulationsmaxima als entsprechende Gleichgewichtskumulationswerte nach fünf Halbwertszeiten erreichen.

Plasma-Selen

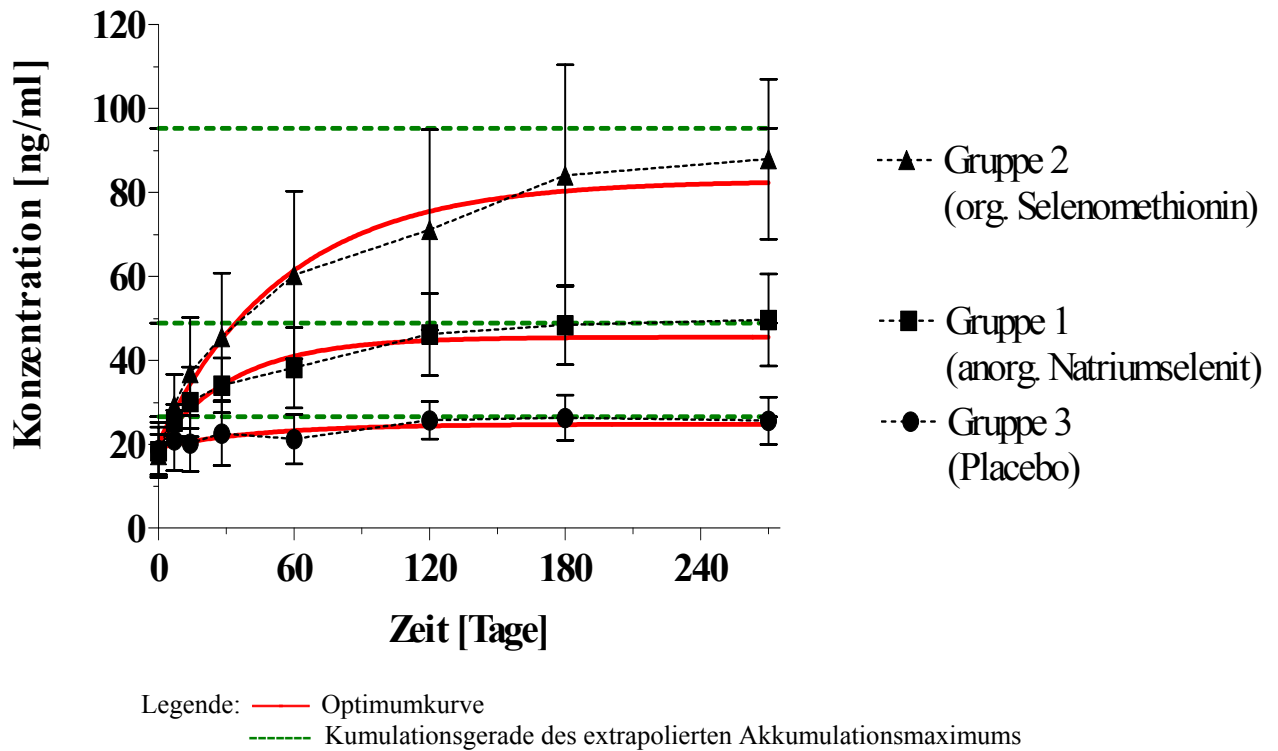


Abbildung 2 Zeitverlaufskurven der Plasma-Selen-Spiegel nach Substitution mit 25 μg Natriumselenit respektive Selenomethionin im Vergleich zu einer Placebosubstitution angegeben in Mittelwert und Standardabweichung

Plasma-Selen

Gruppe 1 zeigt einen zunächst deutlichen Konzentrationsanstieg mit einer Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-2}$ von etwa 48 Supplementationstagen. Danach erfolgt nur noch ein mäßiger Konzentrationsanstieg bis zum Erreichen eines Plateauniveaus ab dem ungefähr 120. Supplementationstag bei 46 ± 10 ng/ml PlSe. Das extrapolierte Akkumulationsmaximum, welches bei homogenem Konzentrationsausgleich nach mehr als fünf Halbwertszeiten erreicht würde, liegt bei etwa 49 ng/ml PlSe. In Gruppe 2 findet sich ein zunächst schneller Konzentrationsanstieg mit einer Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-2}$ von etwa 85 Supplementationstagen. Danach folgt eine deutlich langsamere Anstiegsphase bis auf ein Plateauniveau ab dem ungefähr 180. Supplementationstag von etwa 84 ± 26 ng/ml PlSe. Das extrapolierte Akkumulationsmaximum, welches bei homogenem Konzentrationsausgleich nach mehr als fünf Halbwertszeiten erreicht würde, liegt bei etwa 95 ng/ml PlSe. In Gruppe 3 liegen mit einer rechnerischen Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-2}$ von etwa 70 Supplementationstagen über dem gesamten Supplementationszeitraum nur geringe Konzentrationsschwankungen um ca. 23 ± 8 ng/ml PlSe vor. Das extrapolierte Akkumulationsmaximum, welches bei homogenem Konzentrationsausgleich nach mehr als fünf Halbwertszeiten erreicht würde, liegt bei etwa 27 ng/ml PlSe. Mit insgesamt 270 Supplementationstagen betrachten wir für die Verumgruppen einen Zeitraum von ca. 5,5 Halbwertszeiten für Gruppe 1 und von ca. 3 Halbwertszeiten für Gruppe 2, wobei die Endmittelwerte in beiden Gruppen nicht die extrapolierten Akkumulationsmaxima als entsprechende Gleichgewichtskumulationswerte nach fünf Halbwertszeiten erreichen. In beiden Gruppen wird jedoch im menschlichen Organismus ein annäherndes Plateau erreicht.

Erythrozyten-Selen

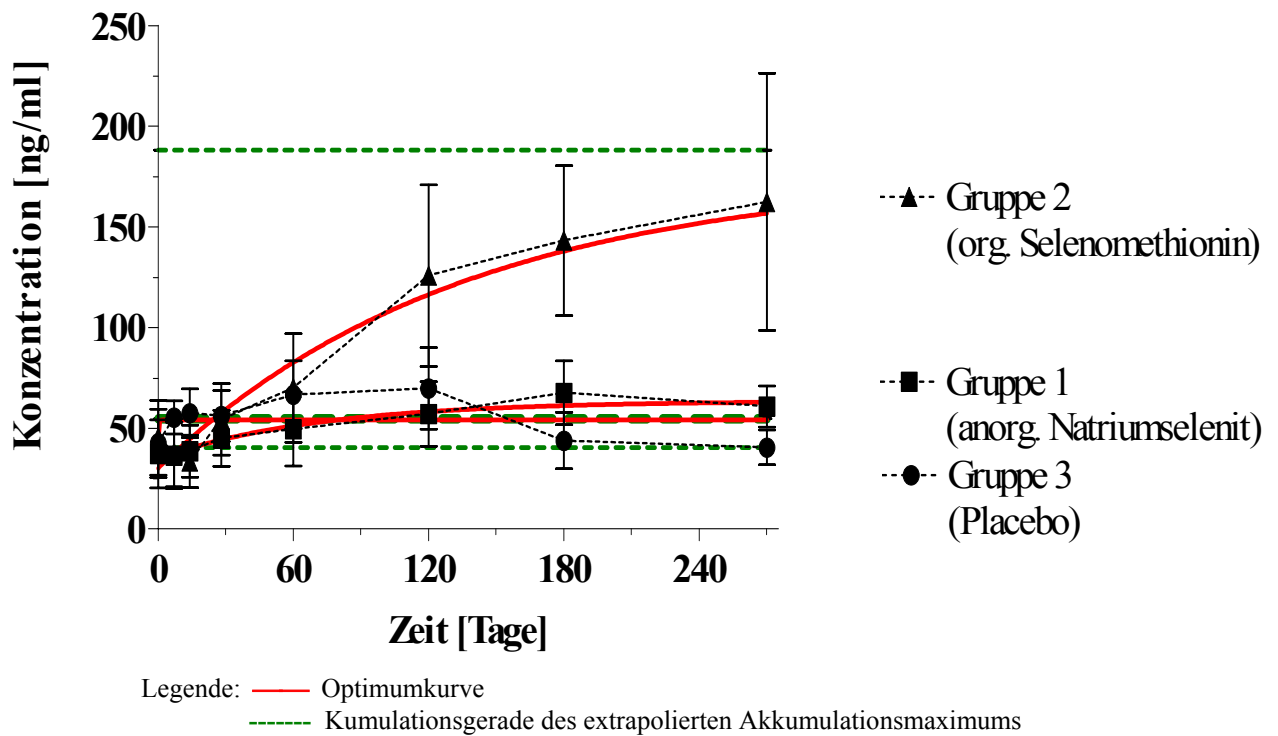


Abbildung 3 Zeitverlaufskurven der Erythrozyten-Selen-Spiegel nach Substitution mit 25 µg Natriumselenit respektive Selenomethionin im Vergleich zu einer Placebosubstitution angegeben in Mittelwert und Standardabweichung

Erythrozyten-Selen

Gruppe 1 zeigt einen mäßig kontinuierlichen Konzentrationsanstieg mit einer Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-2}$ von etwa 92 Supplementationstagen und nachfolgend geringem Konzentrationsanstieg auf ein Plateauniveau ab dem ungefähr 120. Supplementationstag bei etwa 57 ± 16 ng/ml ErySe. Das extrapolierte Akkumulationsmaximum, welches bei homogenem Konzentrationsausgleich nach mehr als fünf Halbwertszeiten erreicht würde, liegt bei etwa 40 ng/ml ErySe. In Gruppe 2 findet sich ein deutlicher Konzentrationsanstieg mit einer Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-2}$ von etwa 107 Supplementationstagen und nachfolgend etwas langsameren Konzentrationsanstieg bis zu 162 ± 64 ng/ml ErySe. Das extrapolierte Akkumulationsmaximum, welches bei homogenem Konzentrationsausgleich nach mehr als fünf Halbwertszeiten erreicht würde, liegt bei etwa 188 ng/ml ErySe. Ein Plateau-niveau wird von Gruppe 2 im Beobachtungszeitraum nicht erreicht. In Gruppe 3 zeigen sich anfangs leicht ansteigende mittlere Konzentrationen bis etwa zum 120. Supplementationstag bei 70 ± 20 ng/ml ErySe mit raschem Abfall auf etwa das Niveau des Ausgangsmittelwertes ab dem ungefähr 180. Supplementationstag bei ca. 44 ± 14 ng/ml ErySe. Insgesamt schwanken die Meßwerte um eine mittlere Konzentration von ca. 54 ng/ml ErySe. Rechnerisch ergibt sich eine vernachlässigbar geringe Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-2}$ von etwa 0,14 Supplementationstagen. Das extrapolierte Akkumulationsmaximum, welches bei homogenem Konzentrationsausgleich nach mehr als fünf Halbwertszeiten erreicht würde, liegt bei etwa 55 ng/ml ErySe. Mit insgesamt 270 Supplementationstagen betrachten wir für die Verumgruppen einen Zeitraum von ca. 3 Halbwertszeiten für Gruppe 1 und von ca. 2,5 Halbwertszeiten für Gruppe 2, wobei der Endmittelwert in Gruppe 1 das extrapolierte Akkumulationsmaximum als entsprechenden Gleichgewichtskumulationswert nach fünf Halbwertszeiten erreicht, in Gruppe 2 der Endmittelwert das extrapolierte Akkumulationsmaximum als entsprechenden Gleichgewichtskumulationswert nach fünf Halbwertszeiten nicht erreicht. In Gruppe 2 wird jedoch im menschlichen Organismus ein annäherndes Plateau erreicht.

Plasma-Glutathionperoxidase

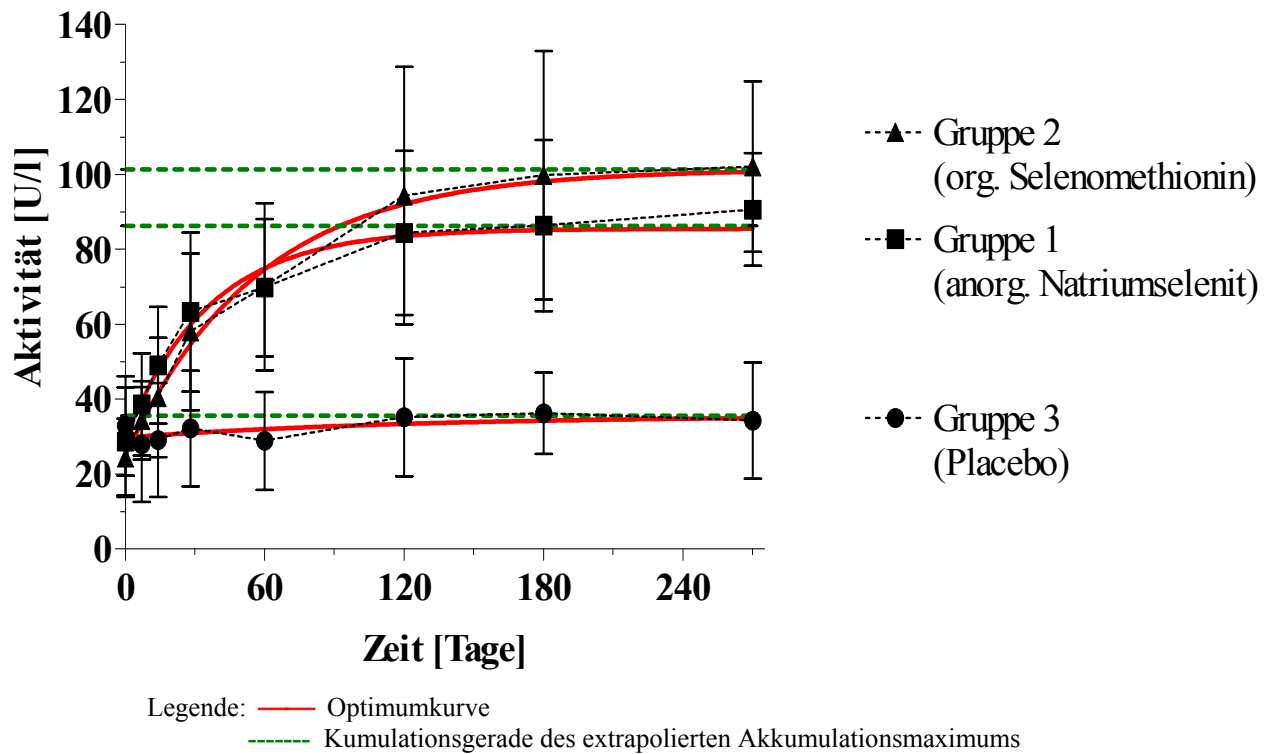


Abbildung 4 Zeitverlaufskurven der Plasma-Glutathionperoxidase-Spiegel nach Substitution mit 25 μg Natriumselenit respektive Selenomethionin im Vergleich zu einer Placebosubstitution angegeben in Mittelwert und Standardabweichung

Plasma-Glutathionperoxidase

Gruppe 1 zeigt einen zunächst schnellen Konzentrationsanstieg mit einer Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-2}$ von etwa 34 Supplementationstagen. Danach folgt eine deutlich langsamere Anstiegsphase auf ein Plateauniveau ab dem ungefähr 120. Supplementationstag von 84 ± 22 U/l. Das extrapolierte Akkumulationsmaximum, welches bei homogenem Konzentrationsausgleich nach mehr als fünf Halbwertszeiten erreicht würde, liegt bei etwa 86 U/l. In Gruppe 2 findet sich zunächst ebenfalls ein schneller Konzentrationsanstieg mit einer Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-2}$ von etwa 39 Supplementationstagen und nachfolgend mäßigem Konzentrationsanstieg bis zu einem Plateauniveau ab dem ungefähr 180. Supplementationstag mit etwa 100 ± 33 U/l. Das extrapolierte Akkumulationsmaximum, welches bei homogenem Konzentrationsausgleich nach mehr als fünf Halbwertszeiten erreicht würde, liegt bei etwa 101 U/l. In Gruppe 3 liegen mit Ausnahme eines anfänglich leichten Konzentrationsanstiegs über den gesamten Supplementationszeitraum hinweg nur leicht schwankende Mittelwerte zwischen 28 ± 15 U/l und 36 ± 11 U/l vor. Rechnerisch ergibt sich eine Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-2}$ von etwa 86 Supplementationstagen. Das extrapolierte Akkumulationsmaximum, welches bei homogenem Konzentrationsausgleich nach mehr als fünf Halbwertszeiten erreicht würde, liegt bei etwa 36 U/l. Mit insgesamt 270 Supplementationstagen betrachten wir für die Verumgruppen einen Zeitraum von ca. 8 Halbwertszeiten für Gruppe 1 und von ca. 7 Halbwertszeiten für Gruppe 2, weshalb die Endmittelwerte in beiden Gruppen die extrapolierten Akkumulationsmaxima als entsprechende Gleichgewichtskumulationswerte nach fünf Halbwertszeiten erreichen.

Erythrozyten-Glutathionperoxidase

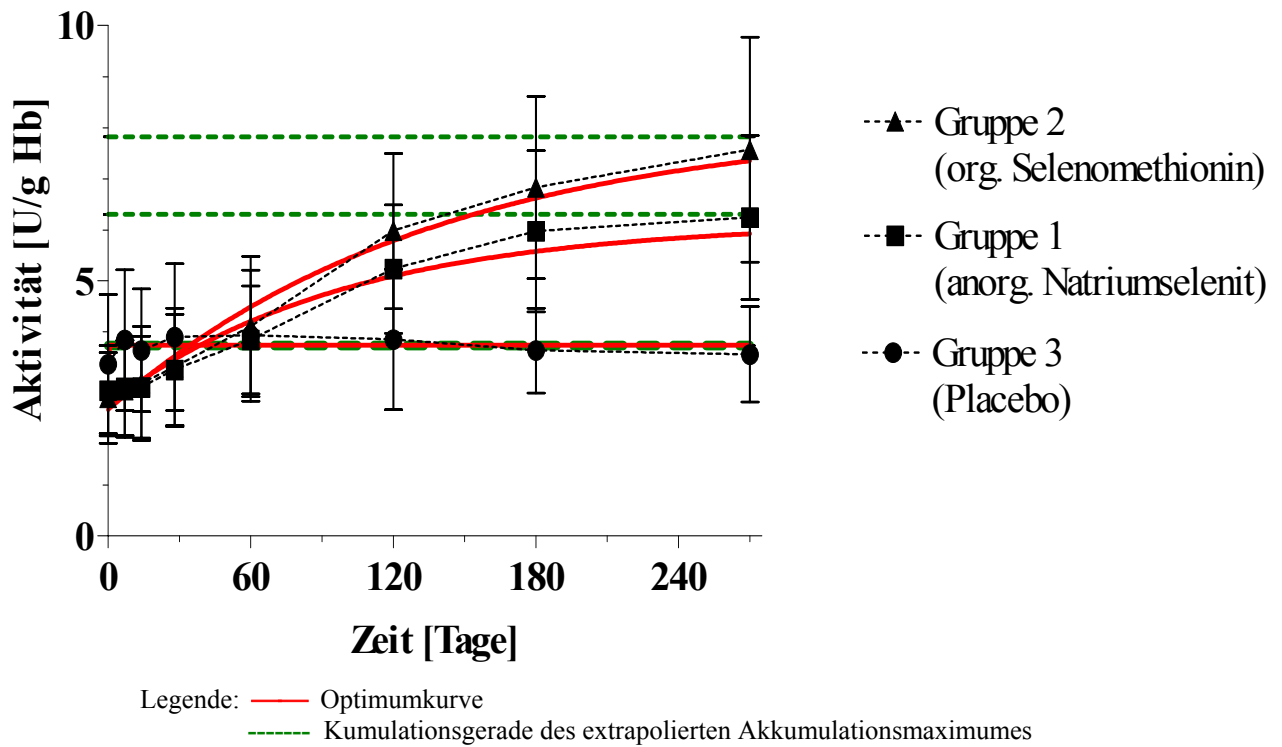


Abbildung 5 Zeitverlaufskurven der Erythrozyten-Glutathionperoxidase-Spiegel nach Substitution mit 25 µg Natriumselenit respektive Selenomethionin im Vergleich zu einer Placebo-substitution angegeben in Mittelwert und Standardabweichung

Erythrozyten-Glutathionperoxidase

Gruppe 1 zeigt einen kontinuierlichen Peroxidaseanstieg mit einer Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-2}$ von etwa 73 Supplementationstagen und nachfolgend etwas langsamerem Peroxidaseanstieg bis zum Erreichen des Endmittelwertes von $6,2 \pm 1,6$ U/g Hb. Das extrapolierte Akkumulationsmaximum, welches bei homogenem Konzentrationsausgleich nach mehr als fünf Halbwertszeiten erreicht würde, liegt bei etwa $6,3$ U/g Hb. Ein Plateauniveau wird von Gruppe 1 im Beobachtungszeitraum nicht erreicht. In Gruppe 2 findet sich ein schneller Peroxidaseanstieg mit einer Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-2}$ von etwa 88 Supplementationstagen mit nachfolgend kontinuierlich mäßigem Peroxidaseanstieg bis zu einem Mittelwert von $7,6 \pm 2,2$ U/l am Ende des Beobachtungszeitraumes. Das extrapolierte Akkumulationsmaximum, welches bei homogenem Konzentrationsausgleich nach mehr als fünf Halbwertszeiten erreicht würde, liegt bei etwa $7,8$ U/l. Ein Plateauniveau wird von Gruppe 2 im Beobachtungszeitraum nicht erreicht. In Gruppe 3 liegen über dem gesamten Supplementationszeitraum nur minimale Peroxidaseaktivitätssteigerungen mit geringer Schwankungsbreite zwischen $3,4 \pm 0,5$ U/l und $3,9 \pm 0,5$ U/l vor. Rechnerisch ergibt sich eine Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-2}$ von etwa 37 Supplementationstagen. Das extrapolierte Akkumulationsmaximum, welches bei homogenem Konzentrationsausgleich nach mehr als fünf Halbwertszeiten erreicht würde, liegt bei etwa $3,7$ U/l. Mit insgesamt 270 Supplementationstagen betrachten wir für die Verumgruppen einen Zeitraum von ca. 3,5 Halbwertszeiten für Gruppe 1 und von ca. 3 Halbwertszeiten für Gruppe 2, weshalb die Endmittelwerte in beiden Gruppen nicht die extrapolierten Akkumulationsmaxima als entsprechende Gleichgewichtskumulationswerte nach fünf Halbwertszeiten erreichen.

Haar-Selen

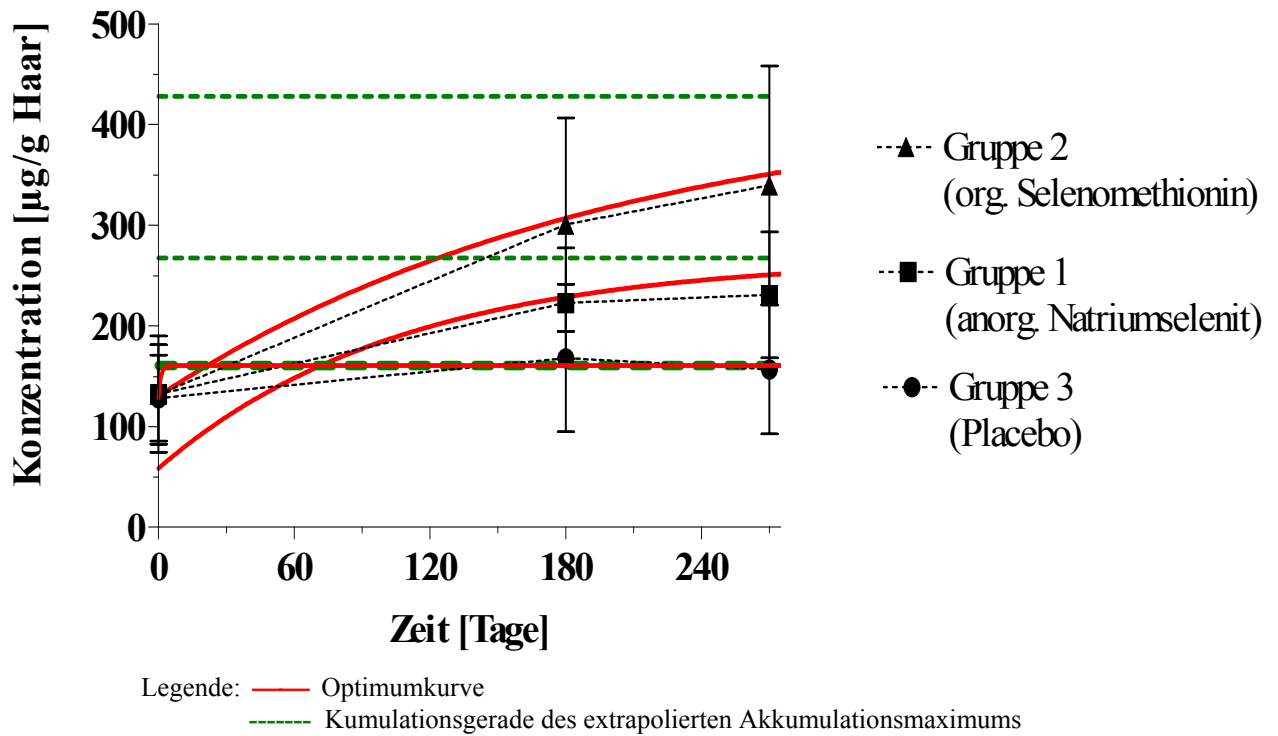


Abbildung 6 Zeitverlaufskurven der Haar-Selen-Spiegel nach Substitution mit 25 µg Natriumselenit respektive Selenomethionin im Vergleich zu einer Placebosubstitution angegeben in Mittelwert und Standardabweichung

Haar-Selen

Gruppe 1 zeigt einen schnellen und kontinuierlichen Konzentrationsanstieg mit einer Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-2}$ von etwa 74 Supplementationstagen und nachfolgend langsamerem Konzentrationsanstieg bis zum Erreichen des Endmittelwertes von $231 \pm 63 \mu\text{g/g}$ Haar. Das extrapolierte Akkumulationsmaximum, welches bei homogenem Konzentrationsausgleich nach mehr als fünf Halbwertszeiten erreicht würde, liegt bei etwa $268 \mu\text{g/g}$ Haar. Ein Plateauniveau wird von Gruppe 1 im Beobachtungszeitraum nicht erreicht. Bei höherem Ausgangswert als in Gruppe 1 findet sich in Gruppe 2 ein ebenfalls schneller und kontinuierlicher Konzentrationsanstieg mit einer Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-2}$ von etwa 139 Supplementationstagen. Danach folgt eine langsamere Anstiegsphase bis zu einem Endmittelwert von ca. $339 \pm 120 \mu\text{g/g}$ Haar. Das extrapolierte Akkumulationsmaximum, welches bei homogenem Konzentrationsausgleich nach mehr als fünf Halbwertszeiten erreicht würde, liegt bei etwa $428 \mu\text{g/g}$ Haar. Ein Plateauniveau wird von Gruppe 2 im Beobachtungszeitraum nicht erreicht. In Gruppe 3 zeigen sich über den gesamten Supplementationszeitraum hinweg ähnliche Mittelwerte zwischen $129 \pm 43 \mu\text{g/g}$ Haar und $168 \pm 74 \mu\text{g/g}$ Haar. Rechnerisch ergibt sich eine Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-2}$ von etwa 0,77 Supplementationstagen. Das extrapolierte Akkumulationsmaximum, welches bei homogenem Konzentrationsausgleich nach mehr als fünf Halbwertszeiten erreicht würde, liegt bei etwa $161 \mu\text{g/g}$ Haar. Mit insgesamt 270 Supplementationstagen betrachten wir für die Verumgruppen einen Zeitraum von ca. 3,5 Halbwertszeiten für Gruppe 1 und von ca. 2 Halbwertszeiten für Gruppe 2, weshalb die Endmittelwerte in beiden Gruppen nicht die extrapolierten Akkumulationsmaxima als entsprechende Gleichgewichtskumulationswerte nach fünf Halbwertszeiten erreichen.

Urin-Selen

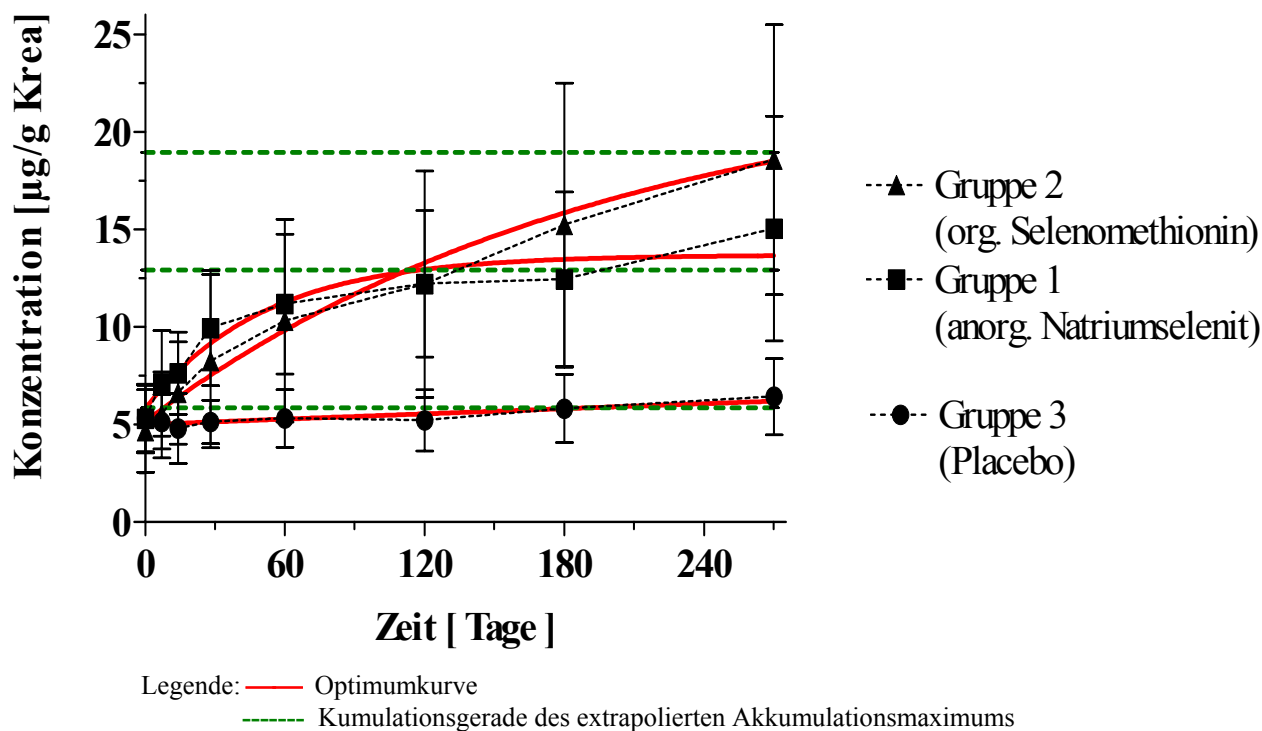


Abbildung 7 Zeitverlaufskurven der Urin-Selen-Spiegel nach Substitution mit 25 µg Natriumselenit respektive Selenomethionin im Vergleich zu einer Placebosubstitution angegeben in Mittelwert und Standardabweichung

Urin-Selen

Gruppe 1 zeigt einen schnellen Konzentrationsanstieg mit einer Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-2}$ von etwa 50 Supplementationstagen und nachfolgend langsamerem, ein Plateauniveau ausbildenden Konzentrationsanstieg ab etwa dem 120. Supplementationstag mit einem Mittelwert von ca. $12,2 \pm 3,8 \mu\text{g/g}$ Krea. Das extrapolierte Akkumulationsmaximum, welches bei homogenem Konzentrationsausgleich nach mehr als fünf Halbwertszeiten erreicht würde, liegt bei etwa $13 \mu\text{g/g}$ Krea. In Gruppe 2 zeigt sich ein deutlicher Konzentrationsanstieg mit einer Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-2}$ von etwa 75 Supplementationstagen mit nachfolgend kontinuierlichem Konzentrationsanstieg bis zum Erreichen des Endmittelwertes von $18,6 \pm 6,9 \mu\text{g/g}$ Krea am Ende des Beobachtungszeitraumes. Das extrapolierte Akkumulationsmaximum, welches bei homogenem Konzentrationsausgleich nach mehr als fünf Halbwertszeiten erreicht würde, liegt bei etwa $19 \mu\text{g/g}$ Krea. Ein Plateauniveau wird von Gruppe 2 im Beobachtungszeitraum nicht erreicht. In Gruppe 3 zeigen sich über den gesamten Supplementationszeitraum hinweg ähnliche Mittelwerte zwischen $4,8 \pm 1,8 \mu\text{g/g}$ Krea und $6,4 \pm 2,0 \mu\text{g/g}$ Krea. Rechnerisch ergibt sich eine Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-2}$ von 108 Supplementationstagen. Das extrapolierte Akkumulationsmaximum, welches bei homogenem Konzentrationsausgleich nach mehr als fünf Halbwertszeiten erreicht würde, liegt bei etwa $5,9 \mu\text{g/g}$ Krea. Mit insgesamt 270 Supplementationstagen betrachten wir für die Verumgruppen einen Zeitraum von ca. 5,5 Halbwertszeiten für Gruppe 1 und von ca. 3,5 Halbwertszeiten für Gruppe 2, wobei die Endmittelwerte in beiden Gruppen die extrapolierten Akkumulationsmaxima als entsprechende Gleichgewichtskumulationswerte nach fünf Halbwertszeiten erreichen.

Zur Beschreibung der graphischen Kurvenverläufe der nicht-kinetischen Parameter werden die im Zeitverlauf gemessenen Mittelwerte und Standardabweichungen, wie im Anhang unter 6.1 tabellarisch dargestellt, herangezogen.

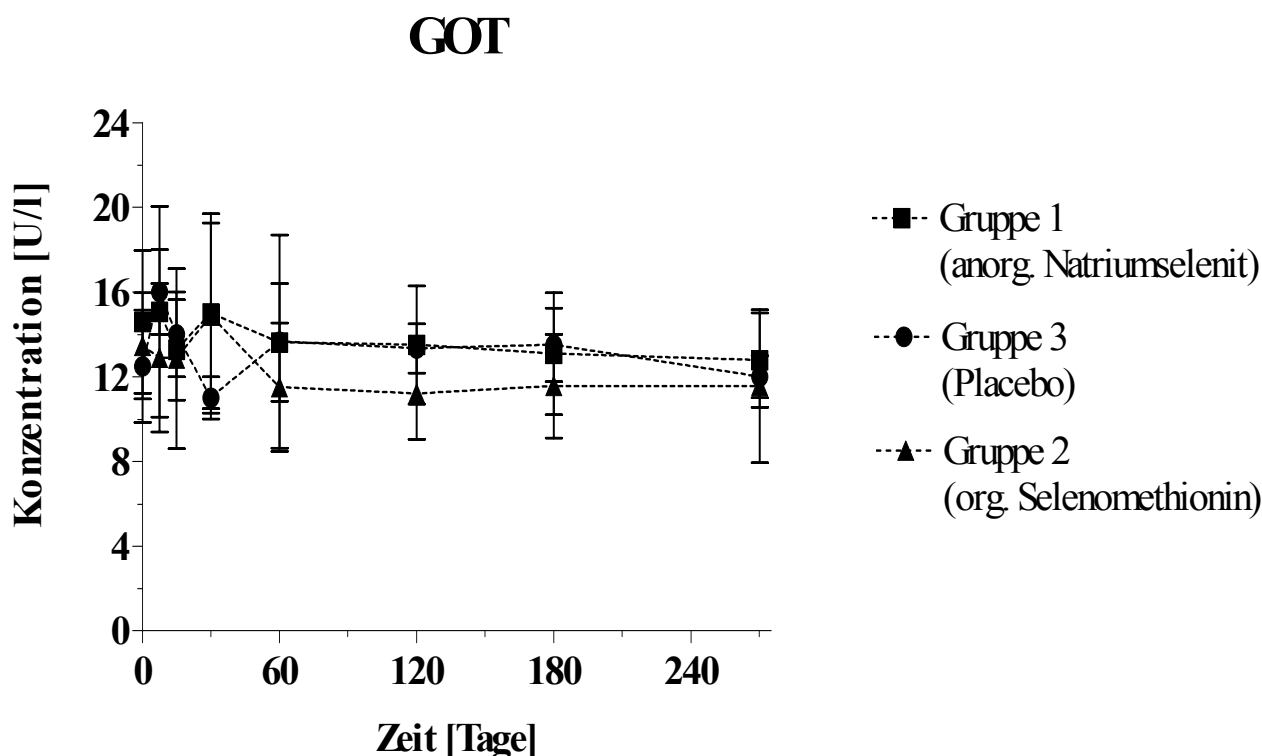


Abbildung 8 Zeitverlaufskurven der GOT-Spiegel nach Substitution mit 25 µg Natriumselenit respektive Selenomethionin im Vergleich zu einer Placebosubstitution angegeben in Mittelwert und Standardabweichung

Gruppe 1, 2 und 3 zeigen über den gesamten Supplementationszeitraum ähnliche Ausgangs- (13 ± 3 bis 15 ± 3 U/l) respektive Endmittelwertkonzentrationen (12 ± 4 bis 13 ± 2 U/l) im Referenzbereich. In beiden Verumgruppen fällt der Konzentrationsspiegel ab dem 28. Tag der Supplementa-tion leicht ab, wobei dieser Konzentrationsabfall in der Selenomethioningruppe (= Gruppe 2) deutlicher ausfällt. Anschließend zeigen beide Gruppen nur noch geringfügige Mittelwertschwankungen bis zum Ende des Beobachtungszeitraums. Alle Meßwerte der Verumgruppen liegen im Referenzbereich.

GPT

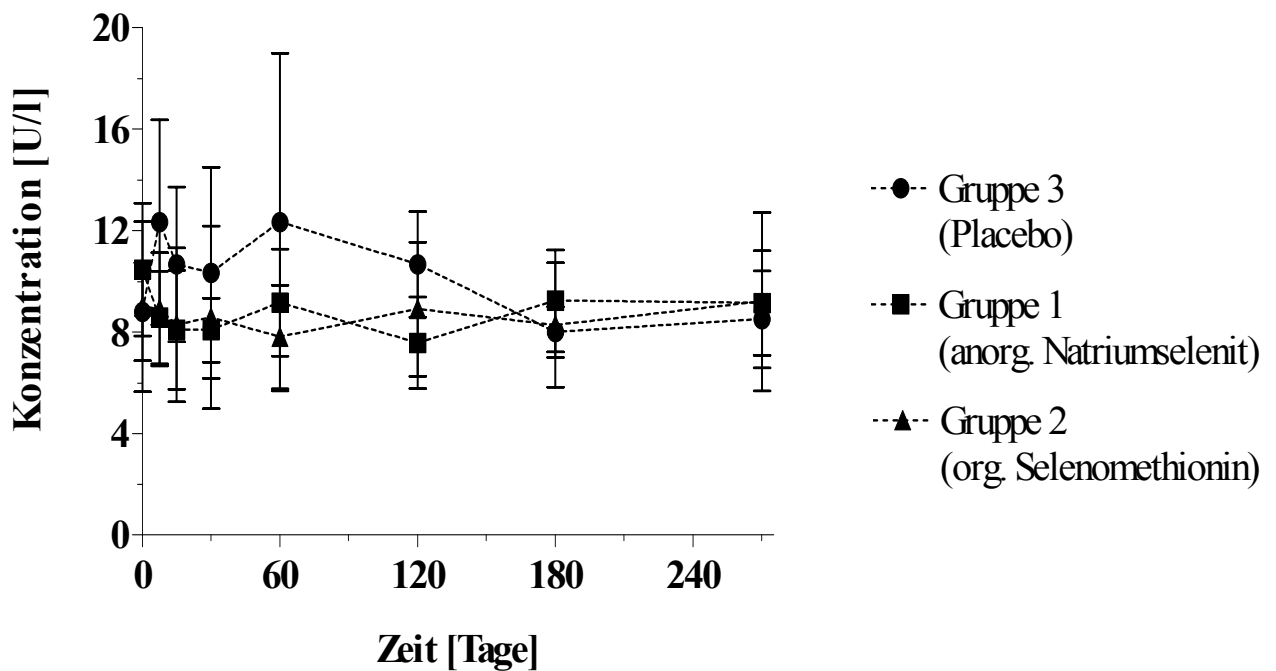


Abbildung 9 Zeitverlaufskurven der GPT-Spiegel nach Substitution mit 25 µg Natriumselenit respektive Selenomethionin im Vergleich zu einer Placebosubstitution angegeben in Mittelwert und Standardabweichung

Gruppe 1, 2 und 3 zeigen über den gesamten Supplementationszeitraum ähnliche Ausgangs- (9 ± 3 bis 10 ± 3 U/l) respektive Endmittelwertkonzentrationen (9 ± 2 bis 9 ± 4 U/l) im Referenzbereich. In Gruppe 3 sind dabei deutlichere Meßwertschwankungen zu verzeichnen als in den beiden Verumgruppen.

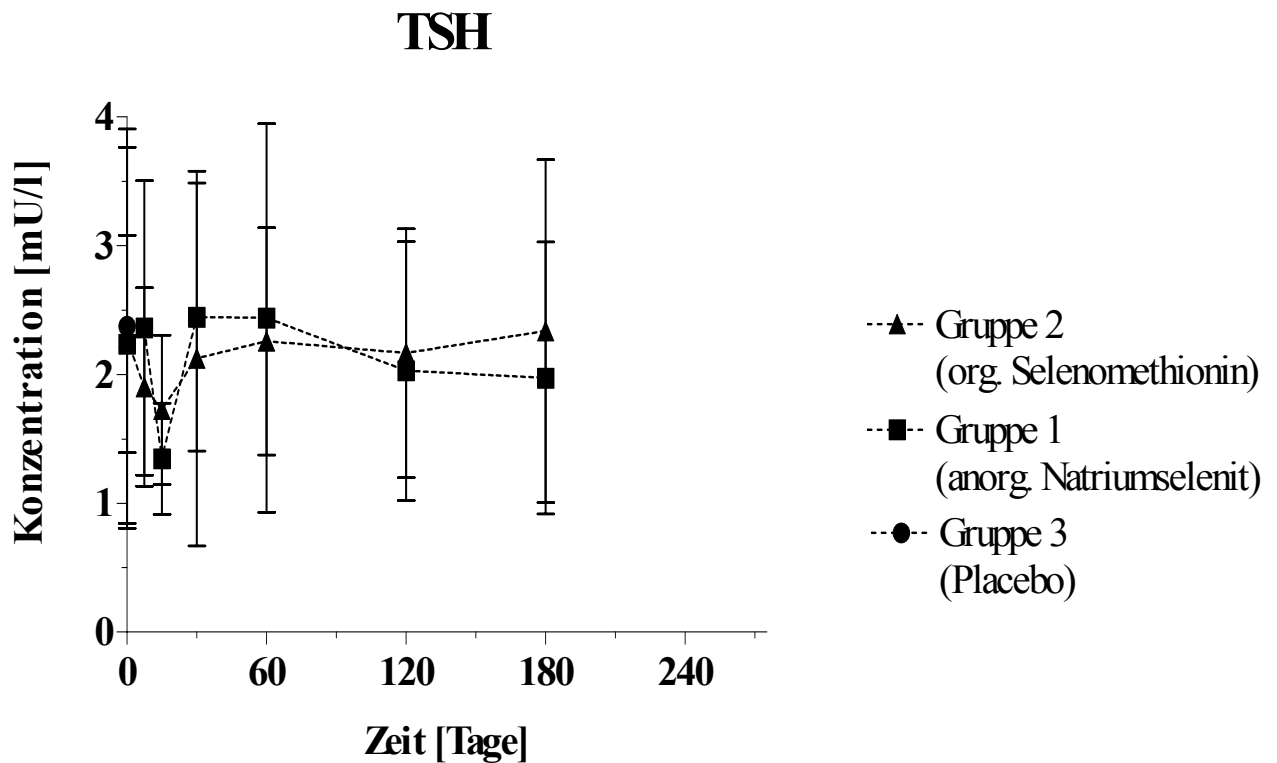


Abbildung 10 Zeitverlaufskurven der TSH-Spiegel nach Substitution mit 25 µg Natriumselenit respektive Selenomethionin im Vergleich zu einer Placebosubstitution angegeben in Mittelwert und Standardabweichung

In Gruppe 1 und 2 zeigen sich über den gesamten Supplementationszeitraum, mit Ausnahme des 14. Supplementationstages, ähnliche Mittelwerte zwischen $1,97 \pm 1,06$ mU/l und $2,45 \pm 1,04$ mU/l respektive zwischen $2,12 \pm 1,46$ mU/l und $2,34 \pm 1,33$ mU/l im Referenzbereich. Die niedrigen Meßwerte am 14. Tag der Supplementation sind in beiden Verumgruppen auf eine deutlich geringere Probandenzahl als an den anderen Meßtagen zurückzuführen (vgl. Meßergebnis-Tabellen, 6.1).

T3

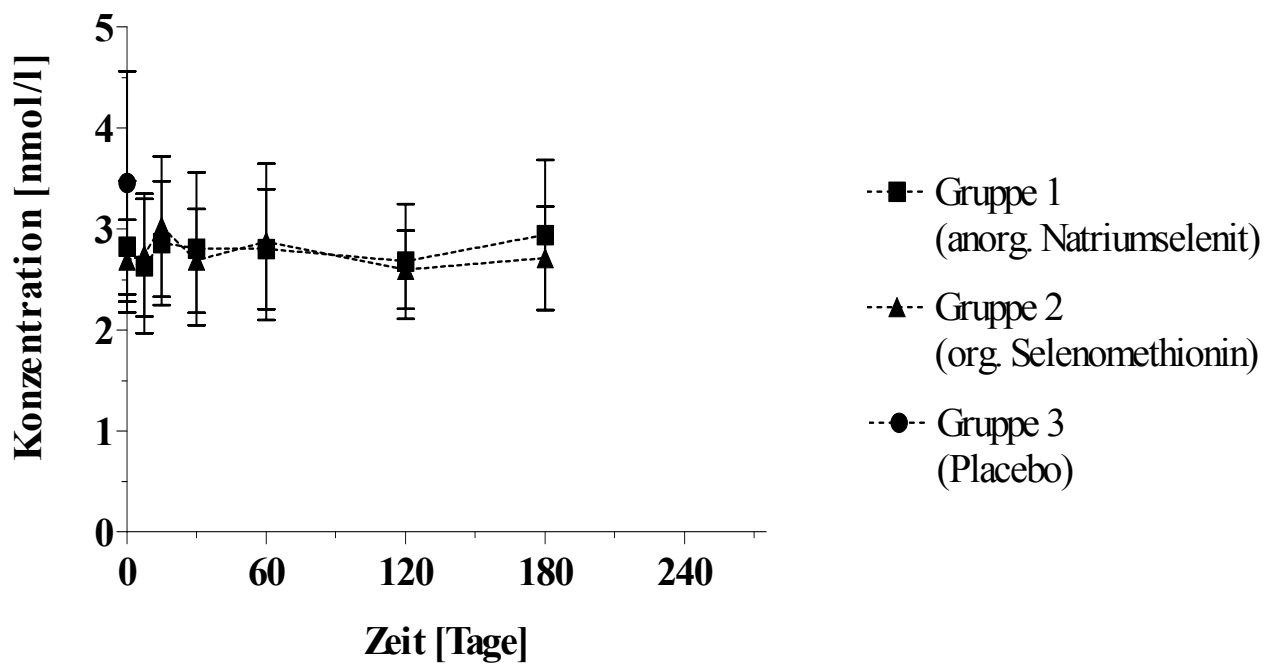


Abbildung 11 Zeitverlaufskurven der T3-Spiegel nach Substitution mit 25 µg Natriumselenit respektive Selenomethionin im Vergleich zu einer Placebosubstitution angegeben in Mittelwert und Standardabweichung

In Gruppe 1 und 2 zeigen sich unter Supplementation bis etwa zum 180. Tag ähnliche Mittelwerte zwischen $2,63 \pm 0,66$ nmol/l und $2,94 \pm 0,74$ nmol/l respektive zwischen $2,60 \pm 0,39$ nmol/l und $3,03 \pm 0,69$ nmol/l. Alle Meßwerte der Verumgruppen liegen im Referenzbereich.

T4

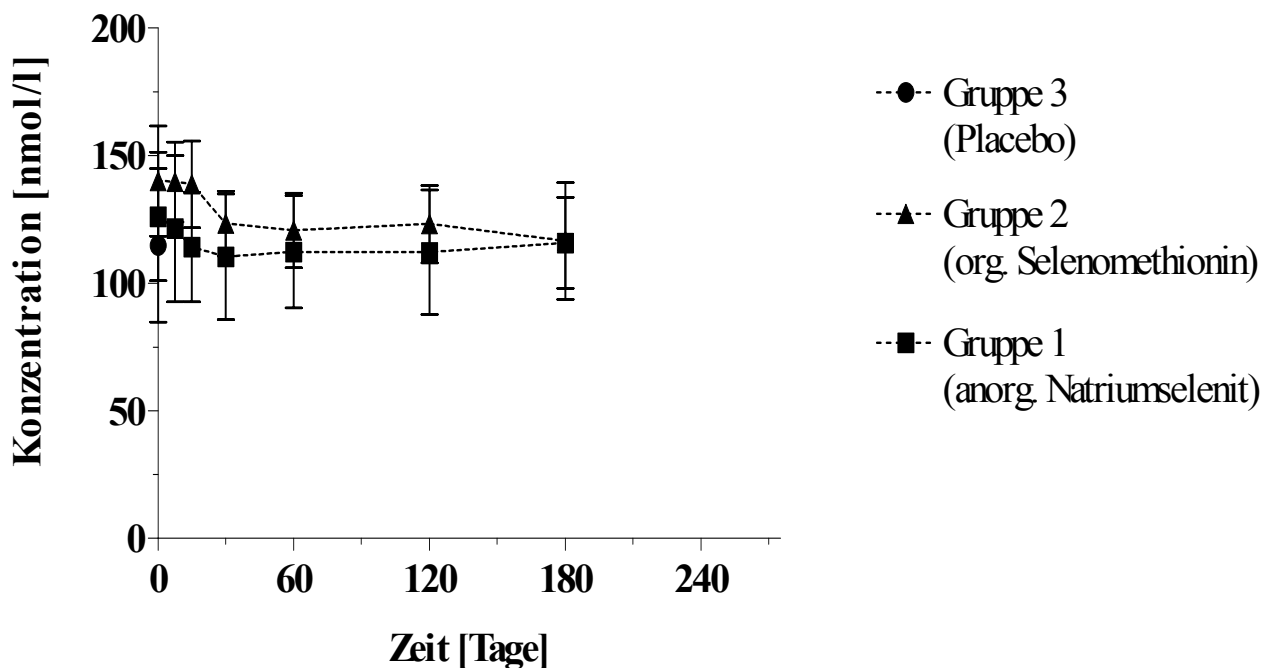


Abbildung 12 Zeitverlaufskurven der T4-Spiegel nach Substitution mit 25 µg Natriumselenit respektive Selenomethionin im Vergleich zu einer Placebosubstitution angegeben in Mittelwert und Standardabweichung

Die T4-Konzentrationsspiegel fallen in beiden Verumgruppen bis ca. zum 28. Tag der Supplementation ab, wobei sich dieser Konzentrationsabfall in der Selenomethioningruppe (= Gruppe 2) deutlicher zeigt. Anschließend finden sich in beide Gruppen nur noch geringfügige Mittelwertschwankungen bis zum Ende des Beobachtungszeitraums. In Gruppe 1 liegen die Mittelwerte zwischen 110 ± 25 nmol/l und 126 ± 25 nmol/l. In Gruppe 2 liegen die Mittelwerte zwischen 117 ± 23 nmol/l und $140,00 \pm 22$ nmol/l. Alle Meßwerte der Verumgruppen liegen im Referenzbereich.

Protein

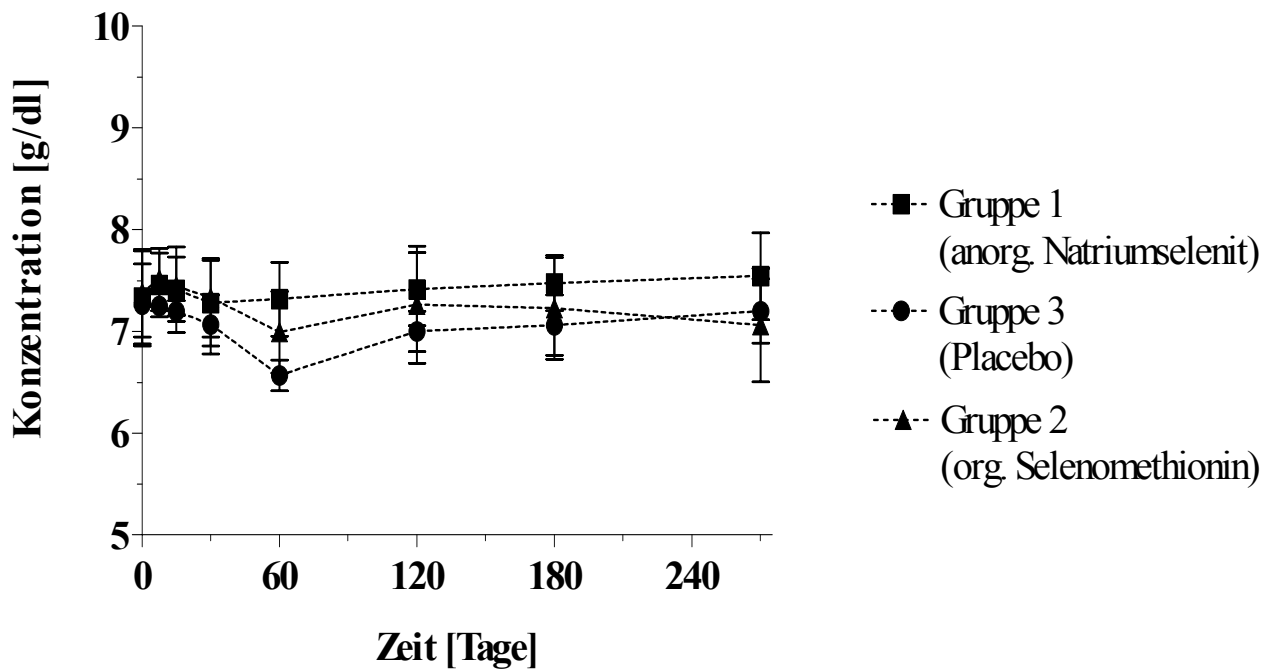


Abbildung 13 Zeitverlaufskurven der Protein-Spiegel nach Substitution mit 25 µg Natriumselenit respektive Selenomethionin im Vergleich zu einer Placebosubstitution angegeben in Mittelwert und Standardabweichung

In allen drei Gruppen liegen über den gesamten Supplementationszeitraum ähnliche Ausgangs- ($7,26 \pm 0,40$ bis $7,38 \pm 0,43$ g/dl) respektive Endmittelwertkonzentrationen ($7,06 \pm 0,56$ bis $7,54 \pm 0,43$ g/dl) im Referenzbereich vor.

CK

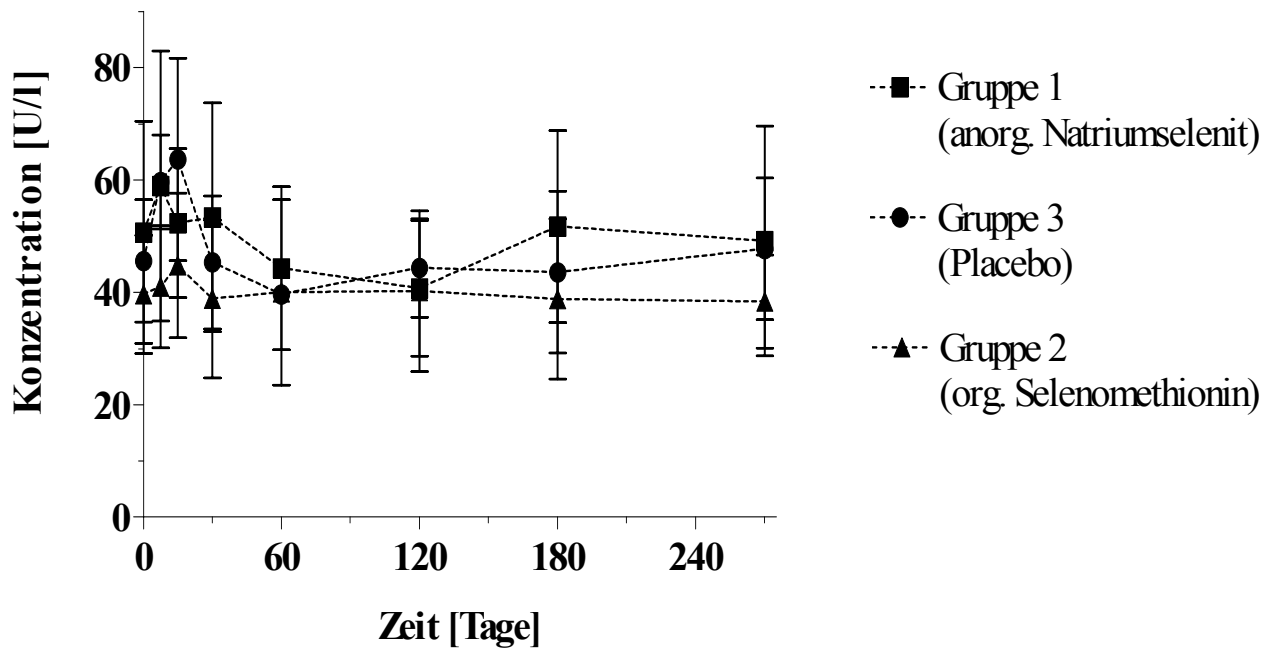


Abbildung 14 Zeitverlaufskurven der CK-Spiegel nach Substitution mit 25 µg Natriumselenit respektive Selenomethionin im Vergleich zu einer Placebosubstitution angegeben in Mittelwert und Standardabweichung

In allen drei Gruppen liegen über dem gesamten Supplementationszeitraum ähnliche Ausgangs- (40 ± 10 bis 51 ± 20 U/l) respektive Endmittelwertkonzentrationen (38 ± 8 bis 49 ± 20 U/l) vor. Die zu verzeichnenden Meßwertschwankungen liegen für alle drei Gruppen im Rahmen des Referenzbereiches.

MCV

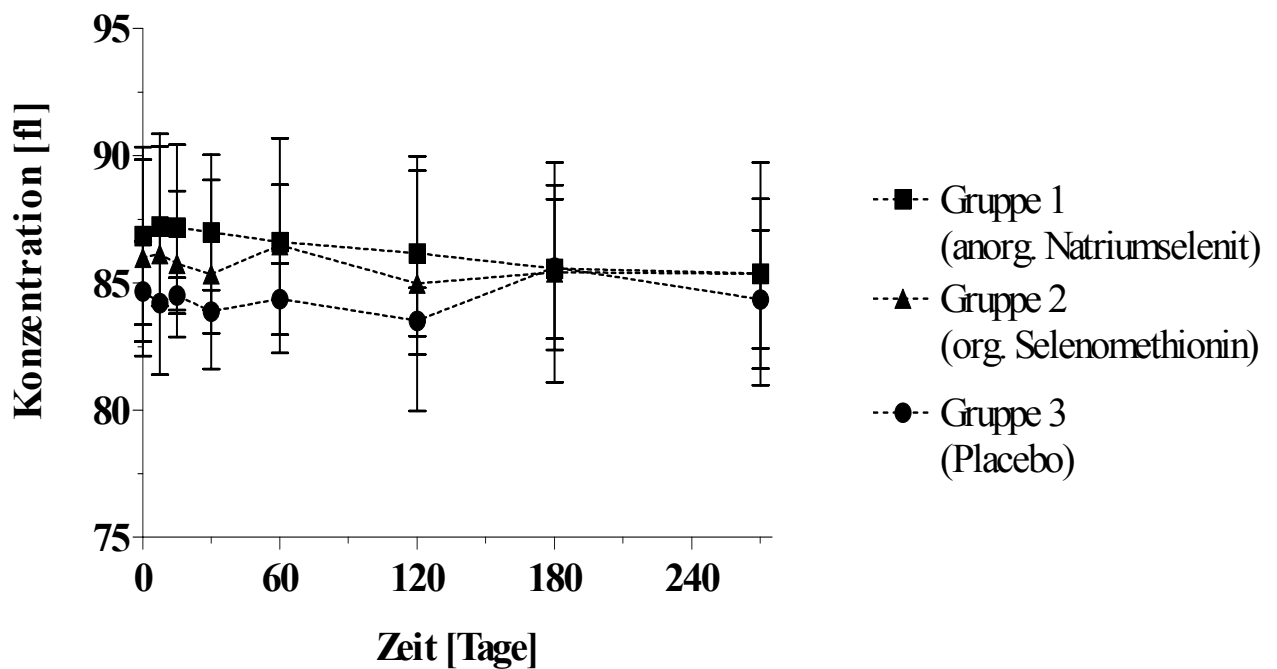


Abbildung 15 Zeitverlaufskurven der MCV-Spiegel nach Substitution mit 25 μg Natriumselenit respektive Selenomethionin im Vergleich zu einer Placebosubstitution angegeben in Mittelwert und Standardabweichung

In allen drei Gruppen liegen über dem gesamten Supplementationszeitraum ähnliche Ausgangs- (85 ± 2 bis 87 ± 3 fl) respektive Endmittelwertkonzentrationen (84 ± 3 bis 85 ± 4 fl) im Referenzbereich vor.

3.2 Korrelationsanalyse

Tabelle 2 Gruppe 1: Rang-Korrelationen (Spearman's Korrelationskoeffizient) und Korrelations-Signifikanzen der verschiedenen Parameter auf Basis der Anzahl zeitlicher Mittelwerte

		VbSe	PISe	ErySe	PI-GSH-Px	Ery-GSH-Px	HSe	USe
VbSe	r-Wert		1,0	0,97008	1,0	0,99403	1,0	1,0
	p-Wert		0,0001 [8]	0,0001 [8]	0,0001 [8]	0,0001 [8]	0,0001 [3]	0,0001 [8]
PISe	r-Wert	1,0		0,97008	1,0	0,99403	1,0	1,0
	p-Wert	0,0001 [8]		0,0001 [8]	0,0001 [8]	0,0001 [8]	0,0001 [3]	0,0001 [8]
ErySe	r-Wert	0,97008	0,97008		0,97008	0,95783	0,5	0,97008
	p-Wert	0,0001 [8]	0,0001 [8]		0,0001 [8]	0,0002 [8]	0,6667 [3]	0,0001 [8]
PI-GSH-Px	r-Wert	1,0	1,0	0,97008		0,99403	1,0	1,0
	p-Wert	0,0001 [8]	0,0001 [8]	0,0001 [8]		0,0001 [8]	0,0001 [3]	0,0001 [8]
Ery-GSH-Px	r-Wert	0,99403	0,99403	0,95783	0,99403		1,0	0,99403
	p-Wert	0,0001 [8]	0,0001 [8]	0,0002 [8]	0,0001 [8]		0,0001 [3]	0,0001 [8]
HSe	r-Wert	1,0	1,0	0,5	1,0	1,0		1,0
	p-Wert	0,0001 [3]	0,0001 [3]	0,6667 [3]	0,0001 [3]	0,0001 [3]		0,0001 [3]
USe	r-Wert	1,0	1,0	0,97008	1,0	0,99403	1,0	
	p-Wert	0,0001 [8]	0,0001 [8]	0,0001 [8]	0,0001 [8]	0,0001 [8]	0,0001 [3]	

In Gruppe 1 zeigen die Korrelationen der einzelnen Parameter untereinander bis auf eine Ausnahme durchweg signifikante Zusammenhänge (fettgedruckte Werte). Einzig die Korrelation zwischen ErySe und HSe zeigt keinen signifikanten Zusammenhang (feingedruckte Werte).

Tabelle 3 Gruppe 2: Rang-Korrelationen (Spearman's Korrelationskoeffizient) und Korrelations-Signifikanzen der verschiedenen Parameter auf Basis der Anzahl zeitlicher Mittelwerte

		VbSe	PISe	ErySe	PI-GSH-Px	Ery-GSH-Px	HSe	USe
VbSe	r-Wert		1,0	0,90476	1,0	1,0	1,0	1,0
	p-Wert		0,0001 [8]	0,002 [8]	0,0001 [8]	0,0001 [8]	0,0001 [3]	0,0001 [8]
PISe	r-Wert	1,0		0,90476	1,0	1,0	1,0	1,0
	p-Wert	0,0001 [8]		0,002 [8]	0,0001 [8]	0,0001 [8]	0,0001 [3]	0,0001 [8]
ErySe	r-Wert	0,90476	0,90476		0,90476	0,90476	1,0	0,90476
	p-Wert	0,002 [8]	0,002 [8]		0,002 [8]	0,002 [8]	0,0001 [3]	0,002 [8]
PI-GSH-Px	r-Wert	1,0	1,0	0,90476		1,0	1,0	1,0
	p-Wert	0,0001 [8]	0,0001 [8]	0,002 [8]		0,0001 [8]	0,0001 [3]	0,0001 [8]
Ery-GSH-Px	r-Wert	1,0	1,0	0,90476	1,0		1,0	1,0
	p-Wert	0,0001 [8]	0,0001 [8]	0,002 [8]	0,0001 [8]		0,0001 [3]	0,0001 [8]
HSe	r-Wert	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0		1,0
	p-Wert	0,0001 [3]	0,0001 [3]	0,0001 [3]	0,0001 [3]	0,0001 [3]		0,0001 [3]
USe	r-Wert	1,0	1,0	0,90476	1,0	1,0	1,0	
	p-Wert	0,0001 [8]	0,0001 [8]	0,002 [8]	0,0001 [8]	0,0001 [8]	0,0001 [3]	

In Gruppe 2 zeigen die Korrelationen der einzelnen Parameter durchweg signifikante Zusammenhänge (fettgedruckte Werte). Korrelationen ohne signifikanten Zusammenhang bestehen nicht.

Tabelle 4 Gruppe 3: Rang-Korrelationen (Spearman's Korrelationskoeffizient) und Korrelations-Signifikanzen der verschiedenen Parameter auf Basis der Anzahl zeitlicher Mittelwerte

		VbSe	PISe	ErySe	PI-GSH-Px	Ery-GSH-Px	HSe	USe
VbSe	r-Wert		0,69774	0,59881	0,41566	0,60278	1,0	0,22425
	p-Wert		0,0543 [8]	0,1168 [8]	0,3057 [8]	0,1137 [8]	0,0001 [3]	0,5934 [8]
PISe	r-Wert	0,69774		-0,01228	0,67304	0,21656	0,86603	0,47213
	p-Wert	0,0543 [8]		0,9770 [8]	0,0674 [8]	0,6065 [8]	0,3333 [3]	0,2375 [8]
ErySe	r-Wert	0,59881	-0,01228		-0,22755	0,64242	0,5	-0,55426
	p-Wert	0,1168 [8]	0,9770 [8]		0,5878 [8]	0,0858 [8]	0,6667 [3]	0,1540 [8]
PI-GSH-Px	r-Wert	0,41566	0,67304	-0,22755		-0,36664	1,0	0,63638
	p-Wert	0,3057 [8]	0,0674 [8]	0,5878 [8]		0,3717 [8]	0,0001 [3]	0,0898 [8]
Ery-GSH-Px	r-Wert	0,60278	0,21656	0,64242	-0,36664		0,86603	-0,31885
	p-Wert	0,1137 [8]	0,6065 [8]	0,0858 [8]	0,3717 [8]		0,3333 [3]	0,4414 [8]
HSe	r-Wert	1,0	0,86603	0,5	1,0	0,86603		0,5
	p-Wert	0,0001 [3]	0,3333 [3]	0,6667 [3]	0,0001 [3]	0,3333 [3]		0,6667 [3]
USe	r-Wert	0,22425	0,47213	-0,55426	0,63638	-0,31885	0,5	
	p-Wert	0,5934 [8]	0,2375 [8]	0,1540 [8]	0,0898 [8]	0,4414 [8]	0,6667 [3]	

In Gruppe 3 zeigen die Korrelationen der einzelnen Parameter untereinander bis auf zwei Ausnahmen keine signifikanten Zusammenhänge (feingedruckte Werte). Lediglich die Korrelationen zwischen VbSe und HSe sowie PI-GSH-Px und HSe zeigen signifikante Zusammenhänge (fettgedruckte Werte).

3.3 Kinetikanalyse

Tabelle 5 Kinetikwerte der verschiedenen Parameter nach Gruppen getrennt - 1. Teil

	VbSe	VbSe	VbSe	PISe	PISe	PISe	ErySe	ErySe	ErySe
	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3
Y₁ [E]	3,54	--	0,93	7,68	18,67	1,33	--	--	--
Y₂ [E]	32,99	101,25	7,17	22,54	59,14	6,57	34,41	157,17	12,19
Y₃ [E]	25,21	26,25	26,85	18,63	17,45	18,63	6,01	30,91	42,54
K₁ [1/d]	5	--	5	0,15	0,08	5	--	--	--
K₂ [1/d]	0,01	0,01	0,03	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	5
T_{1/2-1} [d]	0,14	--	0,14	4,65	8,24	0,14	--	--	--
T_{1/2-2} [d]	77,97	82,42	25,15	47,61	85,21	69,54	91,69	107,46	0,14
Kumulation [E]	61,74	127,50	34,96	48,85	95,26	26,53	40,42	188,08	54,73
Kompartimente [n]	2	1	2	2	2	2	1	1	1

Tabelle 6 Kinetikwerte der verschiedenen Parameter nach Gruppen getrennt - 2. Teil

	PI-GSH-Px	PI-GSH-Px	PI-GSH-Px	Ery-GSH-Px	Ery-GSH-Px	Ery-GSH-Px
	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3
Y₁ [E]	14,66	--	--	--	--	--
Y₂ [E]	43,55	76,45	5,88	3,74	5,35	0,36
Y₃ [E]	28,05	24,87	29,72	2,57	2,47	3,37
K₁ [1/d]	0,08	--	--	--	--	--
K₂ [1/d]	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,02
T_{1/2-1} [d]	8,35	--	--	--	--	--
T_{1/2-2} [d]	33,83	39,23	85,57	72,81	88,41	37,15
Kumulation [E]	86,26	101,32	35,60	6,31	7,82	3,73
Kompartimente [n]	2	1	1	1	1	1

Tabelle 7 Kinetikwerte der verschiedenen Parameter nach Gruppen getrennt - 3. Teil

	HSe	HSe	HSe	USe	USe	USe
	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3
Y₁ [E]	--	--	--	5,86	--	--
Y₂ [E]	209,20	298,00	32,37	1,89	13,38	0,83
Y₃ [E]	58,32	130,00	128,30	5,17	5,57	5,04
K₁ [1/d]	--	--	--	0,05	--	--
K₂ [1/d]	0,01	0,01	0,90	0,01	0,01	0,01
T_{1/2-1} [d]	--	--	--	14,12	--	--
T_{1/2-2} [d]	74,21	138,63	0,77	50,23	74,53	107,63
Kumulation [E]	267,52	428,00	160,67	12,91	18,95	5,86
Kompartimente [n]	1	1	1	2	1	1

Für alle Parameter gilt, dass Gruppe 2 höhere Kumulationshalbwertszeiten T_{1/2-2} aufweist als Gruppe 1. Ebenso gilt für alle Parameter, dass Gruppe 2 im Vergleich zu Gruppe 1 höhere Kumulationen und somit höhere Kumulationswerte nach neunmonatiger Selensupplementation zeigt.

Die mit dem Statistikprogramm SAS anhand der vorliegenden Meßergebnisse berechneten Variablen „ Y_1 , Y_2 und Y_3 “ (Absättigungskonstanten / Offset für $t = 0$) sowie „ K_1 und K_2 “ (Geschwindigkeitskonstanten) erlauben die Erstellung einer „Optimumkurve“, welche in den graphischen Darstellungen der einzelnen Kinetikparameter durch eine fettgedruckte, rot-durchgezogene Kurve repräsentiert wird. Diese Kurve stellt den mathematisch angeglichenen, idealen Meßwertverlauf im Vergleich zum realen Meßwertverlauf (schwarze Kurve) dar. $T_{1/2-1}$ und $T_{1/2-2}$ geben die Kumulationshalbwertszeiten der zugehörigen Absättigungs- und Geschwindigkeitsphasen einer jeden Meßwertkurve in der Einheit „Tage“ an. Die statistische Variabel „Kumulation“ gibt die mögliche Höhe des Konzentrations- bzw. Aktivitätsniveaus der verschiedenen kinetischen Parameter bei angenommener zeitlich unbegrenzter Selensupplementation an. Die Kumulationsgerade wird in den graphischen Darstellungen der Kinetikparameter durch eine fettgedruckte, grün-gestrichelte Gerade repräsentiert. Aufgrund der mathematischen Berechnung der Geschwindigkeitskonstanten K_1 und / oder K_2 ergibt sich anhand der Kinetikanalyse überwiegend das Vorliegen eines 1-Kompartiment-Modells (14-mal analysiert) und nur in einem Drittel aller Kurven (7-mal analysiert) das Vorliegen eines 2-Kompartiment-Modells (siehe „Statistik“, 2.6). Dabei resultiert in 4 der 7 analysierten 2-Kompartiment-Modellen aufgrund einer vernachlässigbar kleinen Kumulationshalbwertszeit $T_{1/2-1}$ letztlich ein 1-Kompartiment-Modell.

3.4 AUC- und Bioverfügbarkeitsanalyse

Tabelle 8 AUC und relative Bioverfügbarkeit der Selenpharmazeutika - 1. Teil

	VbSe	VbSe	VbSe	PISe	PISe	PISe	ErySe	ErySe	ErySe
	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3
AUC [E*d] Mittelwert ± SD	5832 ± 1973 [8]	15135 ± 4786 [14]	1875 ± 2095 [6]	6653 ± 2221 [17]	14093 ± 5220 [16]	1551 ± 1133 [7]	4109 ± 3640 [6]	18452 ± 5381 [11]	4722 ± 5715 [2]
p-Wert AUC (Gr.1 ↔ Gr.2)	4 * 10 ⁻⁵	--	--	7 * 10 ⁻⁶	--	--	3 * 10 ⁻⁵	--	--
Rel. Bioverfüg. [%] (Gr.1 ↔ Gr.2)	38,5	100	--	47,2	100	--	22,3	100	--

Tabelle 9 AUC und relative Bioverfügbarkeit der Selenpharmazeutika - 2. Teil

	PI-GSH-Px	PI-GSH-Px	PI-GSH-Px	Ery-GSH-Px	Ery-GSH-Px	Ery-GSH-Px
	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3
AUC [E*d] Mittelwert ± SD	13608 ± 3993 [12]	15147 ± 6226 [13]	n.b.	585 ± 265 [16]	810 ± 322 [15]	36 ± 152 [8]
p-Wert AUC (Gr.1 ↔ Gr.2)	5 * 10 ⁻¹	--	--	4 * 10 ⁻²	--	--
Rel. Bioverfüg. [%] (Gr.1 ↔ Gr.2)	89,8	100	--	72,2	100	--

Tabelle 10 AUC und relative Bioverfügbarkeit der Selenpharmazeutika - 3. Teil

	HSe-1	HSe-2	HSe-3	USe-1	USe-2	USe-3
	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3	Gr. 1	Gr. 2	Gr. 3
AUC [E*d] Mittelwert ± SD	n.b.	n.b.	n.b.	1784 ± 1440 [10]	2293 ± 1323 [15]	n.b.
p-Wert AUC (Gr.1 ↔ Gr.2)	n.b.	--	--	4 * 10 ⁻¹	--	--
Rel. Bioverfüg. [%] (Gr.1 ↔ Gr.2)	n.b.	n.b.	--	77,8	100	--

Die numerische Flächengröße unter der Kurve (Area Under Curve / AUC) ist äquivalent zu den durch die Selensupplementation bedingten Konzentrations- bzw. Enzymaktivitätsänderungen. Es zeigt sich, dass die Flächengröße AUC für Gruppe 2 im Vergleich zu Gruppe 1 hinsichtlich der Parameter VbSe, PISe und ErySe signifikant größer ist. Hinsichtlich der Parameter PI-GSH-Px, Ery-GSH-Px und USe ergibt sich im Gruppenvergleich kein signifikanter Unterschied bezüglich der AUC-Werte. Eine Berechnung des AUC-Wertes für den Parameter HSe ist aufgrund der wenigen vorliegenden Meßdaten nicht möglich gewesen.

4 Diskussion

In der vorliegenden Dissertation wurden Kinder mit der Stoffwechselerkrankung Phenylketonurie (PKU) und konsekutiv diätetisch bedingtem marginalen Selenmangel (Lombeck et al., 1978; Steiner et al., 1982) langfristig prospektiv unter anorganischer und organischer Selensupplementation beobachtet. Ziel unserer Beobachtung waren die Auswirkungen der verschiedenen Selensupplementationen auf selenabhängige hämatologische Parameter (Selen- und GSH-Px-Status) und weitere klinisch-chemische Parameter (GOT, GPT, TSH, T3, T4, Prot, CK und MCV) in verschiedenen, leicht Selen-zugänglichen Körperkompartimenten, ebenso wie die pharmakokinetischen Eigenschaften (z.B. Schnelligkeit des Konzentrations- respektive Aktivitätsanstiegs, Plateaubildung) der verschiedenen Selenverbindungen und ihre relative Bioverfügbarkeit.

Da alle Probanden gleichen Alters waren und alle an der Stoffwechselerkrankung Phenylketonurie litten sowie diesbezüglich ähnliche diätetische Einstellungen und demzufolge ähnlich marginal niedrige Selenpiegel zu Supplementationsbeginn hatten, sind die nachfolgend zu diskutierenden Ergebnisse der einzelnen Probandengruppen gut miteinander vergleichbar.

Unsere neunmonatigen Beobachtungen ergaben zusammengefaßt, dass sich bei der Supplementierung von Probanden mit Natriumselenit hinsichtlich der Parameter VbSe, PlSe und ErySe ein anfänglich signifikanter Konzentrationsanstieg mit später anschließender Plateaubildung zeigte. Für dieselben Parameter ergab die Supplementierung mit Selenomethionin über den gesamten Beobachtungszeitraum einen kontinuierlichen, signifikanten Anstieg der Meßwerte ohne Plateaubildung. Beim Plasmaselen fielen bereits innerhalb der ersten 14 Tage bezüglich beider Selenverbindungen signifikante Konzentrationsänderungen auf, während dies in den Erythrozyten nur für Selenomethionin zu verzeichnen war. Für die Parameter Pl-GSH-Px und Ery-GSH-Px ergab sich für beide Supplementationspräparate ein vergleichbarer Meßwerteverlauf mit anfänglich signifikantem Aktivitätsanstieg und anschließender Ausbildung eines ähnlich hohen Plateaus. Im Vergleich der beiden Glutathionperoxidasen reagiert die plasmatische Glutathionperoxidase deutlich schneller auf die Selensupplementation als die zelluläre Glutathionperoxidase unabhängig vom supplementierten Selenpräparat. Der Selenstatus des Haares zeigte für beide Selenverbindungen mit Ende der Supplementationsphase eine signifikante Steigerung der Haarselenkonzentration. Die Urinexkretion von Selen stieg nach Gabe beider Selenverbindungen signifikant an. Die Messung des GOT- sowie des T4-Parameters ergab in den Verumgruppen einen leichten Abfall der Meßpiegel kurz nach respektive direkt nach Supplementationsbeginn. Die Placebogruppe zeigte dabei kontinuierlich unveränderte GOT- respektive T4-Spiegel. Für die Parameter GPT, TSH, T3, Prot, CK und MCV

ergab sich ein weitgehend kontinuierlicher Meßwertverlauf über den gesamten Supplementationszeitraum.

Bei den Probanden wurden die Selenkonzentrationen nur in leicht zugänglichen Kompartimenten gemessen. So wurde die im zeitlichen Verlauf der Selensupplementation auftretende Änderung der GSH-Px-Aktivität im Plasma und in den Erythrozyten als Parameter für den veränderten Selenstatus in Vollblut, Plasma und Erythrozyten, welche teils auch direkt gemessen wurden, gewertet. Die Messung der Schilddrüsenhormone erfolgte im zeitlichen Verlauf als Parameter der als Selenenzyme bekannten Dejodasen. Die Messungen der Selenkonzentrationen in Haaren und Urin im Verlauf der Supplementation verifizierten als Speicher- und Exkretionsparameter die kontinuierliche Selen-Einnahme durch die Probanden. Zur Kontrolle weiterer Funktionen von Herz, Muskulatur und Leber wurden zusätzlich noch im zeitlichen Verlauf die Parameter CK, Protein, MCV, GOT und GPT bestimmt.

Die proteinrestriktive Diät der PKU-Patienten reduziert zwangsläufig die nutritive Selenzufuhr auf etwa 60-80 % des natürlichen Bedarfs, so dass sich im Verlauf der langfristigen diätetischen Maßnahmen bei den Phenylketonurie-Patienten zunehmend ein nachhaltiger Selenmangel einstellt (Lombeck et al., 1978). Damit liegt die Selenzufuhr unserer Phenylketonurie-Patienten ähnlich niedrig wie in den chinesischen Endemiegebieten. Darling et al. zeigten, dass von 73 Patienten mit Phenylketonurie bzw. Hyperphenylalaninämie, welche diätetisch behandelt wurden, 36 % Serumselenspiegel unterhalb des Normbereiches aufwiesen. Im Vergleich hierzu fand sich dieser Befund nur bei 19 % der Personen einer supplementierten Kontrollgruppe (Darling et al., 1992). In einer vorangehenden Arbeit zu unseren Beobachtungen zeigte sich bei 87 PKU-Patienten der „Deutschen PKU-Verbundstudie“ einschließlich unserer beobachteten PKU-Kinder, dass die Plasma-Selenwerte im Vergleich zu gleichaltrigen gesunden Kindern auf 30 % der Werte der gesunden Kontrollgruppe gesunken waren. Ähnliches zeigte sich auch bei den Parametern Vollblutselen und Plasma-Glutathionperoxidase. Demgegenüber fand sich für die Erythrozyten-Glutathionperoxidase ein nur auf 60 % der Werte gleichaltriger gesunder Kinder abgesenkener Wert. Dies wurde als Hinweis für eine unterschiedliche Affinität des Selens zur plasmatischen respektive zellulären Glutathionperoxidase gewertet. Die hämatologischen Parameter wie MCV, GOT, GPT, CK, Kreatinin, Cholesterol und Triglyceride lagen in den jeweiligen Altersnormbereichen, obgleich die GOT eine signifikant negative Korrelation zum Plasmaselen und Vollblutselen zeigte. Es blieb unklar, ob die GOT aus der Muskulatur oder der Leber stammte. Bezüglich der Schilddrüsenparameter ergaben sich im Vergleich zu gleichaltrigen gesunden Kindern erhöhte T4-Spiegel, wobei die T3- und TSH-Spiegel altersnormwertig waren. (Lombeck et al., 1996). Die beschriebenen

erniedrigten Selenstaten der PKU-Kinder sowie die weiteren altersnormwertigen Parameter stellten die Ausgangsmeßwerte bei unseren Beobachtungen unter Selensupplementation dar.

Hervorzuheben ist, dass sich bei unseren Probanden bereits vor Supplementationsbeginn in der ersten körperlichen Untersuchung des Beobachtungszeitraumes keine Hinweise auf klinische Symptome eines Selenmangels, wie z.B. Kardiomyopathien, Muskelschwäche oder Depigmentierung der Haare und Nägel, ergaben (Greeves et al., 1990; Vinton et al., 1987, Lockitch, 1989; van-Rij et al., 1979 sowie 1981; Kien et Ganther, 1983; Watson et al., 1985; Brown et al., 1986). Unsere Probanden waren somit hinsichtlich der bekannten Selenmangelsymptome klinisch unauffällig. Möglicherweise ist dies auf den bei PKU-Kindern nur marginal bestehenden Selenmangel zurückzuführen, für den noch nicht geklärt ist, ob und in welcher Form sowie ab welchem Selenmangelspiegel respektive unter welchen ggf. zusätzlichen pathogenetischen Faktoren klinische Auffälligkeiten auftreten.

Mit Supplementationsbeginn wurde unseren PKU-Kindern der Verumgruppen als tägliche Supplementationsmenge 25 µg Selen einer anorganischen oder organischen Verbindung verabreicht, da diese Menge der natürlichen Selenzufuhr gleichaltriger gesunder Kinder in Mitteleuropa entspricht (Lombeck et al., 1984). In unserer Langzeitbeobachtung wollten wir prüfen, ob diese zugeführte Selenmenge ausreicht, den Selenstatus der PKU-Kinder in den Bereich gleichaltriger Kinder mit „Normalkost“ zu erhöhen. Die Korrelationsanalysen zeigen, dass insgesamt eine signifikante Korrelation zwischen erhöhter Selenzufuhr durch Supplementations mit den verschiedenen Selenpräparaten und einer Erhöhung des Selenstatus besteht. Einzig die Korrelation zwischen ErySe und HSe zeigt bei Supplementations mit Natriumselenit im Gegensatz zur Supplementations mit Selenomethionin keinen signifikanten Zusammenhang. Möglicherweise spielen hier die in der Einleitung unter 1.1.3 genannten unterschiedlichen Transportmechanismen an Zellmembranen für anorganische und organische Selenverbindungen unter anderem eine Rolle.

Die positive Korrelation zwischen Selenzufuhr und GSH-Px-Aktivität in Plasma und Erythrozyten wurde bereits früher in Supplementationsstudien u.a. auch für Phenylketonurie-Patienten beschrieben (Thomson et al., 1993; Lombeck et al., 1996). Es zeigte sich damals, dass sowohl die Gabe von anorganischem Selenat respektive Natriumselenit als auch die Gabe von Selenomethionin die Plasma- und auch die Erythrozyten-GSH-Px-Aktivität deutlich steigert. Zwischen beiden Selenverbindungen bestanden hinsichtlich ihrer aktivitätssteigernden Wirkungen keine signifikanten Unterschiede, was auch unsere Beobachtungen, wie oben erwähnt, zeigten.

Die Selenkonzentration in Vollblut, Plasma und Erythrozyten korreliert sehr eng mit der Selenaufnahme des Organismus und zwar sowohl bei niedriger, als auch bei hoher Selenzufuhr. Die

Messung des Selens im Blut ist damit der wichtigste Parameter zur Erhebung des Selenstatus (Lombeck et al., 1989; Nève, 1991). Der Selengehalt der Erythrozyten ist dabei aufgrund der relativ langen Lebenszeit dieser Zellen als ein Langzeitparameter anzusehen, während die Selenwerte im Plasma eher kurzfristige Veränderungen widerspiegeln (Robinson et Thomson, 1983).

Als zusätzlicher funktioneller Parameter zur Erfassung des Selenstatus kann neben der Messung der o.g. Parameter die Aktivitätsmessung des selenhaltigen Enzyms Glutathionperoxidase in Plasma und Erythrozyten dienen. Für die Bestimmung der Plasma- und Erythrozyten-Glutathionperoxidase konnte nachgewiesen werden, dass bei relativ niedriger Selenversorgung enge Korrelationen zu den Selenkonzentrationen des Blutes bestehen (Levander, 1986; Nève, 1991). Dieser Zusammenhang besteht nicht bei höheren Blutselenkonzentrationen. Zur Selenstatusbestimmung im Blut ist dieser Parameter daher nur eine Ergänzung.

Ebenso besteht eine positive Korrelation zwischen Selenzufuhr und Selenkonzentration der Haare. Die weit höheren Werte für HSe bezüglich der Supplementation mit Selenomethionin im Vergleich zur Supplementation mit Natriumselenit zeigen in unseren Beobachtungen, dass das organische Präparat umfangreich in die Körperkompartimente eingebaut wird. Für Natriumselenit ist dies in geringerem Maß der Fall. Die Bestimmung des Selenstatus der Haare gilt als ein Langzeit-Parameter, welcher Auskunft über die Selenversorgung einiger zurückliegender Monate gibt. Vor der Analyse muß jedoch eine Anwendung von selenhaltigen Shampoos und anderen Haarpflegemitteln durch die Probanden ausgeschlossen werden, da sonst die Analyseergebnisse extrem verfälscht werden können. Als Indikator für den Selenstatus ist die Haaranalyse daher nicht geeignet. Unsere Probanden wurden über diesen Sachverhalt aufgeklärt, so dass hier eine diesbezügliche Fehlerquelle für unsere Messungen weitgehend ausgeschlossen werden kann. Ein Zusammenhang zwischen der Selenzufuhr und der Konzentration des Selens im Haar wurde bereits 1987 von Vinton et al. beschrieben.

Zur Ausscheidung des Selens ist bekannt, dass vom Organismus absorbiertes Selen hauptsächlich über die Nieren als Trimethylseleniumion ausgeschieden wird. Unsere Beobachtungen zeigten, dass die Urinexkretion von Selen im Spontanurin nach Supplementation beider Selenverbindungen im Zeitverlauf signifikant anstieg. Dabei zeigte sich für die Natriumselenit-Supplementation ab etwa dem 120. Supplementationstag ein Exkretionsplateau, während dies unter Selenomethioningabe bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes nicht zu verzeichnen war, d.h. die Halbwertszeit für das organische Präparat ist im Vergleich zum anorganischen Präparat verlängert. Die Aussagekraft der Selenbestimmung im Urin, insbesondere im Spontanurin, ist jedoch gering, da eine ganze Reihe von Einflussfaktoren, wie z.B. die Problematik der Urinsammlung an sich sowie die enge Korrela-

tion der Selenausscheidung im Urin, mit den Kreatininspiegeln als Zeichen für einen engen Zusammenhang mit der glomerulären Filtrationsrate der Nieren zu berücksichtigen sind (Hojo, 1982; Nève et Peretz, 1989).

Vergleichende Supplementationsstudien beim Menschen mit verschiedenen Selenverbindungen wurden bisher nur selten durchgeführt. Der überwiegende Teil dieser Studien wurde bei Menschen mit bekanntem niedrigem Selenstatus, z.B. Menschen aus selenarmen Gebieten Neuseelands oder Chinas bzw. Patienten mit iatrogen erniedrigtem Selenstatus wie z.B. unter parenteraler Ernährung oder bei Phenylketonurie-Erkrankung, durchgeführt.

Wie oben erwähnt zeigten unsere Beobachtungen hinsichtlich der Urinexkretion eine verlängerte Halbwertszeit bei organischen Selenverbindungen im Vergleich zu anorganischen Selenverbindungen. Dieser Unterschied im Stoffwechsel der beiden Selenverbindungen ist bereits seit langem aus Kurzzeit- wie auch aus Langzeitsupplementationsstudien bekannt. Im Jahr 1974 und 1976 wurden die ersten Kurzzeitstudien zum Stoffwechsel von verschiedenen Selenverbindungen durchgeführt. Hierbei wurde klinisch gesunden Probanden aus der neuseeländischen Bevölkerung radioaktiv markiertes Selenit bzw. Selenomethionin mit je einer Einzeldosis zeitversetzt oral verabreicht. Es zeigte sich, dass [⁷⁵Se]-Selenomethionin besser resorbiert und auch stärker retiniert wurde als Selenit. Nach Gabe der organischen Selenverbindung wurde die maximale [⁷⁵Se]-Selenplasmakonzentration vier bis acht Stunden früher erreicht als nach Gabe der anorganischen Selenverbindung, während die Halbwertszeit bei der organischen Selenverbindung länger war (Thomson et Stewart, 1974; Griffiths et al., 1976).

Gleiche Erkenntnisse zum Stoffwechsel der verschiedenen Selenverbindungen erbrachte auch die im Jahr 1978 von Robinson et al. erste durchgeführte Langzeitsupplementation mit 100 µg Selenit bzw. Selenomethionin pro Tag über einen Zeitraum von 10-11 Wochen oder 65 µg Selen aus Fischnahrung pro Tag über einen Zeitraum von 4 Wochen an klinisch gesunden neuseeländischen Probanden. Die Resorption für Selenomethionin und Fischselen war in den ersten vier Wochen höher als für Selenit, wohingegen die Urinexkretion des resorbierten Selenits in den ersten vier Wochen höher lag. Nach diesen ersten vier Wochen wurde mehr Selenomethionin ausgeschieden. Die Retentionsquote lag für Selenomethionin und Fischselen bei 50 % und für Selenit nur bei 30 %.

Als Ergebnisse unserer niedrigdosierten Langzeitsupplementation haben wir bereits beschrieben, dass eine deutlichere Steigerung der Vollblutselen-, Plasmaselen- und Erythrozytenselengehalte unter Selenomethioningabe als vergleichsweise unter Selenitgabe zu verzeichnen war. Ein Plateau wurde unter anorganischer Supplementations für Vollblut-, Plasma- und Erythrozyten-Selen nach etwa 2-4 Monaten erreicht, während diese Meßwerte unter Selenomethionin-Supplementations kon-

tinuierlich anstiegen. Diesbezüglich entsprechende Ergebnisse wurden auch in der zuvor zitierten ersten Langzeitsupplementationsstudie von Robinson et al. (1978) bei allerdings deutlich kürzerer Supplementationsphase und deutlich höherer Dosierung im Vergleich zu unserer Langzeitbeobachtung gefunden.

Hinsichtlich der Aktivitätssteigerung der Parameter Pl-GSH-Px und Ery-GSH-Px ergab sich in unserer niedrigdosierten Langzeitsupplementation für beide Supplementationspräparate ein vergleichbarer Meßwerteverlauf mit anfänglich signifikantem Aktivitätsanstieg und anschließender Ausbildung eines ähnlich hohen Plateaus. Im Vergleich der beiden Glutathionperoxidasen reagiert die plasmatische Glutathionperoxidase deutlich schneller auf die Selen-supplementation als die zelluläre Glutathionperoxidase unabhängig vom supplementierten Selenpräparat. Auf das Supplementationsverhalten der Parameter Vollblut-, Plasma- und Erythrozyten-Selen wurde bereits im vorherigen Absatz eingegangen. Unserer Beobachtung entsprechende Ergebnisse wurden sowohl von Robinson et al. (1978) als auch von Thomson et al. (1982) in einer Langzeitsupplementation für mindestens 17 Wochen mit physiologischen Dosen von 100 µg Selenit bzw. Selenomethionin pro Tag gefunden. Probanden waren erneut klinisch gesunde Personen der neuseeländischen Bevölkerung. Die Vollblut-GSH-Px-Aktivität wurde durch beide Substanzen gleich gesteigert. Unterschiede ergaben sich jedoch bei beiden Selenpräparaten hinsichtlich des Plasma- und Erythrozytenselenpiegels. Hier zeigte sich eine Plateaubildung unter Natriumselenit gegenüber einem stetigen Anstieg der Konzentrationen unter Selenomethionin (Thomson et al., 1982). In einer Nachfolgestudie nahmen vier Testpersonen eine vorwiegend aus Selenomethionin bestehende Selen-Dosis von 200 µg/die in Form von selen-reichem Weizenbrot über 8-13 Wochen auf. Die Ergebnisse der Vorstudie der Arbeitsgruppe konnten im Hinblick auf die Veränderungen der Vollblut-GSH-Px-Aktivität als auch im Hinblick auf die erreichten Selenpiegel in Vollblut, Plasma und Erythrozyten mit deutlich höheren Werten bestätigt werden (Thomson et al., 1985).

Im Jahr 1992 konnte in einer Dissertation zum Thema „Aktivitätsänderung der GSH-Px in Plasma und Erythrozyten bei Kindern mit diätetisch behandelten Stoffwechselerkrankungen unter kurzzeitiger Selen-Supplementation“ gezeigt werden, dass die Plasma- und Erythrozyten-GSH-Px durch die Selenzufuhr deutlich gesteigert wurde. Die Ery-GSH-Px reagierte dabei, entsprechend unseren Ergebnissen aus der Langzeitselensupplementation, verzögert. In Ausmaß und Geschwindigkeit der Enzymaktivitätssteigerung waren Selenit und Selenomethionin unter Kurzzeitsupplementation gleich gut wirksam. Es zeigte sich aber, dass die Zufuhr von Selenomethionin die Aktivität von Pl-GSH-Px nachhaltiger steigern konnte, während dies bei Zufuhr von Selenit bezüglich der Ery-GSH-Px zutraf (Dömer, 1992).

Zur Frage der Korrelation des Selengehaltes des Blutes in Form von Vollblutselen respektive Plasmaselen und der Erythrozyten-GSH-Px fanden wir in unserer Beobachtung unter Supplementation mit organischem Selenomethionin wie auch anorganischem Natriumselenit eine jeweils hochsignifikante Korrelation zwischen den Parametern. Hierzu finden sich in der Literatur unterschiedliche Studienergebnisse. Bei Kindern mit der Stoffwechselerkrankung Phenylketonurie bzw. Ahornsirup-Krankheit und diätetisch erniedrigtem Selenstatus wurden lange Zeit in den achtziger Jahren nur Substitutionsversuche mit einer einzigen Selenverbindung, meistens organischer Selenhefe, unternommen. Insgesamt zeigte sich in diesen Studien, dass unabhängig von der Dosierung und der unterschiedlichen Einnahmedauer der Selenhefe die vor Supplementationsbeginn bei den Probanden erniedrigten Meßwerte für Plasmaselen- und Vollblutselen sowie für Plasma- und Erythrozyten-GSH-Px deutlich in den Normbereich anstiegen. Lediglich der Erythrozytenselengehalt stieg in der Studie von Zachara et al. (1987) nur knapp über die untere Normgrenze und erhöhte sich insgesamt nur geringfügig. In der Studie von Lombeck et al. aus dem Jahr 1980 wurde eine signifikant positive Korrelation zwischen dem Selengehalt des Blutes und der Ery-GSH-Px nachgewiesen, wohingegen Lipson et al. im Jahr 1988 unter Gabe eines Drittels der Selenhefedosis bei gleichzeitig verdoppeltem Supplementationszeitraum im Vergleich zur Studie von Lombeck et al. diesbezüglich nur eine schwach positive Korrelation nachweisen konnte (Lombeck et al., 1980; Steiner et al., 1982; Zachara et al., 1987; Lipson et al., 1988).

Die Auswirkungen einer anorganischen Selenitsupplementation auf die Selenspiegel und die Glutathionperoxidasenaktivität sowie die Lipidperoxidationsprodukte speziell bei diätetisch behandelten PKU-Kindern untersuchten Wilke et al. im Jahr 1992. Vor Supplementationsbeginn zeigten die PKU-Kinder signifikant niedrigere Plasma- und Erythrozytenselenpiegel sowie eine signifikant niedrigere Plasma- und Erythrozyten-Glutathionperoxidasenaktivität als die gesunde Kontrollgruppe. Der Plasmamalondialdehydspiegel, als Parameter der Lipidperoxidationsproduktion, lag signifikant höher als in der Kontrollgruppe. Die Selenitsupplementation in einer Dosis von $0,13 \mu\text{mol Se/kg/die}$ führte zu einem raschen Anstieg der Plasmaselenpiegel und der Glutathionperoxidasenaktivität. Nach zehn Tagen bzw. einem Monat waren hinsichtlich dieser Parameter keine signifikanten Unterschiede mehr zwischen den PKU-Kindern und der gesunden Kontrollgruppe nachzuweisen. Die statistisch signifikanten Unterschiede bezüglich der Erythrozytenselenpiegel, der Erythrozyten-Glutathionperoxidasenaktivität und der Plasmamalondialdehydspiegel verschwanden nach zwei, vier und sechs Monaten der Selenitsupplementation (Wilke et al., 1992).

Hinsichtlich des Supplementationsverhaltens der Schilddrüsenparameter konnten wir für beide Selenpräparate innerhalb der ersten zwei Wochen einen leichten Abfall der T4-Werte verzeichnen. Dieser Konzentrationsabfall fiel in unseren Beobachtungen für das organische Präparat deutlicher

aus. Ähnliches fand auch Calomme et al. im Jahr 1995 bei der Untersuchung des Effektes einer Selensupplementation auf den Schilddrüsenmetabolismus von diätetisch behandelten PKU-Patienten. Drei Wochen nach Supplementationsbeginn mit 1 µg Se/kg/die zeigte sich ein signifikanter Abfall hinsichtlich Thyroxin (fT4) und dem metabolisch inaktiven reversen Trijodthyronin (rT3) bei gleichzeitigem Anstieg der Plasmaselenpiegel und Änderung der Glutathionperoxidaseaktivität. Die untersuchten Studienpatienten befanden sich vor wie nach der Supplementation in euthyreoter Stoffwechsellage (Calomme et al., 1995). Ursächlich für den jeweils beobachteten T4-Konzentrationsabfall ist die selenabhängige Typ-I- Jodthyronin-5'-Dejodase, welche die Umsetzung von Thyroxin (fT4) zu aktivem Trijodthyronin katalysiert.

Die Messung des GOT-Parameters ergab in unserer Beobachtung in den Verumgruppen einen leichten Abfall der Meßpiegel ab dem 28. Tag nach Supplementationsbeginn, wobei diese Abnahme der GOT-Konzentrationen für die Selenomethioningruppe deutlicher ausfiel. Insgesamt lagen alle GOT-Meßwerte im Bereich der Referenzwerte. Negative Korrelationen zwischen Selen im Plasma respektive Vollblut und den Transaminasen, insbesondere der GOT, wurden bereits zuvor in der Literatur beschrieben (Lombeck et al., 1996; Vinton et al., 1987).

Wie bereits oben erwähnt, wollten wir in unserer Langzeitbeobachtung prüfen, ob die zugeführte Selenmenge von 25 µg anorganischem oder organischem Selen ausreicht, den Selenstatus der PKU-Kinder in den Bereich gleichaltriger Kinder mit „Normalkost“ zu erhöhen. Die Korrelationsanalysen zeigten diesbezüglich, bis auf eine Ausnahme, durchweg signifikante Korrelationen zwischen einer erhöhten Selenzufuhr und einem konsekutiven Anstieg des Selenstatus. Gleichzeitig wollten wir in unserer Langzeitbeobachtung prüfen, ob die durch Supplementation mit einer anorganischen respektive organischen Selenverbindung erzielten Konzentrations- respektive Enzymaktivitätsänderungen für eine der beiden angewandten Selenverbindungen signifikant höher ausfallen. Dies konnte aufgrund von AUC-Berechnungen hinsichtlich der Selenomethioninsupplementation für die Parameter Vollblut-, Plasma- und Erythrozyten-Selen gezeigt werden, wobei in diesen Fällen die Bioverfügbarkeit des Natriumselenitpräparates mindestens 20 % bis knapp 50 % des Selenomethioninpräparates betrug. Hinsichtlich der Parameter PI-GSH-Px, Ery-GSH-Px sowie USe ergab sich kein signifikanter Unterschied der erzielten Meßwertsteigerungen beim Vergleich der beiden Supplementationspräparate. Hier lag die Bioverfügbarkeit des Natriumselenitpräparates im Vergleich zum Selenomethioninpräparat etwa zwischen 70 - 90 %. Eine diesbezügliche Beurteilung für den Parameter HSe war aufgrund der wenigen vorliegenden Meßdaten nicht möglich.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse der Supplementationsstudien, dass sowohl anorganische als auch organische Selenverbindungen für den Menschen gut bioverfügbar sind. Selenit wie auch Selenomethionin sind dabei häufig verwendete Verbindungen. Diese verschiedenen Selenverbindungen, welche unterschiedlich metabolisiert werden, führen zu einem Anstieg der plasmatischen und erythrozytären GSH-Px-Aktivität sowie zu einem Anstieg der Selengehalte in den Blutbestandteilen und anderen Körpergeweben bzw. Körperkompartimenten.

Durch unsere Selensupplementations-Beobachtung konnte gezeigt werden, dass eine Dosierung von 25 µg anorganischem oder organischem Selen ausreicht, um eine „Normalisierung“, d.h. Anhebung der Selenspiegel und der Glutathionperoxidaseaktivitäten auf das Niveau gleichaltriger gesunder Kinder zu erreichen. Die mittleren Kumulativwerte der verschiedenen Selen- und Glutathionperoxidasen-Parameter liegen für alle supplementierten PKU-Kinder am Ende des Beobachtungszeitraumes im unteren bis oberen Bereich der Meßwerte gleichaltriger gesunder Kinder (Jochum et al., 1997; Lombeck et al., 1996). Im Falle einer als notwendig erachteten therapeutischen Selensupplementation bei PKU-Kindern ist aufgrund der besseren pharmakokinetischen Steuerbarkeit die Supplementation mit anorganischem Natriumselenit zu bevorzugen, da eine Langzeit-supplementation mit organischem Selenomethionin zu einer toxischen Kumulation führen kann. Insgesamt scheint eine prinzipielle Selensupplementierung von PKU-Kindern aufgrund der bei allen Probanden festgestellten klinischen Unauffälligkeit hinsichtlich bekannter Selenmangelsymptome nicht notwendig zu sein.

5 Zusammenfassung

Selen ist ein Bestandteil verschiedener Selenoproteine und Selenoenzyme. Kinder mit der Stoffwechselerkrankung Phenylketonurie (PKU) müssen krankheitsbedingt eine möglichst lebenslange Diät unter Aussparung der nutritiven Hauptseleträger durchführen, weshalb zwangsläufig bei ihnen eine Selenmangelernährung besteht. Auswirkungen einer therapeutisch langfristigen Selensupplementa-tion bei PKU-Kindern sind bis heute noch nicht ausreichend untersucht worden, da bislang genauere Erkenntnisse zur Pharmakokinetik und möglichen toxischen Kumulation der verschiedenen Selen-verbindungen im menschlichen Organismus fehlen.

Ziel dieser Dissertation ist es, die Veränderungen selenabhängiger hämatologischer Parameter (insbesondere Selen- und GSH-Px-Status) und weiterer klinisch-chemischer Parameter in verschiedenen Körperkompartimenten unter Langzeitsupplementation (270 Tage) mit niedrig dosierten anorganischen und organischen Selenverbindungen im Vergleich zu einem Placebo zu beobachten. Dabei sind vor allem die pharmakokinetischen Eigenschaften der verschiedenen Selen-verbindungen und ihre relative Bioverfügbarkeit von besonderem Interesse.

Die Ergebnisse zeigen, dass eine niedrig dosierte Selensupplementation über 270 Tage je nach verwendetem Selenpräparat zu unterschiedlich starken Anstiegen der selenabhängigen Parameter und Glutathionperoxidaseaktivitäten in den verschiedenen Körperkompartimenten führt. Insgesamt zeigt sich bei der Gabe von organischem Selen ein deutlicherer Kumulationseffekt überwiegend ohne Plateaubildung, während unter anorganischer Selensupplementation ein geringerer Kumulationseffekt zu beobachten ist mit größtenteils Plateaubildung nach einer Supplementationsdauer von 3 bis 6 Monaten. Die relative Bioverfügbarkeit liegt dabei für das anorganische Natriumselenit je nach Parameter zwischen 22 % - 90 % im Vergleich zum organischen Selenomethionin.

Im Falle einer als notwendig erachteten therapeutischen Selensupplementation bei PKU-Kindern ist aufgrund der besseren pharmakokinetischen Steuerbarkeit die Supplementation mit anorganischem Natriumselenit zu bevorzugen, da eine Langzeitsupplementation mit organischem Selenomethionin zu einer toxischen Kumulation führen kann. Insgesamt scheint eine prinzipielle Selensupplementierung von PKU-Kindern aufgrund der bei allen Probanden festgestellten klinischen Unauffälligkeit hinsichtlich bekannter Selenmangelsymptome nicht notwendig zu sein.

6 Anhang

6.1 Meßergebnis-Tabellen

Tabelle 11 Selenabhängige hämatologische Parameter und weitere klinisch-chemische Parameter unter anorganischer oder organischer Selen- respektive Placebosubstitution / 1. Teil

Legende: Gruppe 1 = anorg. Natriumselenit; Gruppe 2 = org. Selenomethionin; Gruppe 3 = Placebo

Gruppe	Zeit [d]	VbSe [ng/ml]	PISe [ng/ml]	ErySe [ng/ml]	PI-GSH-Px [U/l]	Ery-GSH-Px [U/g Hb]
		Mittelwert ± SD	Mittelwert ± SD	Mittelwert ± SD	Mittelwert ± SD	Mittelwert ± SD
1	0	25 ± 8 [15]	18 ± 6 [18]	37 ± 17 [13]	29 ± 14 [18]	2,8 ± 0,9 [17]
1	7	30 ± 8 [17]	25 ± 4 [18]	37 ± 16 [15]	39 ± 14 [18]	2,9 ± 0,9 [18]
1	14	33 ± 8 [14]	30 ± 8 [14]	39 ± 13 [12]	49 ± 16 [14]	2,9 ± 1,0 [14]
1	28	38 ± 8 [17]	34 ± 7 [18]	45 ± 14 [14]	63 ± 21 [17]	3,3 ± 1,1 [18]
1	60	42 ± 9 [15]	38 ± 10 [18]	50 ± 18 [12]	70 ± 18 [18]	3,8 ± 1,1 [18]
1	120	50 ± 7 [18]	46 ± 10 [17]	57 ± 16 [15]	84 ± 22 [17]	5,2 ± 1,3 [18]
1	180	56 ± 8 [17]	48 ± 9 [16]	68 ± 16 [16]	86 ± 23 [17]	6,0 ± 1,6 [17]
1	270	59 ± 6 [10]	50 ± 11 [17]	61 ± 10 [8]	91 ± 15 [12]	6,2 ± 1,6 [16]
2	0	27 ± 8 [16]	17 ± 5 [16]	45 ± 19 [13]	24 ± 10 [15]	2,7 ± 0,9 [15]
2	7	32 ± 11 [17]	29 ± 7 [17]	38 ± 17 [13]	34 ± 11 [17]	2,9 ± 0,9 [17]
2	14	36 ± 11 [14]	37 ± 13 [12]	34 ± 13 [7]	40 ± 16 [12]	3,0 ± 1,1 [13]
2	28	50 ± 11 [16]	46 ± 15 [16]	54 ± 18 [11]	58 ± 21 [17]	3,3 ± 1,2 [15]
2	60	65 ± 17 [17]	60 ± 20 [17]	70 ± 27 [14]	70 ± 22 [16]	4,1 ± 1,4 [17]
2	120	91 ± 26 [17]	71 ± 24 [16]	126 ± 45 [13]	94 ± 34 [17]	6,0 ± 1,5 [17]
2	180	107 ± 28 [17]	84 ± 26 [17]	143 ± 37 [16]	100 ± 33 [14]	6,8 ± 1,8 [16]
2	270	116 ± 32 [14]	88 ± 19 [16]	162 ± 64 [12]	102 ± 23 [13]	7,6 ± 2,2 [15]
3	0	27 ± 8 [7]	19 ± 7 [8]	43 ± 17 [6]	33 ± 13 [7]	3,4 ± 1,4 [7]
3	7	29 ± 9 [7]	21 ± 7 [8]	55 ± 8 [4]	28 ± 15 [7]	3,8 ± 1,4 [8]
3	14	29 ± 10 [7]	20 ± 7 [7]	58 ± 12 [4]	29 ± 15 [6]	3,6 ± 1,2 [7]
3	28	32 ± 9 [7]	23 ± 8 [7]	56 ± 13 [4]	32 ± 15 [6]	3,9 ± 1,4 [7]
3	60	34 ± 10 [8]	21 ± 6 [8]	67 ± 17 [5]	29 ± 13 [7]	3,9 ± 1,3 [8]
3	120	37 ± 10 [8]	26 ± 4 [8]	70 ± 20 [5]	35 ± 16 [8]	3,8 ± 1,4 [8]
3	180	33 ± 8 [7]	26 ± 5 [8]	44 ± 14 [6]	36 ± 11 [7]	3,6 ± 0,8 [8]
3	270	31 ± 9 [7]	26 ± 6 [7]	41 ± 9 [4]	34 ± 15 [8]	3,6 ± 0,9 [8]

Tabelle 12 Selenabhängige hämatologische Parameter und weitere klinisch-chemische Parameter unter anorganischer oder organischer Selen- respektive Placebosubstitution / 2. Teil

Legende: Gruppe 1 = anorg. Natriumselenit; Gruppe 2 = org. Selenomethionin; Gruppe 3 = Placebo

Gruppe	Zeit [d]	HSe [µg/g Haar]	USe [µg/g Krea]	GOT [U/l]	GPT [U/l]	TSH [mU/l]
		Mittelwert ± SD	Mittelwert ± SD	Mittelwert ± SD	Mittelwert ± SD	Mittelwert ± SD
1	0	132 ± 58 [16]	5,3 ± 1,7 [18]	15 ± 3 [10]	10 ± 3 [11]	2,24 ± 0,84 [15]
1	7	-- ± --	7,1 ± 2,7 [17]	15 ± 5 [14]	9 ± 2 [14]	2,36 ± 1,14 [5]
1	14	-- ± --	7,6 ± 2,1 [14]	13 ± 2 [11]	8 ± 2 [11]	1,35 ± 0,43 [2]
1	28	-- ± --	9,9 ± 3,0 [17]	15 ± 5 [14]	8 ± 1 [14]	2,45 ± 1,04 [5]
1	60	-- ± --	11,2 ± 3,6 [15]	14 ± 3 [13]	9 ± 2 [13]	2,44 ± 1,51 [5]
1	120	-- ± --	12,2 ± 3,8 [16]	14 ± 3 [14]	8 ± 2 [13]	2,03 ± 1,01 [8]
1	180	223 ± 55 [16]	12,4 ± 4,5 [14]	13 ± 3 [12]	9 ± 2 [13]	1,97 ± 1,06 [5]
1	270	231 ± 63 [16]	15,1 ± 5,8 [13]	13 ± 2 [14]	9 ± 2 [14]	-- ± --
2	0	132 ± 49 [15]	4,7 ± 2,1 [17]	13 ± 3 [11]	9 ± 3 [12]	2,28 ± 1,48 [13]
2	7	-- ± --	5,5 ± 2,2 [16]	13 ± 4 [10]	9 ± 2 [10]	1,90 ± 0,77 [9]
2	14	-- ± --	6,6 ± 2,6 [14]	13 ± 4 [7]	8 ± 3 [7]	1,73 ± 0,58 [6]
2	28	-- ± --	8,3 ± 4,4 [17]	15 ± 4 [8]	9 ± 4 [7]	2,12 ± 1,46 [7]
2	60	-- ± --	10,3 ± 5,2 [17]	12 ± 3 [10]	8 ± 2 [10]	2,26 ± 0,88 [8]
2	120	-- ± --	12,2 ± 5,8 [13]	11 ± 2 [10]	9 ± 3 [10]	2,17 ± 0,97 [10]
2	180	300 ± 106 [16]	15,2 ± 7,3 [17]	12 ± 2 [9]	8 ± 2 [11]	2,34 ± 1,33 [9]
2	270	339 ± 120 [14]	18,6 ± 6,9 [16]	12 ± 4 [9]	9 ± 4 [10]	-- ± --
3	0	128 ± 43 [7]	5,3 ± 1,8 [8]	13 ± 3 [4]	9 ± 2 [5]	2,37 ± 1,53 [7]
3	7	-- ± --	5,1 ± 1,4 [7]	16 ± 2 [3]	12 ± 4 [3]	-- ± --
3	14	-- ± --	4,8 ± 1,8 [6]	14 ± 2 [3]	11 ± 3 [3]	-- ± --
3	28	-- ± --	5,1 ± 1,1 [7]	11 ± 1 [3]	10 ± 4 [3]	-- ± --
3	60	-- ± --	5,3 ± 1,5 [8]	14 ± 5 [3]	12 ± 7 [3]	-- ± --
3	120	-- ± --	5,2 ± 1,6 [8]	13 ± 1 [3]	11 ± 2 [3]	-- ± --
3	180	168 ± 73 [7]	5,8 ± 1,7 [8]	14 ± 2 [4]	8 ± 1 [5]	-- ± --
3	270	157 ± 62 [5]	6,4 ± 2,0 [8]	12 ± 1 [3]	9 ± 2 [4]	-- ± --

Tabelle 13 Selenabhängige hämatologische Parameter und weitere klinisch-chemische Parameter unter anorganischer oder organischer Selen- respektive Placebosubstitution / 3. Teil

Legende: Gruppe 1 = anorg. Natriumselenit; Gruppe 2 = org. Selenomethionin; Gruppe 3 = Placebo

Gruppe	Zeit [d]	T3 [nmol/l] Mittelwert ± SD	T4 [nmol/l] Mittelwert ± SD	Protein [g/dl] Mittelwert ± SD	CK [U/l] Mittelwert ± SD	MCV [fl] Mittelwert ± SD
1	0	2,83 ± 0,65 [17]	126 ± 25 [17]	7,33 ± 0,46 [12]	51 ± 20 [12]	87 ± 3 [16]
1	7	2,63 ± 0,66 [10]	121 ± 29 [10]	7,46 ± 0,31 [14]	59 ± 24 [14]	87 ± 3 [14]
1	14	2,86 ± 0,61 [8]	114 ± 21 [8]	7,41 ± 0,42 [11]	52 ± 13 [10]	87 ± 3 [11]
1	28	2,80 ± 0,76 [11]	110 ± 25 [11]	7,28 ± 0,42 [14]	53 ± 20 [14]	87 ± 3 [13]
1	60	2,80 ± 0,60 [13]	112 ± 22 [14]	7,32 ± 0,36 [13]	44 ± 15 [13]	87 ± 2 [13]
1	120	2,68 ± 0,57 [14]	112 ± 24 [14]	7,41 ± 0,36 [14]	41 ± 12 [13]	86 ± 3 [14]
1	180	2,94 ± 0,74 [11]	116 ± 18 [11]	7,47 ± 0,27 [11]	52 ± 17 [11]	86 ± 3 [16]
1	270	-- ± --	-- ± --	7,54 ± 0,43 [14]	49 ± 20 [14]	85 ± 3 [14]
2	0	2,69 ± 0,41 [13]	140 ± 22 [14]	7,38 ± 0,43 [12]	40 ± 10 [11]	86 ± 4 [12]
2	7	2,74 ± 0,61 [13]	140 ± 16 [13]	7,51 ± 0,31 [10]	41 ± 11 [9]	86 ± 5 [10]
2	14	3,03 ± 0,69 [10]	139 ± 17 [10]	7,44 ± 0,29 [7]	45 ± 13 [5]	86 ± 3 [5]
2	28	2,69 ± 0,51 [10]	123 ± 13 [10]	7,33 ± 0,39 [7]	39 ± 14 [6]	85 ± 4 [8]
2	60	2,87 ± 0,78 [13]	121 ± 15 [13]	6,99 ± 0,40 [10]	40 ± 17 [9]	86 ± 4 [10]
2	120	2,60 ± 0,39 [12]	123 ± 15 [12]	7,26 ± 0,58 [10]	40 ± 14 [9]	85 ± 5 [10]
2	180	2,71 ± 0,51 [10]	117 ± 23 [10]	7,23 ± 0,50 [11]	39 ± 14 [10]	85 ± 4 [11]
2	270	-- ± --	-- ± --	7,06 ± 0,56 [10]	38 ± 8 [9]	85 ± 4 [11]
3	0	3,46 ± 1,11 [7]	115 ± 30 [7]	7,26 ± 0,40 [5]	46 ± 11 [5]	85 ± 2 [6]
3	7	-- ± --	-- ± --	7,25 ± 0,07 [2]	60 ± 8 [3]	84 ± 0 [3]
3	14	-- ± --	-- ± --	7,20 ± 0,10 [3]	64 ± 18 [3]	85 ± 1 [2]
3	28	-- ± --	-- ± --	7,07 ± 0,29 [3]	45 ± 12 [3]	84 ± 1 [3]
3	60	-- ± --	-- ± --	6,57 ± 0,15 [3]	40 ± 1 [3]	84 ± 1 [3]
3	120	-- ± --	-- ± --	7,00 ± 0,20 [3]	44 ± 9 [3]	84 ± 1 [3]
3	180	-- ± --	-- ± --	7,06 ± 0,30 [5]	44 ± 14 [5]	86 ± 3 [5]
3	270	-- ± --	-- ± --	7,20 ± 0,32 [4]	48 ± 13 [4]	84 ± 3 [4]

6.2 Probandenliste

Tabelle 14 Probandenkollektiv: zu Studienphasenbeginn erhobene Daten

Legende: Gruppe 1 = anorg. Natriumselenit; Gruppe 2 = org. Selenomethionin; Gruppe 3 = Placebo

Patient	Geschlecht	Alter [J]	Zentrum	Gruppe	L [cm]	G [kg]	PISe [ng/ml]
A. H.	w	12J, 10M	Berlin	1	127,0	30,0	16,0
A. O.	m	11J, 7M	Düsseldorf	1	147,9	38,0	24,8
B. Q.	m	13J, 4M	München	1	160,0	66,0	24,9
B. S.	w	13J, 4M	Heidelberg	2	159,3	67,0	24,5
C. A.	m	11J, 7M	Heidelberg	1	149,2	60,0	23,7
D. K.	w	5J, 7M	Berlin	1	--	17,0	12,9
E. K.	w	9J, 5M	Düsseldorf	2	130,7	24,4	13,1
F. T.	m	6J, 8M	Berlin	1	--	25,0	26,3
F. V.	w	10J, 1M	Heidelberg	3	131,1	25,0	14,0
H. A.	w	7J, 8M	Düsseldorf	2	122,5	22,5	18,0
H. C.	w	11J, 0M	Düsseldorf	1	144,0	31,3	26,0
H. D.	m	13J, 10M	Heidelberg	3	150,2	34,4	16,0
H. I.	w	10J, 0M	München	2	142,0	35,2	21,0
H. Ja.	m	11J, 6M	Düsseldorf	2	150,8	42,6	18,8
H. Je.	w	9J, 11M	Berlin	1	--	19,3	19,9
H. S.	w	10J, 0M	München	2	134,0	31,5	12,0
I. M.	m	12J, 3M	Heidelberg	2	145,4	56,6	21,3
J. D.	m	10J, 10M	Düsseldorf	3	132,0	29,7	25,0
K. S.	m	14J, 4M	Düsseldorf	1	167,0	36,6	12,2
L. M.	w	11J, 8M	München	2	--	--	10,0
L. U.	w	14J, 10M	Berlin	1	160,0	52,0	21,0
M. C.	w	10J, 6M	Düsseldorf	2	139,9	30,0	27,0
M. F.	m	9J, 6M	Düsseldorf	1	136,4	34,2	11,4
M. Je.	w	7J, 5M	Berlin	3	--	30,5	22,4
M. Jo.	m	9J, 6M	Heidelberg	1	135,3	27,4	16,0
N. W.	m	11J, 3M	München	3	136,0	31,8	10,2
R. A.	w	16J, 5M	Berlin	2	--	54,0	25,1
R. J.	w	9J, 3M	Heidelberg	2	140,0	30,0	15,0
R. T.	w	11J, 7M	Berlin	3	140,5	31,1	30,0
S. A.	w	12J, 2M	Düsseldorf	1	157,1	40,0	29,4
S. D.	w	10J, 2M	Düsseldorf	1	137,0	28,8	15,6
S. E.	w	11J, 2M	Düsseldorf	2	137,1	29,3	16,0
S. J.	w	10J, 2M	München	1	135,3	28,1	10,0
S. N.	w	10J, 11M	Berlin	1	151,0	47,0	15,0
S. S.	m	14J, 9M	Berlin	2	170,5	73,3	14,0
S. T.	w	15J, 0M	Heidelberg	3	165,0	45,6	14,5
T. M.	w	13J, 5M	München	2	157,0	48,4	19,3
T. S.	m	16J, 0M	Berlin	2	--	70,5	14,4
V. N.	w	7J, 11M	Berlin	2	--	20,3	15,7
v.K. K.	w	10J, 5M	Düsseldorf	1	130,0	26,3	17,5
W. D.	m	10J, 10M	Berlin	1	153,0	67,9	14,0
W. M.	m	9J, 5M	München	3	--	--	16,9
W. S.	w	14J, 6M	Heidelberg	2	146,0	39,0	13,4

6.3 Abkürzungsverzeichnis

Aqua dest.	destilliertes Wasser
AUC	Area under the curve (Flächenmaß)
C ₅ H ₁₁ NO ₂ Se	Selenomethionin
c-DNA	codogene-Desoxyribonucleinsäure
Chol	Cholesterin
CK	Creatinkinase
Crea	Creatinin
d	die (= Tag)
Da	Dalton (Einheit des Molekulargewichtes)
E	Einheit eines Parameters
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EKG	Elektrokardiogramm
Ery-GSH-Px	Erythrozyten-Glutathionperoxidase
ErySe	Erythrozyten-Selen
fT3	freies Trijodthyronin
fT4	freies Thyroxin
g	Erdbeschleunigungskonstante (= 9,81 ms ⁻²)
G	Gewicht
GPerz	Gewichtspersentile
GOT	Glutamatoxalacetattransaminase
GPT	Glutamatpyruvattransaminase
GSH	reduziertes Glutathion
GSH-Px	Glutathionperoxidase
GSH-Px-GI	gastrointestinale Glutathionperoxidase
GSSG	oxidiertes Glutathion
GSSG-R	Glutathionreduktase
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
Hb	Hämoglobin
Hkt	Hämatokrit
HSe	Haar-Selen
i.A.	im Ansatz
J	Jahr(e)
K ₁ , K ₂	Geschwindigkeitskonstanten
K ₃ Fe(CN) ₆	Kaliumhexacyanoferrat
KCN	Kaliumcyanid
kDa	Kilo-Dalton (Einheit des Molekulargewichtes)

KPP	Kaliumphosphatpuffer
L	Länge
LPerz	Längenperzentile
LD ₅₀	Letaldosis ₅₀ (Dosis, die 50 % der Versuchstiere tötet)
LDH	Lactatdehydrogenase
Leuk	Leukozyten
LJ	Lebensjahr
m	männlich
M	Monat
MCV	mittleres corpuskuläres Volumen
m-RNA	messenger-Ribonucleinsäure
Na ₂ SeO ₃	Natriumselenit
NADPH ₂	reduziertes NADP (= Nicotinamidadeninucleotidphosphat)
NaHCO ₃	Natriumhydrogencarbonat
NaN ₃	Natriumacid
n.b.	nicht bestimmbar
N-Kompart.	Anzahl der Kompartimente
p. a.	pro analysi
Phe	Phenylalanin
PH-GSH-Px	Phospholipidhydroperoxid-Glutathionperoxidase
Phos	Phosphat
PKU	Phenylketonurie
Pl-GSH-Px	Plasma-Glutathionperoxidase
PlSe	Plasma-Selen
Prot	Protein
SD (rel.)	Standardabweichung (relative)
SDS	Standard Deviation Score
Se	Selen
SOD	Superoxiddismutase
SSQ	Summe der Abweichungsquadrate
T _{1/2}	Halbwertszeit
t-BOOH	tertiäres Butylhydroperoxid
Thromb	Thrombozyten
TSH	Thyroidea stimulierendes Hormon
USe	Urin-Selen
VbSe	Vollblut-Selen

Vit. A

Vitamin A \rightarrow Retinol

Vit. E

Vitamin E \rightarrow Tocopherol

w

weiblich

Y_1, Y_2

Absättigungskonstanten

Y_3

Offset (für $t = 0$)

6.4 Literaturverzeichnis

1. Aaseth-J, Frey-H, Glattre-E, Norheim-G, Ringstad-J, Thomassen-Y: Selenium concentrations in the human thyroid gland. *Biol Trace Elem Res.* 1990; 24 (2): 147-152
2. Abdulla-M, Chmielnicka-J: New aspects on the distribution and metabolism of essential trace elements after dietary exposure to toxic metals. *Biol Trace Elem Res.* 1989-1990; 23: 25-53
3. Allander-E: Kashin-Beck disease. An analysis of research and public health activities based on a bibliography 1849-1992. *Scand J Rheumatol. Suppl.* 1994; 99: 1-36
4. Awasthi-YC, Dao-DD, Lal-AK, Srivastava-SK: Purification and properties of glutathione peroxidase from human placenta. *Biochem J.* 1979; 177 (2): 471-476
5. Awasthi-YC, Beutler-E, Srivastava-SK: Purification and properties of human erythrocyte glutathione peroxidase. *J Biol Chem.* 1975; 250 (13): 5144-5149
6. Bai-J, Wu-S, Ge-K, Deng-X, Su-C: The combined effect of selenium deficiency and viral infection on the myocardium of mice. *Acta Acad. Med. Sinicae.* 1980; 2 (1): 29-31
7. Barceloux-DG: Selenium. *J Toxicol Clin Toxicol.* 1999; 37 (2): 145-172
8. Beck-MA, Shi-Q, Morris-VC, Levander-OA: Rapid genomic evolution of a non-virulent cocksackievirus B3 in selenium-deficient mice results in selection of identical virulent isolates. *Nat Med.* 1995; 1 (5): 433-436
9. Beck-MA, Kolbeck-PC, Rohr-LH, Shi-Q, Morris-VC, Levander-OA: Benign human enterovirus becomes virulent in selenium-deficient mice. *J Med Virol.* 1994; 43 (2): 166-170
10. Behne-D, Hilmert-H, Scheid-S, Gessner-H, Elger-W: Evidence for specific selenium target tissues and new biologically important selenoproteins. *Biochim Biophys Acta.* 1988; 966 (1): 12-21
11. Behne-D, Hofer-Bosse-T: Effects of a low selenium status on the distribution and retention of selenium in the rat. *J Nutr.* 1984; 114 (7): 1289-1296
12. Bjerre-B, von-Schenck-H, Sorbo-B: Hyposelenaemia: patients with gastrointestinal diseases are at risk. *J Intern Med.* 1989; 225 (2): 85-88
13. Brown-MR, Cohen-HJ, Lyons-JM, Curtis TW, Thunberg-B, Cochran-WJ, Klish-WJ: Proximal muscle weakness and selenium deficiency associated with long term parenteral nutrition. *Am J Clin Nutr.* 1986; 43 (4): 549-554
14. Butler-JA, Thomson-CD, Whanger-PD, Robinson-MF: Selenium distribution in blood fractions of New Zealand women taking organic and inorganic selenium. *Am J Clin Nutr.* 1991; 53 (3): 748-754
15. Butler-JA, Beilstein-MA, Whanger-PD: Influence of dietary methionine on metabolism of selenomethionine in rats. *J Nutr.* 1989; 119 (7): 1001-1009

16. Calomme-M, Vanderpas-J, Francois-B, Van-Caillie-Bertrand-M, Vanoverbelt-N, Van-Hoorebeke-C, Vanden-Berghe-D: Effects of selenium supplementation on thyroid hormone metabolism in phenylketonuria subjects on a phenylalanine restricted diet. *Biol Trace Elem Res.* 1995; 47 (1-3): 349-353
17. Carter-RF: Acute selenium poisoning. *Med J Aust.* 1966; 1 (13): 525-528
18. Chen-XI, Yang-G, Chen-J, Chen-XU, Wen-Z, Ge-K: Studies on the Relationship of Selenium and Keshan Disease. *Biol-Trace-Elem-Res.* 1980; 2: 91-107
19. Chowdhury-BA, Chandra-RK: Biological and health implications of toxic heavy metal and essential trace element interactions. *Prog Food Nutr Sci.* 1987; 11 (1): 55-113
20. Darling-G, Mathias-P, O'Regan-M, Naughten-E: Serum selenium levels in individuals on PKU diets. *J Inherit Metab Dis.* 1992; 15 (5): 769-773
21. Deutsche Gesellschaft für Ernährung (DGE): Empfehlungen für die Nährstoffzufuhr. 5. Überarbeitung (1991), 1. korrigierter Nachdruck 1992. *Umschau Verlag Frankfurt/Main.* 1991; 77-78
22. Diplock-AT, Caygill-CP, Giasuddin-AS: Vitamin E - selenium interactions. *Int J Vitam Nutr Res.* 1976; 46 (2): 254-257
23. Diplock-AT: The nutritional and metabolic roles of selenium and vitamin E. *Proc Nutr Soc.* 1974; 33 (3): 315-322
24. Dömer-C: Aktivitätsänderung der Glutathionperoxidase in Plasma und Erythrozyten bei Kindern mit diätetisch behandelten Stoffwechselerkrankungen unter kurzzeitiger Selensubstitution. *Dissertation; Heinrich-Heine-Universität, Düsseldorf.* 1992
25. Flohé-L, Günzler-WA: Assays of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol* 1984; 105: 114-121
26. Flohé-L, Günzler-WA, Schock-HH: Glutathione peroxidase: a selenoenzyme. *FEBS Lett.* 1973; 32 (1): 132-134
27. Greeves-LG, Carson-DJ, Craig-BG, McMaster-D: Potentially life-threatening cardiac dysrhythmia in a child with selenium deficiency and phenylketonuria. *Acta Paediatr Scand.* 1990; 79 (12): 1259-62
28. Griffiths-NM, Stewart-RDH, Robinson-MF: The metabolism of [⁷⁵Se]-selenomethionine in four women. *Br J Nutr.* 1976; 35 (3): 373-382
29. Günzler-WA, Kremers-H, Flohé-L: An improved coupled test procedure for glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9) in blood. *Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.* 1974; 12 (10): 444-448
30. Harrison-I, Littlejohn-D, Fell-GS: Distribution of selenium in human blood plasma and serum. *Analyst.* 1996; 121 (2): 189-194
31. Hartfiel-W, Bahnert-N: Selenium deficiency in the Federal Republic of Germany. *Biol Trace Elem Res.* 1988; 15: 1-12
32. Hasegawa-T, Mihara-M, Nakamuro-K, Sayato-Y: Mechanisms of selenium methylation and toxicity in mice treated with selenocystine. *Arch Toxicol.* 1996; 71 (1-2): 31-38

33. Hojo-Y: Single-void urine selenium level expressed in terms of creatinine content as an effective and convenient indicator of human selenium status. *Bull Environ Contam Toxicol.* 1982; 29 (1): 37-42
34. Itoh-M, Suzuki-KT: Effects of dose on the methylation of selenium to monomethylselenol and trimethylselenonium ion in rats. *Arch Toxicol.* 1997; 71 (7): 461-466
35. Janghorbani-M, Christensen-MJ, Nahapetian-A, Young-VR: Selenium metabolism in health adults: Quantitative aspects using stable isotope $^{74}\text{SeO}_3(2-)$. *Am J Clin Nutr.* 1982; 35 (4): 647-654
36. Jochum-F, Terwolbeck-K, Meinhold-H, Behne-D, Menzel-H, Lombeck-I: Effects of a low selenium state in patients with phenylketonuria. *Acta Paediatr.* 1997; 86 (7): 775-777
37. Jochum-F, Terwolbeck-K, Meinhold-H, Behne-D, Menzel-H, Lombeck-I: Selenium status in PKU-children fed semisynthetic diet. In: Carapella-SC, Oldfield-JE, Palmieri-Y (Eds.), *Uses of Selenium and Tellurium, STADA, Brüssel.* 1994: 131-134
38. Karow-T, Lang-R: Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie - Vorlesungsorientierte Darstellung. Selbstverlag, 1996; 1-30
39. Kido-T, Tsuritani-I, Honda-R, Yamaya-H, Ishizaki-M, Yamada-Y, Nogawa-K: Selenium, zinc, copper and cadmium concentration in livers and kidneys of people exposed to environmental cadmium. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis.* 1988; 2 (2): 101-104
40. Kien-CL, Ganther-HE: Manifestations of chronic selenium deficiency in a child receiving total parenteral nutrition. *Am J Clin Nutr.* 1983; 37 (2): 319-328
41. Kojda-G: Pharmakologie/Toxikologie systematisch. Uni-Med Verlag, 2000; 41
42. Korotkov-KV, Novoselov-S, Hatfield-DL, Gladyshev-VN: Mammalian selenoprotein in which selenocysteine (Sec) incorporation is supported by a new form of sec insertion sequence element. *Mol Cell Biol.* 2002; 22 (5):1402-1411
43. Krehl-WA: Selenium – the maddening mineral. *Nutr-Today* 1970; 26-32
44. Levander-OA: The need for measures of selenium status. *J Am Coll Tox.* 1986; 5: 37-44
45. Levander-OA: Clinical consequences of low selenium intake and its relationship to vitamin E. *Ann N Y Acad Sci.* 1982; 393: 70-82
46. Levander-OA, Sutherland-B, Morris-VC, King-JC: Selenium balance in young men during selenium depletion and repletion. *Am J Clin Nutr.* 1981; 34 (12): 2662-2669
47. Lindh-U, Danersund-A, Lindvall-A: Selenium protection against toxicity from cadmium and mercury studied at the cellular level. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand).* 1996; 42 (1): 39-48
48. Lipson-A, Masters-H, O'Halloran-M, Thompson-S, Coveney-J, Yu-J: The selenium status of children with phenylketonuria: results of selenium supplementation. *Aust Paediatr J.* 1988; 24 (2): 128-131
49. Lockitch-G, Taylor-GP, Wong-LTK, Davidson-AGF, Dixon-PJ, Riddell-D, Massing-B: Cardiomyopathy associated in nonendemic selenium deficiency in a Caucasian adolescent. *Am J Clin Nutr.* 1990; 52 (3): 572-577

50. Lockitch-G: Selenium: clinical significance and analytical concepts. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 1989; 27 (6): 483-541
51. Lombeck-I, Jochum-F, Terwolbeck-K: Selenium status in infants and children with phenylketonuria and in maternal phenylketonuria. *Eur J Pediatr.* 1996; 155 Suppl 1: S140-144
52. Lombeck-I, Papadaki-Papandreou-O, Kamiri-F, Laryea-MD, Jiang-YF, Leitzmann-P: A screening method for the evaluation of selenium status. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis.* 1989; 3 (3): 175-178
53. Lombeck-I, Menzel-H, Frosch-D: Acute selenium poisoning of a 2-year-old child. *Eur J Pediatr.* 1987; 146 (3): 308-312
54. Lombeck-I, Ebert-KH, Kasparek-K, Feinendegen-LE, Bremer-HJ: Selenium intake of infants and young children, healthy children and dietetically treated patients with phenylketonuria. *Eur J Pediatr.* 1984; 143 (2): 99-102
55. Lombeck-I, Kasparek-K, Bachmann-D, Feinendegen-LE, Bremer-HJ: Selenium requirements in patients with inborn errors of amino acid metabolism and selenium deficiency. *Eur J Pediatr.* 1980; 134 (1): 65-68
56. Lombeck-I, Kasparek-K, Harbisch-HD, Becker-K, Schumann-E, Schröter-W, Feinendegen-LE, Bremer-HJ: The selenium state of children. II. Selenium content of serum, whole blood, hair and the activity of erythrocyte glutathione peroxidase in dietetically treated patients with phenylketonuria and maple-syrup-urine disease. *Eur J Pediatr.* 1978; 128 (4): 213-223
57. Martin-RF, Young-VR, Blumberg-J, Janghorbani-M: Ascorbic acid-selenite interactions in humans studied with an oral dose of $^{74}\text{SeO}_3(2-)$. *Am J Clin Nutr.* 1989; 49 (5): 862-869
58. Meier-J, Rettig-H, Hess-H: Biopharmazie - Theorie und Praxis der Pharmakokinetik. *Thieme Verlag* 1981
59. National Research Council - Subcommittee on the Tenth Edition of the RDAs, *National Academic Press, Washington, D.C.* 1989
60. Nève-J: Methods in determination of selenium status. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis.* 1991; 5 (1): 1-17
61. Nève-J, Peretz-A: Expression of urinary selenium levels in humans. In: *Selenium in Medicine and Biology*, pp. 189-192, (Nève-J, Favier-A, Eds.). Walter de Gruyter Berlin-New York 1989
62. Olson-OE: Selenium toxicity in animals with emphasis on man. *J Am Coll Tox.* 1986; 5: 45-69
63. Oster-O: Zum Selenstatus in der Bundesrepublik Deutschland. *Universitätsverlag Jena GmbH.* 1992
64. Oster-O, Schmiedel-G, Prellwitz-W: The organ distribution of selenium in German adults. *Biol Trace Elem Res.* 1988; 15: 23-45
65. Paglia-DE, Valentine-WN: Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J Lab Clin Med.* 1967; 70 (1): 158-169

66. Peng-A, Yang-C, Rui-H, Li-H: Study on the pathogenic factors of Kashin-Beck disease. *J Toxicol Environ Health*. 1992; 35 (2): 79-90
67. Polo-M: in „Von Venedig nach China. Die größte Reise des 13. Jahrhunderts.“ 1925; (T.A. Knust Edition), *Horst Erdmann Verlag, Tübingen und Basel*, erneut aufgelegt 1972; 99
68. Rannem-T, Ladefoged-K, Hylander-E, Hegnkoj-J, Staun-M: Selenium depletion in patients with gastrointestinal diseases: are there any predictive factors? *Scand J Gastroenterol*. 1998; 33 (10): 1057-1061
69. Reeves-WC, Marcuard-SP, Willis-SE, Movahed-A: Reversible cardiomyopathy due to selenium deficiency. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 1989; 13 (6): 663-665
70. Robinson-MF, Thomson-CD, Jenkinson-CP, Luzhen-GR, Whanger-PD: Long-term-supplementation with selenate and selenomethionine: urinary excretion by New Zealand women. *Br J Nutr*. 1997; 77 (4): 551-563
71. Robinson-MF, Thomson-CD: The role of selenium in the diet. *Nutr. Abstr. Rev.in Clin. Nutr*. 1983; 53 (1): 3-26
72. Robinson-MF, Rea-HM, Friend-GM, Stewart-RDH, Snow-PC, Thomson-CD: On supplementing the selenium intake of New Zealanders 2. Prolonged metabolic experiments with daily supplements of selenomethionine, selenite and fish. *Br J Nutr*. 1978; 39 (3): 589-600
73. Rotruck-JT, Pope-AL, Ganther-HE, Swanson-AB, Hafeman-DG, Hoekstra-WG: Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*. 1973; 179 (73): 588-590
74. Rukgauer-M, Zeyfang-A, Uhland-K, Kruse-Jarres-JD: Isolation of corpuscular components of whole blood for the determination of selenium in blood cells. *J Trace Elem Med Biol*. 1995; 9 (3): 130-135
75. Sandstrom-B, Davidsson-L, Eriksson-R, Alpsten-M, Bogentoft-C: Retention of selenium [⁷⁵Se], zinc [⁶⁵Zn] and manganese [⁵⁴Mn] in humans after intake of a labelled vitamin and mineral supplement. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis*. 1987; 1 (1): 33-38
76. Schechter-A, Shanske-W, Stenzler-A, Quintilian-H, Steinberg-H: Acute hydrogen selenide inhalation. *Chest*. 1980; 77 (4): 554-555
77. Schmidt-K, Bayer-W: Selen - aktueller wissenschaftlicher Erkenntnisstand. *VitaMinSpur*. 1992; 7 Suppl.: 1-23
78. Schwarz-K, Foltz-CM: Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *J Am Chem Soc*. 1957; 79: 3292-3293
79. Steiner-G, Menzel-H, Lombeck-I, Ohnesorge-FK, Bremer-HJ: Plasma glutathione peroxidase after selenium supplementations in patients with reduced selenium state. *Eur J Pediatr*. 1982; 138 (2): 138-140
80. Stewart-RD, Griffiths-NM, Thomson-CD, Robinson-MF: Quantitative selenium metabolism in normal New Zealand women. *Br J Nutr*. 1978; 40 (1): 45-54
81. Sunde-RA, Evenson-JK: Serine incorporation into the selenocysteine moiety of glutathione peroxidase. *J Biol Chem*. 1987; 262 (2): 933-937

82. Swanson-CA, Patterson-BH, Levander-OA, Veillon-C, Taylor-PR, Helzlsouer-K, McAdam-PA, Zech-LA: Human [⁷⁴Se] selenomethionine metabolism: a kinetic model. *Am J Clin Nutr.* 1991; 54 (5): 917-926
83. Terwolbeck-K, Jochum-F, Meinhold-H, Behne-D, Cser-A, Lombeck-I: Niedrige Selen-Zufuhr mit der Nahrung und Veränderungen des Schilddrüsenmetabolismus. *Ernährungsumschau.* 1994; 41 (3): 94
84. Thomson-CD, Robinson-MF, Butler-JA, Whanger-PD: 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.* 1993; 69 (2): 577-588
85. Thomson-CD, Robinson-MF: Urinary and fecal excretions and absorption of a large supplement of selenium: Superiority of selenate over selenite. *Am J Clin Nutr.* 1986; 44 (5): 659-663
86. Thomson-CD, Ond KL, Robinson-MF: Effects of supplementation with high-selenium wheat bread on selenium, glutathione peroxidase and related enzymes in blood components of New Zealand residents. *Am J Clin Nutr.* 1985; 41 (5): 1015-1022
87. Thomson-CD, Robinson-MF, Campbell-DR, Rea-HM: Effect of prolonged supplementation with daily supplements of selenomethionine and sodium selenite on glutathione peroxidase activity in blood of New Zealands residents. *Am J Clin Nutr.* 1982; 36 (1): 24-31
88. Thomson-CD, Burton-CE, Robinson-MF: On supplementing the selenium intake of New Zealanders. 1. Short experiments with large doses of selenite or selenomethionine. *Br J Nutr.* 1978; 39 (3): 579-587
89. Thomson-CD, Stewart-RDH: The metabolism of [⁷⁵Se]-Selenite in young women. *Br J Nutr.* 1974; 32 (1): 47-57
90. van-Rij-AM, McKenzie-JM, Thomson-CD, Robinson-MF: Selenium supplementation in total parenteral nutrition. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1981; 5 (2): 120-124
91. van-Rij-AM, Thomson-CD, McKenzie-JM, Robinson-MF: Selenium deficiency in total parental nutrition. *Am J Clin Nutr.* 1979; 32 (10): 2076-2085
92. Vendeland-SC, Butler-JA, Whanger-PD: Intestinal absorption of selenite, selenate and selenomethionine in the rat. *J Nutr Biochem.* 1992; 3: 359-365
93. Vinton-NE, Dahlstrom-KA, Strobel-CT, Ament-ME: Macrocytosis and pseudoalbuminism: manifestation of selenium deficiency. *J Pediatr.* 1987; 111 (5): 711-717
94. von-Stockhausen-HB: Selen - ein essentielles Spurenelement: Epidemiologie, Symptome, Therapie. *Ernährungsumschau.* 1990; 37 (Sonderheft): 627-631
95. Wasowicz-W, Golebiowska-M, Chlebna-Sokol-D: Increased urinary excretion of selenium in children - a response to surplus fluorine in drinking water. *Trace Elements in Medicine* 1988; 5: 43-46
96. Watson-RD, Cannon-RA, Kurland-GS, Cox-KL, Frates-RC: Selenium responsive myositis during prolonged home total parenteral nutrition in cystic fibrosis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr.* 1985; 9 (1): 58-60
97. Wendel-A: Glutathione peroxidase. *Methods Enzymol.* 1981; 77: 325-333

98. Wilber-CG: Toxicology of selenium: a review. *Clin Toxicol* 1980; 17 (2): 171-230
99. Wilke-BC, Vidailhet-M, Favier-A, Guillemin-C, Ducros-V, Arnaud-J, Richard-MJ: Selenium, glutathione peroxidase (GSH-Px) and lipid peroxidation products before and after selenium supplementation. *Clin Chim Acta*. 1992; 207 (1-2): 137-142
100. Wolfram-S, Arduser-F, Scharrer-E: In vivo intestinal absorption of selenate and selenite by rats. *J Nutr*. 1985; 115 (4): 454-459
101. Xu-GL, Wang-SC, Gu-BQ, Yang-YX, Song-HB, Xue-WL, Liang-WS, Zhang-PY: Further investigation of the role of selenium deficiency in the aetiology and pathogenesis of Keshan disease. *Biomed Environ Sci*. 1997; 10 (2-3): 316-326
102. Yang-G, Yin-S, Zhou-R, Gu-L, Yan-B, Liu-Y, Liu-Y: Studies of safe maximal daily dietary Se-intake in a seleniferous area in China. II: Relation between Se-intake and the manifestation of clinical signs and certain biochemical alterations in blood and urine. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis*. 1989; 3 (3): 123-130
103. Yang-GQ, Ge-KY, Chen-JS, Chen-XS: Selenium-related endemic diseases and the daily selenium requirement of humans. *World Rev Nutr Diet*. 1988; 55: 98-152
104. Zachara-A, Wasowicz-W, Gromadzinska-J, Slodowska-M, Cabalska-B: Red blood cell glutathione peroxidase activity as a function of selenium supplementation in dietary treated children with phenylketonuria. *Biomed. Biochim. Acta*. 1987; 46: 209-213

6.5 Lebenslauf

Persönliche Angaben

Vor- u. Zuname: Brigitte Welling
Straße: Hüfferstr. 40
Wohnort: 48149 Münster
geboren am: 11.07.1967
Geburtsort: Essen
Staatsangehörigkeit: Deutsch
Eltern: Wolfgang Welling und Cordula Welling, geb. Voß
Geschwister: Arnd Welling und Petra Schopp, geb. Welling

Schulbildung

1974-1978: Kath. Grundschule Essen-Borbeck
1978-1987: Städt. Mädchengymnasium Essen-Borbeck

Ehrenamtliche Tätigkeit

1987-1988: „Jahr für den Nächsten“ im Bistum Essen (Freiwilliges Soziales Jahr)

Universitätsausbildung

SS 1988-WS1996/97: Studium der Humanmedizin, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Juni 1997 : III. Staatsexamen (Ärztliche Prüfung), Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Dienstverhältnisse

01.12.1997-31.05.1999 : Ärztin im Praktikum,
Abteilung für Endokrinologie,
Medizinische Klinik und Poliklinik der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
01.10.1999-30.06.2000 : Ärztin,
Institut für Humangenetik und Anthropologie,
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
01.07.2000-31.12.2000 : Ärztin,
Klinik für Hämatologie, Onkologie und klinische Immunologie,
Medizinische Klinik und Poliklinik der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
seit 01.01.2001: Ärztin,
Institut für Humangenetik,
Westfälische-Wilhelms-Universität Münster

6.6 Abstract

Langzeitsupplementation von Phenylketonurie-Patienten mit anorganischen oder organischen Selenverbindungen - Veränderungen von Selen- und Glutathionperoxidase-Status in verschiedenen Körperkompartimenten

Brigitte Welling

Selen ist ein Bestandteil verschiedener Selenoproteine und Selenoenzyme. Kinder mit der Stoffwechselerkrankung Phenylketonurie (PKU) müssen krankheitsbedingt eine möglichst lebenslange Diät unter Aussparung der nutritiven Hauptselenträger durchführen, weshalb zwangsläufig bei ihnen eine Selenmangelernährung besteht. Auswirkungen einer therapeutisch langfristigen Selensupplementation bei PKU-Kindern sind bis heute noch nicht ausreichend untersucht worden, da bislang genauere Erkenntnisse zur Pharmakokinetik und möglichen toxischen Kumulation der verschiedenen Selenverbindungen im menschlichen Organismus fehlen.

Ziel dieser Dissertation ist es, die Veränderungen selenabhängiger hämatologischer Parameter (insbesondere Selen- und GSH-Px-Status) und weiterer klinisch-chemischer Parameter in verschiedenen Körperkompartimenten unter Langzeitsupplementation (270 Tage) mit niedrig dosierten anorganischen und organischen Selenverbindungen im Vergleich zu einem Placebo zu beobachten. Dabei sind vor allem die pharmakokinetischen Eigenschaften der verschiedenen Selenverbindungen und ihre relative Bioverfügbarkeit von besonderem Interesse.

Die Ergebnisse zeigen, dass eine niedrig dosierte Selensupplementation über 270 Tage je nach verwendetem Selenpräparat zu unterschiedlich starken Anstiegen der selenabhängigen Parameter und Glutathionperoxidaseaktivitäten in den verschiedenen Körperkompartimenten führt. Insgesamt zeigt sich bei der Gabe von organischem Selen ein deutlicherer Kumulationseffekt überwiegend ohne Plateaubildung, während unter anorganischer Selensupplementation ein geringerer Kumulationseffekt zu beobachten ist mit größtenteils Plateaubildung nach einer Supplementationsdauer von 3 bis 6 Monaten. Die relative Bioverfügbarkeit liegt dabei für das anorganische Natriumselenit je nach Parameter zwischen 22 % - 90 % im Vergleich zum organischen Selenomethionin.

Im Falle einer als notwendig erachteten therapeutischen Selensupplementation bei PKU-Kindern ist aufgrund der besseren pharmakokinetischen Steuerbarkeit die Supplementation mit anorganischem Natrium-selenit zu bevorzugen, da eine Langzeitsupplementation mit organischem Selenomethionin zu einer toxischen Kumulation führen kann. Insgesamt scheint eine prinzipielle Selensupplementierung von PKU-Kindern aufgrund der bei allen Probanden festgestellten klinischen Unauffälligkeit hinsichtlich bekannter Selenmangelsymptome nicht notwendig zu sein.



6.7 Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt Fr. Prof. emerit. Dr. med. I. Lombeck, ehemalige Leiterin des Stoffwechsellabors der Düsseldorfer Universitätskinderklinik, für die Überlassung des Promotionsthemas und für Ihre Unterstützung während meiner experimentellen Arbeit.

Besonderen Dank möchte ich Herrn Prof. Dr. med. vet. J. Abel, Leiter des Arbeitsbereichs Toxikologie am Institut für umweltmedizinische Forschung der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, für die Übernahme der Referentenstelle nach Emeritierung von Fr. Prof. emerit. Dr. med. I. Lombeck sowie für seine engagierte Korrekturlesung aussprechen.

Frau Prof. Dr. R. Kahl, Leiterin des Instituts für Toxikologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, und Ihren Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern danke ich sehr für die freundliche Einführung in die Methodik der GSH-Px-Messungen.

Herrn Dipl.-Math. Dr. D. Hafner, Akademischer Oberrat am Institut für Pharmakologie und Klinische Pharmakologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, möchte ich recht herzlich für die kontinuierliche Unterstützung bei allen mathematisch-statistischen sowie computertechnischen Fragestellungen danken.

Den Ärztinnen und Ärzten sowie dem Pflegepersonal der Poliklinik der Düsseldorfer Universitätskinderklinik gilt mein aufrichtiger Dank für die gute Zusammenarbeit hinsichtlich der Proben-gewinnung bei unseren jungen Phenylketonurie-Probanden.

Meinen Eltern, Geschwistern und Freunden möchte ich ganz herzlich für Ihre motivierende Unterstützung während meiner Promotionszeit danken.