

Vöröskittel és Csobánkittel

in Jm

Ph. D. értekezés tézisei

**Selenium, antioxidáns státus és
lipoproteinek juvenilis, insulin dependens
diabetes mellitusban**

Írta:

Dr. Cser Mária Ágnes

**Budapest
1998**

1. Előzmények és a kitűzött kutatási célok

A selenium (Se) humán medicinában betöltött szerepére vonatkozóan az elmúlt évtizedekben igen sok új felismerés történt. 1975-ben izolálták emberi vörösvérsejtekből a glutathion peroxidázt (GSH-Px), az első humán selenoenzimet. Ezzel igazolást nyert, hogy a Se esszenciális nyomelem az emberi testben. A Se selenocysteinként épül az enzyimbe, mint cystein analóg a kén helyét elfoglalhatja, a selenoproteinek glutathiont használhatnak a hydroperoxidok redukciójához. Ezen biokémiai tulajdonságok magyarázzák a Se szerepét szervezetünk oxidáció elleni védőrendszerében, synergista hatása az E vitaminnal, a szabad gyökök elleni védelemben.

Immunrendszerünk jó válaszképességének fenntartásában, a szív- és érrendszeri betegségek kialakulásának megelőzésében, a szövödmények feltartóztatásában, az ép pajzsmirigyünk működésben bizonyítottan szerepe van a Se státus milyenségének. A nyomelenek kutatási területén jelenleg a legtöbb figyelem a Se felé fordul a carcinogenesisben és tumor preventióban feltételezett pozitív, proektív hatásai miatt. Az a felismerés, hogy Se hiányban az addig avirulens kórokozó virulenssé válhat, új fejezetet nyitott a Se kutatások szükségességének indoklásában.

A humán Se státus geológiai környezettől függően széles skálát mutat Európa országainak egészséges lakosságában. A talaj Se tartalma kínálat a növények számára, a növények által hasznosított Se pedig kínálat a haszonállatok számára. A humán táplálkozási láncban mind a növényi, mind az állati eredetű elemiszter Se tartalma fontos.

Hazánk talajának Se tartalma alacsony, haszonállataink Se hiány tünetei miatt másfelé vízide a Magyar Takarmánytáblázat szerint Se pótlásban részesülnek.

A kitűzött kutatási célok abból a hypophesisből indultak ki, hogy a hazai geológiai, agrokémiai és táplálkozástudományi adatok alapján alacsony Se kínálat miatt a humán, véparaméterekben tükröződő Se ellátottság fellehetően alacsony. Egészségesek és diabetezesek Se és lipoprotein anyagcsere kapcsolatainak elemzésére szolgáltattak a következők:

1. Egészséges gyermek és felnőtt lakosság Se státusának vizsgálata három különböző földrajzi régióban.
2. Értrendszeri szövödmények miatt rizikó csoportba tartozó, insulin dependens diabetes mellitusban szenvedő gyermekek Se státusának elemzése, egészségességéhez és más országban élő diabetezes gyermekek értékeihez hasonlítása.
3. Antioxidánsok és a Se transportban feladatalt bíró lipoproteinek viselkedése közötti

- összefüggések vizsgálata.
- Szénhidrát alapú élelmiszereink Se tartalmának mérése.
 - Se bevitel, Se vér státus és vizelet Se ürítés mérése diabeteses és egészséges gyermekekben
 - Osztelasonlító Se mérések atomabsorptíós spectroscopia (AAS) és instrumentális neutron aktivációs analysis (INAA) módszerrel.

2. Vizsgált személyek és vizsgálati módszerek

2.1. Vizsgált személyek és minták

Egészséges, 161 Tatabányán, Budapestien és Kiskőrösön élő, 1-16 éves kori gyermeket, 147 tatabányai, 16-60 éves felnőtt és 16 német gyermeket, valamint 44 magyar és 18 német insulinnal kezelt, jó anyagsere állapotú diabeteses beteget vizsgáltam. Nyolc egészséges és nyolc diabeteses gyermeknel 24 órás étrend dokumentáció és 24 órás vizeletgyűjtés történt a Se bevitel és ürítés meghatározása céljából. 16 féléle élelmiszerminta Se tartalmának mérése a Se bevitel kiszámítása céljából történt.

2.2. Vizsgálati módszerek

A teljes vér-, plazma- és vizeletminták Se tartalmát hidrid generációs atomabsorptíós módszerrel mértem, melynek érzékenysége 1 ng/ml. Plazma- és élelmiszerminták Se koncentrációját ^{75}Se hosszú felezési idejű izotópot használva roncsolásmentes neutronaktivációs analitikai módszerrel végeztem, melynek érzékenysége 5-10 ng/g.

Mindkét módszer alkalmazásakor többféle, összesen 9 különböző referencia anyagot, valamint vér és plazma belső pool-t használtam. A glutathion peroxidáz aktivitását a plazmában Flohé és Günzler szerint, a vörösvérsejtekben Wendel módszerével végeztem négyféle belső pool alkalmazásával. A plazma lipideket Boehringer kit-ekkel, a retinol és tocopherol szinteket nagyinyomású folyadék-kromatográfiás HPLC módszerrel végeztem.

2.3. Statisztikai analysis

SPSSTM computer programmal páros és páratlan Student T testeket, Wilcoxon testeket, lineáris regressziós analysiseket végeztem.

3. Az új tudományos eredmények összefoglalása

3.1. Selenium státus egészséges magyar gyermekekben

- Vizsgálataink eredeti megfigyelések Magyarországon, melyekben hazánk három, földrajzilag különböző régiójának gyermek lakosságában első alkalommal történt a vörösvérsejt, teljes vér és plazma Se paraméterek, valamint vörösvérsejt és plazma glutathion peroxidáz enzimnek mérése egyidejűleg a Se státus reális megítélhetősége céljából.
- Az ország keleti részében lévő Kiskőrösön élő gyermek populáció vér paramétereinek Se koncentrációját alacsonyabban, mint a fővárosban vagy az ipartilag erősen szennyezett levegőjű Tatabányán élő gyermekeké.
- Mind a plazma mint a teljes vér Se tartalma az első 10 életévben a korrall egyenes arányban növekedést mutatott.
- A plazma glutathion peroxidáz aktivitása szintén életkor függő.
- A plazma Se tartalma és glutathion peroxidáz aktivitása között szoros lineáris összefüggést észleltünk. Hasonló megfigyeléseket csak Se hiányos talajú országokban figyelték meg, ahol alacsony a Se kinalat, emiatt alacsony a lakosság Se ellátottsága, mely tükröződik az alacsony vér Se státusban.
- A vörösvérsejtek Se koncentrációja és GSH-Px aktivitása között is összefüggés volt látható, kivéve a legalacsonyabb Se koncentrációkkal rendelkező Kiskőrösiekben. Ezen megfigyelés arra utal, hogy extrém alacsony vér Se paraméterek esetében a vörösvérsejti GSH-Px aktivitás maximális aktivitással próbál védekezni és a Se minden formáját biológiailag hasznostani igyekszik.
- Nemzetközi adatokhoz hasonlítva a magyar gyermekek Se státusa alacsony.

3.2. Selenium státus egészséges magyar felnőttekben

- Vizsgálataink eredeti megfigyelések, melyekben a felnőtt magyar lakosságra vonatkozólag első ízben történtek egyidejű vér Se paraméter és selenoenzym mérések a Se státus megítélése céljából.
- A felnőtt magyar lakosságban a vér Se paraméterek a korrall egyenes arányban emelkednek, 20-30 év között észlelhetők a legmagasabb értékek, majd fokozatos csökkenés tapasztalható. 50 év felett a gyermekekben észleltehez hasonló, igen alacsony szinteket mértünk.

3. A plazma glutathion peroxidáz aktivitása 20 éves korig növekedik, majd az 5. évtizedtől csökkenést mutat.
4. A plazma Se tartalma és a plazma GSH-Px aktivitása közötti szignifikáns, pozitív, lineáris correláció észlelhető az 1-60 éves magyar lakosságban, mely elegendően Se státusra utal.
5. A vörösvérsejtek Se koncentrációi és GSH-Px aktivitásai között szintén szignifikáns, pozitív, lineáris correlációt figyelünk meg a gyermek és felnőtt korú lakosságban, mely egyértelműen alacsony Se ellátottságra utal. Ilyen összefüggést csak Se-ben szegény földrajzi régiókban elő, alacsony Se státusú egyénekben figyeltük meg.

6. A magyar felnőtt lakosság vér Se paraméterei jelentősen alacsonyabbak, mint az európai átlag és hasonlítanak a geológiaiilag hozzánk közeli országokban élőkhöz, pl. az osztrákok, szlovákok értékeihez.
7. A magyar felnőttéiben mért GSH-Px aktivitások referencia értékeknek tekinthetők. Nemzetközi standardok hiányában és a kevés nemzetközi adat miatt külön figyelmet érdemelnek.
8. A reprodukció életkorban lévő nők vörösvérsejt GSH-Px aktivitásai magasabbak, mint az azonos korú férfiaké. Ez a tény arra utal, hogy a nőkben rizikó faktorként értékelendő az alacsony Se státus.

3.3. Selenium státus insulin dependens diabetes mellitusos gyermekekben

1. Diabetéses gyermekekben a vörösvérsejtek, a teljes vér és a plazma Se koncentrációi is magasabbak, mint az azonos korú egészséges gyermekekben mért értékek. Magyarországon ezek az első adatok diabetésesek Se státusára vonatkozóan.
2. Diabetésesekben a plazma GSH-Px aktivitás magasabb, mint az azonos korú nem diabetéses gyermekekben. A vörösvérsejt enzim aktivitás magasabb, mint egészségesekben, feltehetően magasabb esetszámmal szignifikáns lenne a különbség.
3. A magyar diabetéses gyermekekben észlelt magasabb vér Se paraméterek és GSH-Px aktivitásokhoz hasonlóan a jobb Se státussal rendelkező nem diabetéses gyermekekben ugyancsak magasabb értékeket mérünk, mint az egészséges német gyermekekben.
4. A plazma triglyceridek magasabbak, a HDL-cholesterin szintek alacsonyabbak voltak a diabetésesekben, mint az egészségesekben, megegyezően az irodalmi adatokkal.
5. Egészségesekben pozitív összefüggés van a plazma Se és cholesterolin valamint triglycerid szintek között, ilyen összefüggés a diabetésesekben nem észlelhető.

3

6. A plazma retinol szintje alacsonyabb, de az alpha és gamma tocopherol szintek magasabbak voltak a diabetésesekben, mint az egészséges gyermekekben.

7. A plazma antioxidánsok összességében magasabbak voltak a diabetéses gyermekekben, mint az egészségesekben, mely megállapítás részben megegyezik, részben ellentmond az irodalmi megfigyelésekben. A contradicció feltehetően az életkor és a jó egyensúlyban tartott betegség szoros figyelembe vételével nem észlelhető. Saját megfigyeléseink szerint jól beállított diabetéses beteg antioxidáns státusa jobb, mint a rossz anyagcseréjű betege.

3.4. Élelmiszereink Se tartalma

Gabonaféléink, lisztjeleink, kenyereink, tésztaféléink, cereáliáink Se tartalma alacsonyabb, mint sok európai államban mért értékek.

3.5. Se bevétel, Se vér státus és Se ürítés a vizelettel diabetéses és egészséges gyermekekben

1. A szénhidrát alapú élelmiszereinkkel történő Se bevétel magasabb a diabetésesekben, mint az egészséges gyermekekben, mert a diabetésesek szénhidrát fogyasztása magasabb.
2. Feltehetően a teljes napi Se bevétel is magasabb diabetésesben, mint egészségesben, mert a diabetésesek több fehérjét és szénhidrátot, de kevesebb zsírt fogyasztanak, mint az egészséges magyar gyermekek.
3. Dokumentált diéta fogyasztásakor is magasabb volt a diabetésesek Se státusa, azaz a vörösvérsejtek, teljes vér és plazma Se paraméterek valamint a vörösvérsejtek és plazma GSH-Px aktivitásai, mint az azonos korú egészséges gyermekeké.
4. A vizelettel ürülő Se mennyisége hasonló a diabetéses és egészséges gyermekekben.
5. Glucosuria és proteinuria növeli a selenuria mértékét.

4. Eredményeink gyakorlati használhatósága

1. A vizsgálati eredmények hiányokat pótolnak és eredeti megállapításokra engednek következtetni. Vizsgálatainkat megelőzően nem voltak adatok a magyar lakosság Se státusára vonatkozólag. A legfrissebb kutatási eredmények arra utalnak, hogy magas morbiditással és mortalitással járó betegségek, mint atherosclerosis és malignus tumороk preventióját és terápiáját pozitív irányban segíti a megfelelő Se státus. Adataink felhívják a magyar orvostársadalom figyelmét, hogy a preventív medicina gyakorlásakor nem feledkezhetünk el a Se státus vizsgálatáról.

6

2. Módszereket dolgoztunk ki és belső, hazai standard értékeket adtunk mind Se paraméterek, mind a glutathion peroxidáz aktivitások méréséhez.
3. Összehasonlító vizsgálatokat végeztünk a Se meghatározás INAA és AAS technikáinak alkalmazásával, erre vonatkozóan sem volt semmi korábbi eredmény hazánkban.
4. További vizsgálatok szükségesecek országunk minden geológiai régiójában élő lakosságának Se státusát illetően, melyek különösen fontosak a rizikó csoportok egészségének megtartása és számos betegség prevenciója érdekében.
5. A juvenilis korú diabetesesek Se statusa csak akkor ideális, ha jól vannak beállítva, sem jelentős glucosuria, sem proteinuria nem kíséri a betegséget. A szövődmények megelőzése céljából fontos a kielégítő Se státus fenntartása.
6. Eredményeink alapján megfelelő antioxidáns kapacitás csak helyes diéta alkalmazásával érhető el a diabetes mellitusban szenvedő gyermekekben.
7. Hazai élelmiszereink Se koncentrációjának meghatározása szintén hiánypótló, első mérések hazánkban. Ezeket a méréseket ki kell terjeszteni a jövőben. Ahogyan hazai használati állományunk rendszeres Se pótlásra szorul és Se pótlást kap, felmerül a humán substitúció szükségességének a kérdése is.

5. Az értékezés alapjául szolgáló publikációk

1. Bacsó J., Uzonyi J., Cser M.Á.: Correlations between hair bioelements and clinical parameters in Hungarian diabetic children ATOMKI Annual report 1989, pp. 76-77
2. Cser Á., J. Bacsó, I. Uzonyi: Correlations between hair bioelements and clinical parameters in Hungarian diabetic children Seventh International Symposium on Trace Elements in Man and Animals TEMA 7, Dubrovnik, 1990, May 20-25.
3. Soltész G., Madácsi L., Békéfi D., Dankó J., and the Hungarian Childhood Diabetes Epidemiology Group (incl. Cser Á.): Rising incidence of type 1 diabetes in Hungarian Children (1978-1987) *Diabetic Medicine*, 1990, 7, 111-114.
4. Cser Á., László-Sziklai I., Menzel H., Lombeck I.: Selen bei jugendlichen Diabetikern. In: Mengen und Spurenelementen Ed. Friedrich-Schiller Universität Jena, Leipzig, Düsseldorf, Gebrüder Müller GmbH, Sachsen 1991, pp. 1-8.
5. László-Sziklai I., Cser Á., Lombeck I.: Determination of selenium in biological materials by NNA. 33. IUPAC Congress Budapest 1992. Book of abstracts pp. 1088
6. Sziklai L.I., Cser Á., Lombeck I.: Analytical procedure for selenium determination in biological materials by NNA "3-rd International Conf. on Nuclear and Radiochemistry" Book of Abstract 1992, pp. 54.
7. Cser M.Á., Sziklai-László I., Menzel H., Lombeck I.: Elevated selenium and glutathione peroxidase activities correlate with HDL-cholesterol and triglycerides in juvenile diabetics. Fifth International Symposium on Selenium in Biology and Medicine. 20-23 July 1992, Nashville, Tennessee, USA, Book of Abstracts, pp. 127.
8. Cser Á., Sziklai-László I., Menzel H., Lombeck I.: Selen status egészséges gyermekekben és felnőttekben. (Selenium status in healthy children and adults) III. Környezeti Ártalmak és Környezetegészségügyi Következmények Konferencia (III. Hungarian Conference on Environmental Harms and their Consequences on Health) Tata, Hungary 1993, in: Környezeti Ártalmak és a légzőrendszer. III. Kötet, pp. 12-17.
9. Sziklai László I., Cser Á., Rausch H., Lombeck I.: Nyomelemek a környezetben és az emberi szervezetben (Trace elements in the environment and in the human). III. Környezeti Ártalmak és Környezetegészségügyi Következmények Konferencia (III. Hungarian Conference on Environmental Harms and their Consequences on Health) Tata, Hungary 1993, in: Környezeti Ártalmak és a légzőrendszer. III. Kötet pp. 306-313.
10. Cser Á., Sziklai-László I., Menzel H., Lombeck I.: Selenium status and lipoproteins in healthy and diabetic children. J Trace Elem. Electrolytes Health Dis. 1993, 7, 205-210.
11. Sziklai-László I., Cser Á., Lombeck I.: Selenium determination in biological materials by NAA. J. Radioanal. and Nuclear Chemistry 1995, 190, 23-30.
12. Cser Á., Sziklai-László I., Menzel H., Lombeck I.: Selenium status és lipoproteinek egészséges és diabeteses gyermekekben. *Legge Artis Medicinae* 1995, 9, pp. 708.
13. Cser M.Á., Sziklai-László I., Menzel H., Lombeck I.: Selenium, glutathione peroxidases in healthy Hungarians: Selenium content of basic food ingredients. Abstract book of the Sixth International Symposium on SELENIUM in Biology and Medicine, 18-22, August 1996 Peking, China, pp. 47.

14. Sziklai-László I., Cser Á., Lombeck I.: Determination of selenium in blood and food samples from Hungary by AAS and INAA. Abstract book of the 4-th International Conference on Nuclear and Radiochemistry, 8-13 September 1996, St. Malo, France Vol.2. pp11-14.
15. Cser M.Á., Sziklai-László I., Menzel H., Lombeck I.: Selenium and glutathione peroxidase activity in Hungarian children. *J.Trace Elem. in Medicine and Biology* 1996, 10, 167-173.
16. Cser Mária Ágnes, Sziklai-László Ipolya, Menzel Helmut, Lombeck Ingrid: Szelen és glutathion peroxidázok egszsséges gyermekekben és felnöttekben. (Selenium and glutathione peroxidases in healthy Hungarian children and adults) Gyermekgyógyászat (Paediatrics, Hungarian language with English abstract), 1996, 47 (No.5) 384-394.
17. Sziklai-László I., Cser M.Á., Lombeck I.: Determination of selenium in blood and food samples from Hungary by AAS and INAA. *J. Radioanal. and Nuclear Chemistry*, 1998 in press
18. Cser M.Á.: A selenium (Se) nyomelemről, a magyar lakosság Se ellátottságáról (Selenium (Se), a trace element, selenium status of the Hungarian population. *Nestlé Magazin*, 1997 II.3. 2-3.
19. Cser M.Á.: A selenium (Se) nyomelemről, a magyar lakosság Se ellátottságáról (Selenium (Se), a trace element, selenium status of the Hungarian population. *A házi Gyermekorvosok Országos Érdekvédelmi Egyesületének Lapja* (Journal of the Association for the Protection of Family Paediatricians. *Vezetéck* (Leading article) 1997 II.3. pp.10.
20. Cser M.Á., Sziklai-László I., R. Snyder.: Selenium (Se) intake, blood status and urinary Se excretion in diabetic and healthy Hungarian children. 16-th International Congress of Nutrition. Montreal, Canada , 27-31 July 1997, Abstract Book pp. 227.
21. Cser M.Á., Sziklai-László I.: A szelen szerepe a humán medicinában (The role of selenium in the human medicine. In: Book on the First Selenium Congress in Hungary. eds.: Cser, Sziklai-László Frag.BT., Budapest 1998, pp 28-45.
22. Sziklai-László I., Cser M.Á.: Szelen meghatározás neutron aktivációs analízissel, egyéb módszerekkel biológiai mintákban (Selenium determination by instrumental neutron activation analysis and other methods in biological samples). In: Book on the First Selenium Congress in Hungary. eds.: Cser, Sziklai-László Frag.BT., Budapest, 1998, pp 63-78.
23. Cser M.Á., Sziklai-László I., R. Snyder: Selenium bevitel, vér status és selenium ürítés juvenilis, insulin diabetes diabetes mellitusban. Hungarian Diabetes Society, Annual Congress, 17-19 April, 1998 Eger. Abstract book. pp. 35.
24. Cser M.Á., Sziklai-László I. Menzel H., Lombeck I.: Szelen és glutathion peroxidáz aktivitás magyar gyermekben (Selenium and glutathione peroxidase activity in Hungarian children) *Lege Artis Medicinæ*, 1998, 5. pp.280.
25. Sziklai-László I., Cser M.Á.: Evaluation of selenium content of food, infant formulas and human milk samples from Hungary by INAA. *Journal of the Royal Society for Chemistry*, 1999 in press.
26. Cser M.Á., Sziklai-László I., Laryea M.D., Lombeck I.: Antioxidant status of insulin dependent diabetics. *Journal of the Royal Society for Chemistry*, 1999 in press.