

Aus dem Institut für Experimentelle Endokrinologie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Die Bedeutung von Selen bei Endokriner Orbitopathie

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Nora Dehina

aus Köln

Datum der Promotion: 22.06.2014

**Für Zoubida Dehina, in liebevoller Erinnerung**

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Abstrakt und Abstract</b>	6 - 7
1.1	Zielsetzung der Arbeit	8
1.2	Vorgehensweise	8 – 9
1.3	Hypothese	9
<b>2</b>	<b>Einleitung</b>	
<b>2.1</b>	<b>Morbus Basedow und Endokrine Orbitopathie</b>	
2.1.1	Definition	10
2.1.2	Epidemiologie	10 – 11
2.1.3	Physiologie der Schilddrüse	11 – 12
2.1.4	Pathophysiologie des Morbus Basedow und der Endokrinen Orbitopathie	12 – 14
2.1.5	Klinik	15 – 17
2.1.6	Differentialdiagnosen und Diagnostik	17 – 18
2.1.7	Bisherige Therapie und Verlauf	19 – 22
<b>2.2</b>	<b>Das Spurenelement Selen</b>	
2.2.1	Definition	22
2.2.2	Bedarf und Vorkommen	22 – 24
2.2.3	Stoffwechsel der Selenverbindungen im menschlichen Körper	24 – 27
2.2.4	Die Bedeutung von Selen für die Gesundheit	27 – 29
2.2.5	Die Bedeutung des Transportproteins Selenoprotein P	29 – 30
2.2.6	Forschungsergebnisse zur Selensubstitution bei Hashimoto Thyreoiditis	30 – 32
<b>2.3</b>	<b>Selenoprotein P- Gehalt bei Patienten mit Endokriner Orbitopathie</b>	
2.3.1	Forschungsergebnisse zur Bedeutung von Selen bei Patienten mit endokriner Orbitopathie	32 – 33
<b>3</b>	<b>Material und Methoden</b>	
3.1	Patientenkollektiv	33 – 37
3.2	Quantitative Selenoprotein P Bestimmung	38 – 39
3.3	Quantitative Selenbestimmung	39 – 40
3.4	Datenauswertung und Statistik	40
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b>	
4.1	Selenoprotein P-Ergebnisse	41 – 42

4.2 Selen-Ergebnisse	43 – 44
4.3 Korrelation zwischen Selen und SePP	44 – 45
<b>5 Diskussion</b>	45 – 53
<b>6 Literaturverzeichnis</b>	54 – 59
<b>7 Eidesstattliche Versicherung</b>	60
<b>8 Lebenslauf und Publikationsliste</b>	60 - 61
<b>9 Danksagung</b>	62

## Abkürzungsverzeichnis

Ak	Antikörper
CAS	Clinical Activity Score
CRP	C-reaktives Protein
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
EO	Endokrine Orbitopathie (Graves' Orbitopathie)
GD	Graves' disease
GO-QOL	Graves' orbitopathy–specific quality-of-life questionnaire
GPCR	G-Protein- gekoppelter Rezeptor
IFN	Interferon
IGF-1	Insulin-like Growth Factor 1
IL	Interleukin
i.v.	intravenös
mRNA	messenger-Ribonukleinsäure
p.o.	per os
Sec	Selenocystein
SeMet	Selenomethionin
SePP	Selenoprotein P
TBG	Thyroxin-bindendes Globulin
TNF	Tumornekrosefaktor
TPO	Thyreoperoxidase
TRAK	TSH-Rezeptor Antikörper
TRH	Thyrotropin-Releasing Hormon
tRNA	transfer-Ribonukleinsäure
TSH	Thyroidea stimulierendes Hormon
TTR	Transthyretin
TRFA	Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse
T <sub>3</sub>	Trijodthyronin
T <sub>4</sub>	Thyroxin

## 1 Abstrakt

Morbus Basedow ist eine Autoimmunerkrankung, die sich in einer Schilddrüsenüberfunktion, einem Struma und in der Hälfte der Fälle in einer, für diese Erkrankung pathognomonischen Augenbeteiligung, der endokrinen Orbitopathie (EO), äußert. Bei der EO kommt es aus noch nicht gänzlich ergründeten Ursachen zu einer Entzündung des Auges und des umgebenden Gewebes. Folge dessen sind unter anderem das Hervortreten des Auges, Doppelbilder und Oberlidverkürzungen.

Selen ist ein essentielles Spurenelement und muss über die Nahrung aufgenommen werden bevor es als Bestandteil der Aminosäure Selenocystein in die jeweiligen Selenoproteine eingebaut wird. Die Versorgung mit Selen ist von dem Bodengehalt der jeweiligen Region abhängig. In Europa sind die Boden größtenteils selenarm.

Die Selenoproteine spielen eine entscheidende Rolle in der Reduzierung oxidiertes Metabolite, darüberhinaus wird ihnen eine immunmodulierende Wirkung zugesprochen. In mehreren vorangegangenen Untersuchungen, unter anderem beim Morbus Basedow und der Hashimoto Thyreoiditis, konnte durch die zusätzliche Einnahme von Selen ein gesundheitlicher Nutzen abgeleitet werden.

Der vorliegenden Arbeit lag die Hypothese zugrunde, dass eine schwer verlaufende EO einen zunehmenden Selenmangel bedingt, und somit der Selenstatus von EO Patienten negativ zu ihren Erkrankungsparametern wie Schwere oder Aktivität der Erkrankung korreliert.

Zur Erfassung des Selenstatus der vier Untergruppen (Probanden mit milder-, schwerer-, inaktiver- und aktiver-EO) wurde jeweils das Transportprotein Selenoprotein P (SePP) mittels Sandwich-ELISA und Selen mittels einer Röntgen-Fluoreszenzmethode gemessen. Es konnte weder ein Unterschied im Selenstatus zwischen milder und schwerer noch zwischen inaktiver und aktiver EO nachgewiesen werden. Allerdings lassen unsere Ergebnisse vermuten, dass die Probanden einen tendenziell niedrigeren Selengehalt als die bereits unterversorgte europäische Bevölkerung aufweist.

Aufgrund bereits durchgeführter Studien zur Selensubstitution bei Morbus Basedow und EO, welche einstimmig einen Nutzen verzeichnen konnten, sollte das Einsetzen dieses lange umstrittenen Spurenelementes bei milder EO stets erwogen werden.

## **Abstract**

Graves` disease (GD) is a disease that leads to hyperthyroidism , goiter and in half of GD patients to Graves` Ophthalmopathy (GO). GO is characterized by inflammation and swelling of the orbital tissue. Main symptoms are exophtalmos and double vision.

Selenium (Se) is an essential trace element and is incorporated as selenocystein (Sec) in selenoproteins. Selenium values in food and soil are very inconsistent. European soils are mostly poor in Se. Selenoproteins play an indispensable role in oxidative defense. Furthermore they have an impact on the immune response. Several Studies have shown a beneficial effect by Se supplementaion in hashimoto disease, GD and in mild GO.

Our objective was to test the hypothesis that Se status is assoicated with GO and that it declines with severity and clinical activity. Se and Selenoprotein P (SePP) were retrospectively determined. Se was determined by a fluometric method and SePP by a sandwich ELISA in 42 patients with mild and 44 with severe GO. Se and SePP were matched with severity (NOSPECS) and clinical activity (CAS). We found that Go severity and activity do not directly affect serum Se status.

## **1.1 Zielsetzung der Arbeit**

Morbus Basedow, im englischen Sprachraum häufig als Graves' Disease (GD) bezeichnet, ist eine Autoimmunerkrankung, welche die Schilddrüse und häufig zusätzlich die Augen und ggf. das Schienbein betrifft. Es führt aufgrund einer Fehlleitung des Immunsystems zu einer Stimulation der Schilddrüse durch stimulierende Autoantikörper gegen den TSH-Rezeptor (TRAKs) und somit zu den Symptomen einer Hyperthyreose. Bei Augenbeteiligung spricht man von der sogenannten Endokrinen Orbitopathie (EO), welche sich durch ein Hervortreten des Augapfels (Exophthalmus) bemerkbar macht. Zum heutigen Zeitpunkt ist weder eine kausale Therapie der Hyperthyreose noch der EO bekannt.

Bei einer anderen Autoimmunerkrankung der Schilddrüse, der sog. Hashimoto Thyreoiditis, werden ebenfalls Autoantikörper nachgewiesen, häufig sowohl gegen die Thyreoperoxidase (TPO) als auch gegen das Thyreoglobulin (Tg) des Kolloids; TRAKs finden sich bei der Hashimoto Thyreoiditis gewöhnlich nicht. Mehrere Studien aus dem Jahr 2002 und 2003 haben nach oraler Einnahme der Spurenelementes Selen (Se) bei der Hashimoto Thyreoiditis einen reduzierenden Effekt auf die Autoantikörperkonzentrationen und die Krankheitsaktivität belegen können. Einige Studien konnten auch bei Basedow Patienten einen Nutzen durch Selensubstitution feststellen. Vor diesem Hintergrund stellt sich die Frage ob die Basedow Patienten einen niedrigeren Selenstatus haben und ob das Selendefizit mit dem Schweregrad korreliert.

Um dieser Frage nachzugehen, haben wir uns zum Ziel gesetzt, den Selengehalt von Patienten mit unterschiedlich schwerer EO zu bestimmen und miteinander zu vergleichen. Es handelt sich bei der vorliegenden Dissertation um eine experimentell-wissenschaftliche Arbeit, die im Zeitraum vom Februar 2008 bis Juni 2011 am Institut für Experimentelle Endokrinologie der Charité-Universitätsmedizin Berlin erstellt wurde.

## **1.2 Vorgehensweise**

In dieser Dissertation wird der Frage nachgegangen, ob Patienten mit einer milden EO einen von Patienten mit schwerer EO abweichenden Selengehalt aufweisen. Um diese Frage zu erörtern, werden im Kapitel 2.1 die Krankheitsbilder Morbus Basedow und EO erklärt. Im genaueren wird auf die Definition, die Physiologie und Pathophysiologie der



Schilddrüse, die Epidemiologie sowie auf die Symptome, die Diagnostik und die Therapiestandards dieser Erkrankungen eingegangen.

Die Bedeutung des Spurenelementes Selen wird im Kapitel 2.2 erklärt. Dazu wird als erstes das Vorkommen von Selen in Böden, Pflanzen und Nahrungsmitteln beschrieben, um anhand dieser Informationen den Selenstatus der deutschen Bevölkerung im internationalen Vergleich zu erklären. Ferner wird auf den komplexen Stoffwechsel und die potentielle Toxizität dieses essentiellen Spurenelementes eingegangen. In unseren Messungen haben wir auch das Transportprotein von Selen, das Selenoprotein P (SePP), als weiteren Biomarker des Selenstatus, bestimmt und analysiert. Im Kapitel 2.2.3 wird der Stoffwechsel dieses Proteins beschrieben und erklärt, warum sich gerade der Serum SePP-Wert gut als Indikator für den Selenstatus eines Menschen eignet. Schließlich werden die Studienergebnisse zusammengefasst, die bei der Selensubstitution von Hashimoto-Thyreoiditis Patienten unter Einnahme von Selenpräparaten gewonnen wurden.

Das dritte und vierte Kapitel widmen sich dem experimentellen Teil der Recherchen. Dazu werden vorab einige Forschungsergebnisse zur Bedeutung von Selen bei Morbus Basedow und EO vorgestellt. Im anschließenden Kapitel „Material und Methoden“ werden zunächst die Auswahl und die Eigenschaften unseres Patientenkollektives erläutert. Im Folgenden werden sowohl die Messmethoden des ELISA-Assays zur SePP- Bestimmung, als auch die Methode zur Selenmessung, erläutert. Im Kapitel 4 werden schließlich die Ergebnisse der SePP- und Selen-Messungen der Patienten mit milder- und schwerer EO aufgezeigt und miteinander verglichen. Abschließend werden die Ergebnisse im Kapitel 5 diskutiert und die Selensubstitution von Schilddrüsenpatienten kritisch hinterfragt.

In der vorliegenden Arbeit wird der Begriff „Patient“ geschlechtsneutral, also für männliche Patienten wie weibliche Patientinnen gleichermaßen eingesetzt.

### **1.3 Hypothese**

Die Messungen dieser Arbeit unterlagen zum einem der Hypothese, dass ein schlechter Selenstatus eine schwer verlaufende EO begünstigen könnte und somit der Selenstatus von Patienten mit schwerer bzw. aktiver EO niedriger ist.

Ferner gingen wir von der Möglichkeit aus, dass die schwere EO einen erhöhten Selenverbrauch und dadurch ein Selendefizit hervorrufen kann.

## **2 Einleitung**

### **2.1 Morbus Basedow und Endokrine Orbitopathie**

#### **2.1.1 Definition**

Mitte des 19. Jahrhunderts beschrieben etwa zeitgleich in Deutschland der Merseburger Arzt von Basedow sowie in England Dr. R.J. Graves das gemeinsame Auftreten von Exophthalmus, Struma und Tachykardie, welches die typische Symptomtrias bei der autoimmunen Schilddrüsenüberfunktion darstellt und somit im deutschen Sprachraum als Merseburger Trias bezeichnet wird (Classen & Diehl, 2004). Beim Morbus Basedow handelt es sich um eine Autoimmunkrankheit, bei welcher typischerweise stimulierende TSH-Rezeptor Autoantikörper die Schilddrüse besetzen und somit zu einer Schilddrüsenvergrößerung und Überfunktion führen. Bei einer Schilddrüsenüberfunktion besteht ein Überschuss an Schilddrüsenhormonen, welche sich an verschiedenen Organen in Form eines Hypermetabolismus bemerkbar machen (Cooper, 2003).

Bei etwa 50% der Patienten mit autoimmuner Schilddrüsenüberfunktion kommt es ebenfalls zu einer entzündlichen Veränderung der Augen, welche als endokrine Orbitopathie bezeichnet wird. Diese pathognomonische Entzündung, deren Entstehung noch nicht vollständig geklärt ist, kennzeichnet sich v.a. durch ein Hervortreten des Augapfels (Exophthalmus) (Bahn, 2010).

#### **2.1.2 Epidemiologie**

Der Morbus Basedow stellt die weltweit häufigste Ursache einer Schilddrüsenüberfunktion dar (Khoo & Bahn, 2007), genauer gesagt sind es etwa 60-80% aller Hyperthyreosen (Weetman, 2000). Die Prävalenz der Autoimmunen Schilddrüsenüberfunktion ist allerdings regional unterschiedlich, es wird aber vermutet, dass eine hohe Jodversorgung, wie z.B. in den USA, mit einem erhöhten Vorkommen der Erkrankung verknüpft ist. Hingegen ist Deutschland ein Jodmangelgebiet, so dass hier zu Lande autonome Schilddrüsenknoten, welche unabhängig vom Schilddrüsenregelkreislauf Hormone produzieren, die häufigste Ursache für eine Hyperthyreose darstellen (Werner & Ingbar, 2000). Wie bei den meisten Autoimmunerkrankungen, sind auch beim Morbus Basedow Frauen häufiger betroffen, Männer erkranken ca. zehnmal seltener. Die Lebenszeitinzidenz für Frauen, an einem M.

Basedow zu erkranken, liegt bei bis zu 2%, wobei der Beginn meist zwischen dem 20. und 50. Lebensjahr liegt (Wirsinga & Bartalena, 2002).

### **2.1.3 Physiologie der Schilddrüse**

Zur Synthese der Schilddrüsenhormone Trijodthyronin ( $T_3$ ) und Thyroxin ( $T_4$ ) ist die Aufnahme von Jodid aus dem Blut in die Epithelzellen der Schilddrüse, die Thyreozyten, erforderlich. Im Lumen der Follikel befindet sich eine hohe Konzentration von Thyreoglobulin (Tg), welches Tyrosinreste zur Jodierung enthält. Durch die Thyreoperoxidase (TPO), welche an der apikalen Membran der Thyreozyten lokalisiert ist, wird die Mono- und Di-Iodierung von bestimmten Tyrosinresten des Tg katalysiert. Die Vorstufen der Schilddrüsenhormone, die Mono- und Dijodtyrosine, werden schließlich ebenfalls von der TPO verknüpft, so dass die Tg-gebundenen Schilddrüsenhormone  $T_3$  und  $T_4$  entstehen. Nach pinozytischer Aufnahme in die Thyreozyten und der intrazellulären Proteolyse des Tg werden schließlich  $T_4$  und  $T_3$  freigesetzt und können an das Blut abgegeben werden.

Die Familie der selenabhängigen Dejodasen besteht aus drei Isoenzymen (Typ I bis III). Diese Selenoenzyme sind in der Lage,  $T_4$  oder  $T_3$  zu dejodieren. Hierbei entsteht aus dem biologisch wenig aktiven  $T_4$  Prohormon das  $T_3$  als eigentlich aktives Schilddrüsenhormon. Im Blut werden  $T_4$  und das in ca. 40-fach geringerer Konzentration vorliegende  $T_3$  zu mehr als 99% an Schilddrüsenhormontransport-Proteine, wie das Thyroxin-bindende-Globulin (TBG), Transthyretin (TTR) und Albumin, gebunden und transportiert. Man nimmt an, dass lediglich die ungebundenen, freien Schilddrüsenhormone der Zielzelle zur Verfügung stehen, so dass  $T_3$ , welches eine geringere Bindungsaffinität zu den oben genannten Transportproteinen besitzt, eine größere biologische Wirksamkeit aufweist (Dietel & Zeitz, 2009).

Die Ausschüttung der Schilddrüsenhormone in die Blutbahn unterliegt einer präzisen Steuerung durch Hormone des Hypothalamus und der Hirnanhangsdrüse, der Hypophyse. Das Thyreotropin Releasing Hormon (TRH) entstammt dem Hypothalamus und fördert die Ausschüttung des Thyreotropins (TSH, Thyreoideastimulierendes Hormon) aus der Hypophyse (Lang & Schmidt, 2007).

TSH reguliert die Schilddrüsenfunktion über einen transmembranären, G-Proteingekoppelten Rezeptor (GPCR). Bindet TSH an diesen Rezeptor, kommt es über eine

Aktivierung der Adenylatzyklase durch ein  $G_{\alpha s}$  zu einer vermehrten cAMP Produktion und über ein  $G_{q11}$  Protein zur Aktivierung der Phospholipase C. Diese Aktivierungen führen zum Wachstum der Schilddrüse und zur Ausschüttung der Schilddrüsenhormone. Liegt ein hoher Spiegel an Schilddrüsenhormonen im Blut vor, wirkt dieser wiederum hemmend auf die Ausschüttung von TRH und TSH (negative Feedback-Regulation), so dass im Normalfall der  $T_4$  und  $T_3$  Serum-Spiegel relativ konstant gehalten wird (Dietel & Zeitz, 2009).

Die zelluläre Wirkung der Schilddrüsenhormone äußert sich generell und in allen Organsystemen durch eine Aktivierung des Stoffwechsels und führt somit zu einem erhöhtem Sauerstoffverbrauch, einer erhöhten Wärmeproduktion und einer Steigerung des Grundumsatzes (Classen & Diehl, 2004).

#### **2.1.4 Pathophysiologie der Autoimmunen Hyperthyreose und der Endokrinen Orbitopathie**

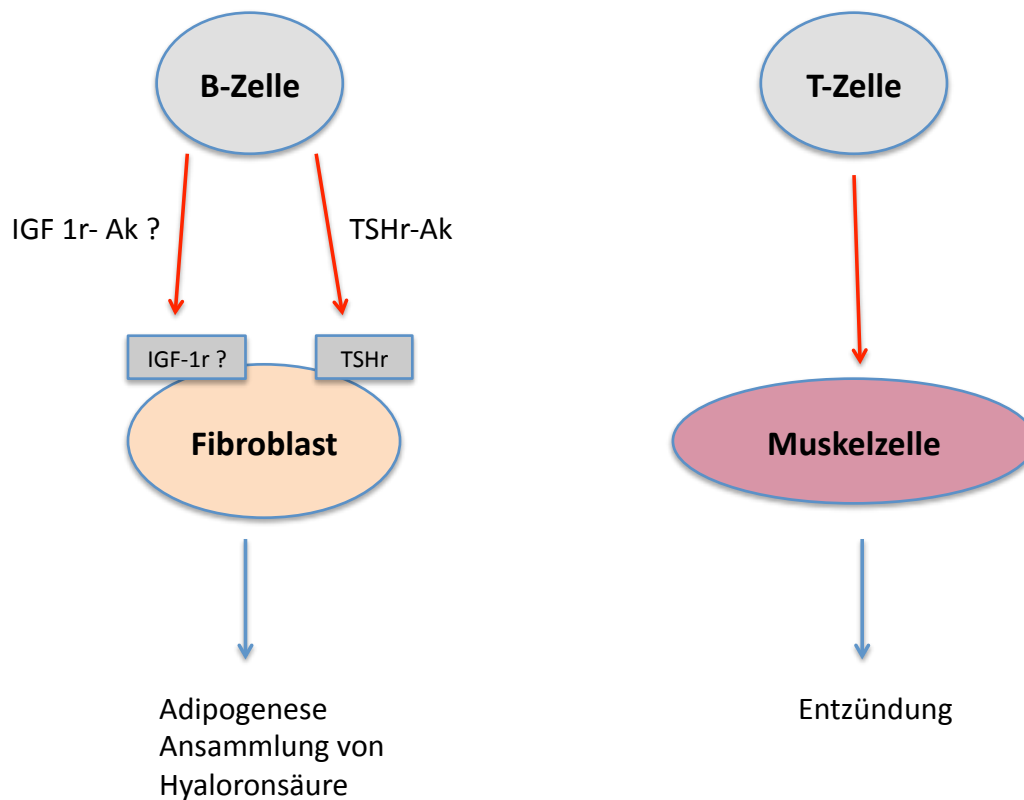
In Kapiteln 2.1.3 wurde beschrieben wie die Schilddrüse im Regelfall funktioniert und wie der Schilddrüsenhormonspiegel bei gesunden Individuen gesteuert und konstant gehalten wird. In diesem Kapitel wird erklärt, wie es dazu kommt, dass der Regelkreis der Schilddrüsenhormonsynthese aus dem Gleichgewicht gerät und als Folge dessen Symptome der Schilddrüsenüberfunktion auftreten. Die Ursache für die Entstehung eines Morbus Basedow ist, wie bei vielen autoimmunen Erkrankungen, als multifaktoriell anzusehen. Es spielen neben genetischen Faktoren auch Umweltfaktoren eine entscheidende Rolle. Erstaunlicherweise ist das Zigarettenrauchen nur ein geringer Risikofaktor für den M. Basedow allerdings ein sehr bedeutender Risikofaktor für Basedow-Patientinnen zusätzlich eine EO zu entwickeln (Prummel & Wirsinga, 1993). Pfeilschifter et al. konnten sogar zeigen, dass eine direkte Dosisabhängigkeit besteht (Pfeilschifter & Ziegler, 1996).

Womöglich sind eine unspezifischen T-Zell-Supprimierung und Verminderung der T-Killer-Zellen aufgrund von Nikotin für diesen Zusammenhang verantwortlich (Costenbader & Karlson, 2006).

Wie es letztendlich zu der Schilddrüsenüberfunktion und den Augenveränderungen kommen könnte, wird im folgendem Abschnitt erklärt.

Für den hyperthyreoten Stoffwechsel beim Morbus Basedow sind Immunglobuline, die auf die Schilddrüse stimulierend wirken und somit die Synthese der Schilddrüsenhormone steigern, verantwortlich. Diese Immunglobuline werden sowohl in der Schilddrüse selbst als auch im Knochenmark und in Lymphknoten gebildet und entstehen als Folge eines Toleranzdefektes der Lymphozyten. Aus noch unbekannter Ursache vermehren sich B- bzw. T-Lymphozyten-Klone und führen zu unerwünschten Immunreaktionen an der Schilddrüse. Im Falle des Morbus Basedows entstehen hauptsächlich B-Lymphozyten-Klone, welche mit den TSH-Rezeptoren auf der Oberfläche der Thyreozyten reagieren und diese zu Wachstum und Produktion von Hormonen stimulieren (Classen & Diehl, 2004). Diese zur Hyperthyreose führenden Auto-Antikörper werden als stimulierende TSH-Rezeptor-Antikörper, kurz TRAK, bezeichnet.

Die molekularen Ursachen zur Entstehung der endokrinen Orbitopathie sind noch nicht abschließend geklärt, fest steht jedoch, dass es sich bei diesem Phänomen um eine Entzündungsreaktion handelt. Die Entzündung führt dazu, dass das Gewebe hinter den Augäpfeln (Retroorbitalgewebe) durch vermehrte Adipogenese, Glykosaminoglykan-Produktion und einer Hypertrophie der äußeren Augenmuskeln zunimmt und es somit zu Raumforderung, ggf. Asymmetrie und Exophthalmus kommt (Gianoukakis & Smith, 2008). Die Lokalisation der Entzündung kann evtl. dadurch erklärt werden, dass das Retroorbitalgewebe, welches aus Muskeln, Fett, Bindegewebe und extrazellulär Matrix besteht, empfindlicher als andere Gewebe auf Entzündungsmediatoren wie Interferon-gamma (IFN-g), Tumornekrosefaktor-alpha (TNF-a) und Interleukin 1beta (IL-1b) zu reagieren scheint. Zahlreiche Hinweise lassen vermuten, dass im Retroorbitalgewebe ein Antigen exprimiert wird, welches dem TSH-Rezeptor der Schilddrüse ähnelt bzw. tatsächlich der TSH-Rezeptor ist, und somit bei Anwesenheit des Immunglobulin TRAK mit Wachstum reagiert; weiterhin wird kontrovers diskutiert, ob die Stimulierung von IGF-1 Rezeptoren an der Pathogenese beteiligt ist (Morshed & Latif, 2009) (Minich, Dehina, Welsink, 2013)



### Abb. 1

#### Pathogenese der Endokrinen Orbitopathie nach (Khoo & Bahn, 2007).

IGF 1r-Ak: Insulin-like-Growth-Faktor 1 Rezeptor Antikörper

TSHr-AK: Thyreoidea-stimulierendes Hormon Rezeptor Antikörper

Die Abbildung zeigt vereinfacht, wie es zur Zunahme des Fett- und Bindegewebes sowie zur Hypertrophie der Muskelzellen im Retroorbitalgewebe kommt. Vermutlich sind die Fibroblasten Angriffsort für die Auto-Ak. Die Anwesenheit von TSH-Rezeptoren auf Fibroblasten im Retroorbitalgewebe konnte nachgewiesen werden. Kontrovers diskutiert wird hingegen, ob auch IGF1-Rezeptoren vorhanden sind und somit für die Gewebszunahme mitverantwortlich sind.

Durch die Stimulierung der Fibroblasten kommt es zur vermehrten Adipogenese und erhöhten Produktion von Hyaluronsäure. Letztere bindet Wasser und bewirkt die Anschwellung des Gewebes. Dies führt so zum Exophthalmus und im schlimmsten Fall zu Kompression des Sehnervs. Untersucht man das Retroorbitalgewebe von EO-Patienten, so findet man in erster Linie eine erhöhte Konzentration von Zytokinen, welche über Chemotaxis zu einer weiteren Einwanderung von T-Zellen führt (Khoo & Bahn, 2007).

### 2.1.5. Klinik

Selbstverständlich ist die Symptomatik bei autoimmuner Hyperthyreose vielfältig und abhängig von Faktoren wie Alter, Schweregrad und individueller Empfindlichkeit gegenüber dem Schilddrüsenhormonexzess. In diesem Zusammenhang ist zu erwähnen, dass sich die Symptome der Schilddrüsenüberfunktion insbesondere bei älteren Menschen sehr diskret,

z.B. lediglich im Sinne von anhaltender Müdigkeit äußern können (Knudson, 1995). Im folgenden Kapitel wird in erster Linie das klassische klinische Bild der Basedow-Krankheit dargestellt. Wie bereits im Kapitel 2.1.3 „Physiologie der Schilddrüse“ erwähnt wurde, führt ein Überangebot an Schilddrüsenhormonen, zu einem Hypermetabolismus, das heißt, auf mehreren Ebenen arbeitet der Organismus unökonomisch auf Kosten eines hohen Sauerstoffverbrauchs und einer gesteigerten Wärmeproduktion. Letzteres erklärt, dass Patienten mit einer Hyperthyreose trotz ausgeprägtem Appetit Gewichtsverluste vermerken. Desweiteren sind die Patienten angespannt, nervös und hyperaktiv, was wiederum zu Schlafstörungen und Erschöpfung führt. Der hypermetabolische Zustand äußert sich weiterhin in einer Wärmeunverträglichkeit und einer warmen und feuchten Haut. Bei der neurologischen Untersuchung sind, neben dem typischen feinschlägigen Tremor, welcher an ausgestreckten Fingern gut sichtbar ist, überschießende Reflexe nicht selten (Cooper, 2003).

Weiterhin ist es von Bedeutung, bei den Patientinnen auch kardiologische Symptome im Sinne von Palpitation, Extrasystolen und Herzrasen zu erfragen. Ein EKG sollte in jedem Fall durchgeführt werden, da insbesondere Basedow-Patienten über dem 50. Lebensjahr häufig ein Vorhofflimmern entwickeln, welches ein wesentlicher Risikofaktor für Schlaganfälle und andere embolische Ereignisse darstellt (Shimizu, Koide, & Noh, 2002). Dünner werdendes Haar bis hin zur Alopezie, die in ca. 40% der Fälle eintritt, stellt ein häufiges kosmetisches Problem dar. Ein Ungleichgewicht im Sexualhormonhaushalt führt bei Frauen mit Morbus Basedow zu Oligo- oder Amenorrhoe, das heißt, zu seltenen bzw. ausbleibenden Periodenblutungen (Krassas G., 2000) und bei Männern zu Veränderungen im Sexualempfinden sowie selten zur Gynäkomastie, einer schmerzhaften Größenzunahme der männlichen Brustdrüse (Carlson, 1980). Darüberhinaus ist die Knochenresorption gesteigert, was sich einerseits in Form von Schmerzen und Frakturanfälligkeit, andererseits im Labor als Hyperkalzämie zeigen kann. Letztlich macht

sich der übermäßig aktive Stoffwechsel an einer verkürzten Darmassage, die zu Diarrhoen führt, bemerkbar. Wie schon mehrfach erwähnt, führen die für den Morbus Basedow typischen TSH-Rezeptor-Autoantikörper nicht nur zu einem Schilddrüsenhormonexzess, sondern auch zum Wachstum der Schilddrüse. Die Größenzunahme der Schilddrüse wird als Struma bezeichnet und beträgt bei Basedow-Patienten meist das zwei- bis dreifache der Ursprungsgröße, wobei sich die Konsistenz im Gegensatz zum Jodmangel- oder Knotenstruma diffus fest und nicht knotig tastet (Dietel & Zeitz, 2009).

Die bisher erwähnten Symptome können bei allen Formen der Hyperthyreose (autonome, Medikamenten-induzierte, autoimmune) auftreten, da sie lediglich die Folgen eines durch Schilddrüsenhormonüberschuss hervorgerufenen Hypermetabolismus darstellen.

Folgende zwei Symptome sind allerdings pathognomonisch für den Morbus Basedow:

Zum einen die bereits mehrfach erwähnte EO und zum anderen das prätibiale Myxödem. Letzteres tritt selten, etwa bei 13% der Patienten mit schwerer EO, auf und äußert sich als teigige, verhärtete, livide Schwellung der Haut über dem unteren Schienbein. Etwa 20% der Patienten mit prätibialen Myxödem weisen eine „thyroid acropathy“ auf, welche sich als Verklumpung der Finger und Zehen manifestiert (Fatourech, 2005).

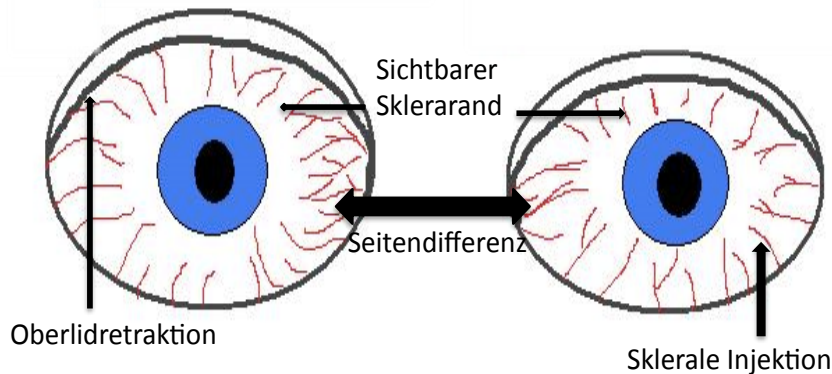
Die EO wiederum ist eine sehr häufige, bei fast 50% der Patienten beidseitig vorkommende Begleiterscheinung. Eckstein et al. konnten zeigen, dass ein Auftreten einer extrathyreoidalen Manifestation, im Sinne einer EO, einen Marker für einen schweren Verlauf der immunogenen Hyperthyreose darstellt und mit einer geringen Remissionsrate der Überfunktion verknüpft ist (Eckstein, Lax, Losch, 2007).

In den meisten Fällen manifestiert sich die EO in einem Zeitraum von sechs Monaten vor oder nach den Erstsymptomen einer Hyperthyreose. Frühsymptome einer EO sind ein anhaltendes Fremdkörpergefühl, vermehrter Tränenfluss und Augenschmerzen. Im weiteren Krankheitsverlauf kommen Entzündungszeichen wie Schwellungen (periorbitales Ödem) und vermehrte Gefäßzeichnung der Lederhaut (sklerale Injektion) hinzu (Eckstein & Esser, 2010). Die Proptosis (Hervortreten des Augapfels) kann man, wenn fortgeschrittener, auch an dem sichtbar gewordenen Sklerarand zwischen der Regenbogenhaut (Iris) und dem Augenlid erkennen. Die Oberlidverkürzung wird als Retraktion bezeichnet.

Weiterhin kann es im Verlauf aufgrund des ungenügenden Lidschlusses (Lagophthalmus) zu Augentrockenheit und Hornhautschäden kommen, denn die Hornhaut ist so z.B. im Schlaf frei exponiert und nicht wie im Normalfall durch einen festen Lidschluss geschützt..



Einschränkende Komplikationen entstehen, wenn die Augenmuskelschwellung so ausgeprägt ist, dass es zu Doppelbildern kommt. Da hauptsächlich der Musculus rectus inferior betroffen ist, kommt es zu Doppelbildern beim Blick nach oben (Bahn, 2010). Im schlimmsten Falle erblindet der Patient, da aufgrund der retroorbitalen Schwellung der Sehnerv (Nervus opticus) komprimiert und, wenn untherapiert, funktionsunfähig wird.



**Abb. 2**

### **Äußerlich sichtbare Symptome der EO**

Die Abbildung zeigt schematisch die stigmatisierenden, phänotypischen Veränderungen der EO Patienten. Äußerlich sichtbar sind eine Rötung der Lederhaut (sklerale Injektion) und eine Seitendifferenz. Das Sichtbarwerden eines Sklerarandes oberhalb der Iris wird durch die Oberlidretraktion und den Exophthalmus hervorgerufen. In dieser Abbildung nicht dargestellt sind die Augenmotilitätsstörungen und dadurch hervorgerufene Doppelbilder sowie das retro-orbitale Ödem, welches im schlimmsten Falle eine Sehnervkompression hervorruft.

### **2.1.6 Differentialdiagnosen und Diagnostik**

Besteht der Verdacht einer Hyperthyreose, so sind folgende Differentialdiagnosen in Betracht zu ziehen. Es kann sich um eine uni- oder multifokale Autonomie handeln, das heißt in der Schilddrüse haben sich Knoten gebildet, die ohne Steuerung durch die Hypothalamus-Hypophysen-Achse Hormone produzieren. In Deutschland sind, wie bereits im Kapitel 2.1.2 erwähnt, autonome Schilddrüsenknoten die häufigste Ursache für eine Hyperthyreose. Die häufigste Ursache weltweit stellt allerdings die autoimmune Hyperthyreose, der Morbus Basedow, dar. In der Bildgebung schwierig vom Morbus Basedow zu unterscheiden ist die disseminierte Autonomie, welche eine weitere

Differentialdiagnose bei Überfunktion darstellt. Es handelt sich hierbei um eine über die Schilddrüse diffus verteilte autonome Aktivität. Schließlich sollte stets die durch Medikamente induzierte Überfunktion in Betracht gezogen werden, da beispielsweise eine Überdosierung oder ein Missbrauch an Schilddrüsenhormontabletten, aber auch die Injektion von jodhaltigem Kontrastmittel oder der Einsatz des Antiarrhythmikums Amiodaron eine Hyperthyreose hervorrufen können (Reid & Wheeler, 2005). Eine sehr seltene Ursache ist der TSH-produzierende Hypophysentumor, der bei Verdacht mittels MRT dargestellt werden kann (Cooper, 2003). Bestehen bei einem Patienten Symptome der Überfunktion, gilt es in einem ersten Schritt neben der ausführlichen Anamneseerhebung und der körperlichen Untersuchung, das TSH im Blut zu messen. In fast 100% der Fälle geht eine Schilddrüsenüberfunktion mit einem erniedrigten TSH-Wert einher, anders formuliert bedeutet ein normaler TSH-Wert, dass eine Überfunktion ausgeschlossen werden kann (Reid & Wheeler, 2005).

Wurde ein erniedrigtes TSH nachgewiesen, so gilt es in einem zweiten Schritt die latente von der manifesten Überfunktion zu unterscheiden. Hierfür müssen die Schilddrüsenhormone selbst, also das freie Thyroxin ( $fT_4$ ) und das Trijodthyronin ( $fT_3$ ) gemessen werden. Sind die Hormonkonzentrationen im Normbereich, dann handelt es sich um eine sogenannte „latente oder präklinische Überfunktion“; sind die Blutwerte bereits erhöht, wird dies als „manifeste Überfunktion“ bezeichnet.

Um die Diagnose Morbus Basedow stellen zu können, müssen zumindest eine Sonographie der Schilddrüse durchgeführt und ein TRAK-Antikörper-Titer bestimmt werden. In der Sonographie zeigt sich typischerweise eine diffuse Echoarmut und eine Vergrößerung der Schilddrüse. Sind jedoch die Ultraschall-Aufzeichnungen nicht eindeutig, sollte eine Schilddrüsenzintigraphie angeschlossen werden. Eine homogen erhöhte Aufnahme des radioaktiven Jods bzw. eines anderen Jodähnlichen Tracers ( $^{99}Tc$ ,  $^{123}I$ ,  $^{131}I$ ), sprechen für die Diagnose Morbus Basedow (Cooper, 2003).

Selbstverständlich weisen Symptome einer EO auf eine autoimmune Hyperthyreose hin. Die EO-Diagnostik sollte interdisziplinär verlaufen und sowohl Augenärzte, Internisten als auch Radiologen mit einbeziehen. Radiologisch wird v.a. mittels Magnetresonanztomographie, selten sonographisch, die Verdickung der extraokulären Muskeln quantifiziert (Wiersinga, 2007).

Die weiteren diagnostischen Schritte, um die klinische Aktivität und den Schweregrad einer EO zu untersuchen, sind in dem Kapitel 3.1 Patientenkollektiv erläutert.

### 2.1.7 Bisherige Therapie und Verlauf

Bei der Therapie der autoimmunen Schilddrüsenüberfunktion stehen grundsätzlich die medikamentöse-, die operative- und die Radiojodtherapie zur Verfügung. Initial kommt in fast allen Fällen die medikamentöse Therapie zum Einsatz. Die antithyroidalen Substanzen, wovon die Thionamide (Thiamazol und Carbimazol) in Deutschland vorrangig verwendet werden, blockieren die Hormonsynthese indem sie die Schilddrüsenperoxidase (TPO) hemmen. Als Nebeneffekt nimmt auch der TRAK-Titer ab, wobei die Gründe hierfür noch ungeklärt sind (Woenckhaus & Girlich, 2005). Mithilfe hoher Initialdosen von 10 bis 30 mg täglich sollte sich innerhalb von vier bis acht Wochen ein euthyreoter Stoffwechsel einstellen (Page, Sheard, & Herbert, 1996). Insgesamt wird die Medikation ein Jahr lang eingenommen und dann ein Auslassversuch durchgeführt. Die allmähliche Runterdosierung der Thionamide innerhalb des Behandlungsjahres dient der Reduktion von Nebenwirkungen. Als lebensbedrohliche Nebenwirkung ist die Agranulozytose, das heißt die Unfähigkeit des Knochenmarks Granulozyten zu produzieren, zu erwähnen. Unter Thionamidtherapie kommt diese schwere unerwünschte Wirkung in bis zu 2% der Fälle vor, und äußert sich meist in einem fieberhaften Infekt. Obwohl eine Agranulozytose unter thyreostatischer Therapie nicht häufig vorkommt, muss sie in den ersten Wochen mithilfe regelmäßiger Blutabnahmen ausgeschlossen werden. Überdies werden die Patienten darüber aufgeklärt, dass sich hinter einer scheinbar banalen Rachenmandelentzündung eine Agranulozytose manifestieren kann (Woenckhaus & Girlich, 2005). Entwickelt ein Patient eine schwere Nebenwirkung, müssen alle Thyreostatika abgesetzt werden und es verbietet sich, diese Substanzen erneut einzusetzen (Tajiri, Noguchi, Murakami, 1990). Häufige aber weniger gefährliche Nebenwirkungen sind Hautausschlag, Fieber und Gelenkschmerzen (Cooper, 2003). Die einjährige thyreostatische Therapie führt lediglich bei etwa der Hälfte der Basedow-Patienten zur vollständigen Remission (Reid & Wheeler, 2005). Ist die Therapie nicht erfolgreich gewesen, so dass wieder Symptome auftreten und die Blutwerte einer immunogenen Hyperthyreose entsprechen, stehen mehrere Therapieoptionen zur Verfügung.

Ob operativ, im Sinne einer subtotalen Thyreoidektomie, oder radiotherapeutisch behandelt wird, hängt vom jeweiligen Land, der Klinik und dem individuellen Patientenwunsch ab. In Ausnahmefällen kann eine medikamentöse Langzeitbehandlung

über Jahrzehnte durchgeführt werden, falls diese im Rezidiv zu guten Ergebnissen führt. Eine operative Schilddrüsenentfernung, hat den Vorteil, dass die Hyperthyreose schnell beseitigt wird, allerdings können während des Eingriffs sowohl der Nervus recurrens als auch die Nebenschilddrüsen verletzt werden. Die Radiojodtherapie ist eine nebenwirkungsarme Alternative und inzwischen kostengünstiger als eine Operation, allerdings ist der Wirkungseintritt verzögert (Woenckhaus & Girlich, 2005). Die Frage nach der Überlegenheit einer Therapie wurde vielfach kontrovers diskutiert, ein internationaler Konsens jedoch noch nicht gefunden. Da es für das Thema dieser Dissertation nicht von Bedeutung ist, wird auf diese Fragestellung hier nicht weiter eingegangen.

Die Therapie der EO beinhaltet in allen Stadien Nikotinkarenz, die langfristige Einstellung eines euthyreoten Stoffwechsels, lokale Maßnahmen und die Wiederherstellung der ophthalmologischen Veränderungen sowie der Sehkraft. Weitere therapeutische Schritte orientieren sich am Stadium der Erkrankung.

Die Klassifizierungen zur Einteilung des Schweregrades und der Krankheitsaktivität sind im Kapitel 3.1 Patientenkollektiv aufgeführt.

Allgemein gilt, dass eine milde EO lediglich verlaufskontrolliert wird, da sie zu 65% konstant bleibt, nur zu 15% einen Progress aufzeigt und sich zu 20% spontan verbessert (Perros, Crombie, & Kendall-Taylor, 1995) und (Marocci & Marino, 2012).

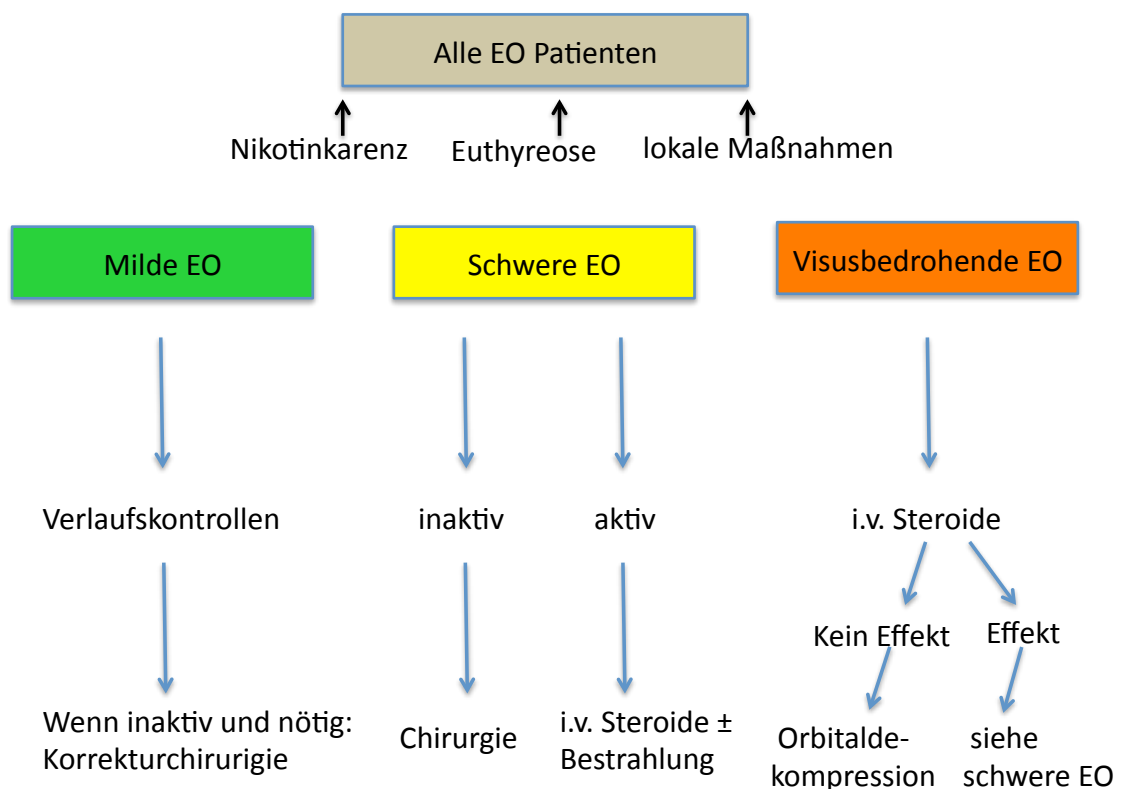
Selbst wenn sich die milde EO in einem aktiven Stadium der Entzündung befindet, kann meist der Spontanverlauf abgewartet werden. Die optimale thyreostatische Therapie ist Hauptbestandteil des Managements bei milder EO (Eckstein & Esser, 2010).

Im Anfangsstadium der schweren EO, das heißt wenn noch die akuten, aktiven Entzündungszeichen, wie Rötung sowie Lid- und- Bindehautschwellung (Chemose) dominieren, sollten Kortikosteroide intravenös als Stoßtherapie appliziert werden. Falls sich die Therapie als unzureichend herausstellt sind orale Kortikosteroide in Kombination mit Ciclosporin oder einer sogenannte Orbitaspitzenbestrahlung zu empfehlen. Bei dieser Behandlung wird die Orbitaregion mit niedrigen Strahlendosen von etwa 10 bis 20 Gray bestrahlt, um die Entzündungsreaktionen zu minimieren (Wiersinga, 2007). Obwohl die Bestrahlung der Orbitaregion als sehr nebenwirkungsarm einzustufen ist, besteht die Befürchtung, dass die Patienten nach der Therapie ein erhöhtes Krebsrisiko aufweisen, so dass bei Patienten unter dem 35. Lebensjahr die Indikation sehr streng gestellt werden sollte (Eckstein & Esser, 2010). Insgesamt ist die therapieresistente EO meist Folge einer nicht einstellbaren Hyperthyreose und hoher TRAK-Titer.

Konnte bildmorphologisch bereits eine Kompression des Sehnervs nachgewiesen werden (Optikusneuropathie) sollte eine intravenöse Hochdosis Steroidtherapie durchgeführt werden und wenn diese nach zwei Wochen zu keiner Besserung geführt hat, eine Orbitaldekompressions-Operation erfolgen.

Die Folgen der retroorbitalen Entzündung, die zu Doppelbildern und kosmetischen Problemen führen, sollten allerdings elektiv im inaktiven Stadium erfolgen (Eckstein & Esser, 2010).

Abschließend sei gesagt, dass die Chance auf einen Visuserhalt im Verlauf der endokrinen Orbitopathie bei regelmäßiger Behandlung als gut einzustufen ist. Dennoch sind ein Drittel aller EO-Patienten selbst nach medikamentösen und chirurgischen Maßnahmen unzufrieden mit ihrem Erscheinungsbild (Bartley, Fatourechi, Kadmas, 1996).



**Abb. 3**

**Therapie der endokrinen Orbitopathie nach** (Eckstein & Esser, 2010)

Die Abbildung zeigt die Therapieoptionen je nach Schweregrad der EO. Jeder Patient mit EO sollte das Rauchen einstellen und lokale Medikamente wie z.B. Augentropfen sowie die optimale

thyreostatische Therapie erhalten. Eine Korrekturoperation erfolgt in der Regel nur im klinisch inaktiven Stadium, wohingegen eine aktive Entzündung gut auf Steroide anspricht.

## **2.2 Das Spurenelement Selen**

### **2.2.1 Definition**

1817 wurde das Spurenelement Selen von Jöns Jakob Berzelius entdeckt und aufgrund seines schimmernden Aussehens nach der Mondgöttin Selene benannt (griech. Selen „Mond“) (Figurowski, 1981). Das chemische Element Selen findet sich unter der Ordnungszahl 34 und steht im Periodensystem in der 4. Periode sowie der 6. Hauptgruppe und zählt zu den Halbmetallen. Dieses immer wieder kontrovers diskutierte Spurenelement ist für den Menschen essentiell und in niedrigen Dosen nicht toxisch, wie anfänglich gedacht (Surai, 2006).

In den darauf folgenden Jahren wurden zahlreiche Erkenntnisse über das Vorkommen, den Stoffwechsel und die medizinische Bedeutung von Selen gewonnen, welche in den folgenden Abschnitten dargestellt werden.

### **2.2.2 Bedarf und Vorkommen**

Selen ist ein essentielles Spurenelement. Dies bedeutet, dass der Körper Selen nicht selbst synthetisieren, sondern lediglich über die Nahrung aufnehmen kann und dass es lebensnotwendig ist. Die Aufnahme von Selen über die Nahrung findet überwiegend in Form der Aminosäuren Selenomethionin (SeMet) und Selenocystein (Sec) statt. Wird Selen allerdings substituiert, so wird es häufig in seiner anorganischen Form als Selenit oder Selenat zugeführt (Schomburg, Schweizer, & Köhrle, 2004). Um die Expression der Selenoenzyme gewährleisten zu können, sollten täglich mindestens 40 µg Se eingenommen werden. Um das Krebsrisiko zu reduzieren, werden vermutlich etwa 300 µg/Tag benötigt (Combs, 2001). Da bis zum heutigen Tage die Angaben darüber, welche Selenmenge gesunde Individuen täglich aufnehmen sollten noch uneinheitlich sind, müssen diesbezüglich weitere Untersuchungen abgewartet werden.

In diesem Zusammenhang ist die potentielle Toxizität bei Überdosierung mit dem Spurenelement zu erwähnen. Selen kann im Gegensatz zu Vitamin C beispielsweise bei übermäßiger Einnahme toxisch wirken. Es sollten von daher nicht mehr als 600 µg pro Tag eingenommen werden (Whanger, Vendeland, & Park, 1996). Chronische

Vergiftungszeichen, im Sinne von Nagel- und Hautveränderungen sowie knoblauchähnlichem Mundgeruch, konnten in einigen selenreichen Regionen Chinas beobachtet werden. Allerdings ist die Toxizität Selens als relativ niedrig einzustufen. Die Einnahme von Selensäure wiederum kann tödliche Folgen haben (Barceloux, 1999).

Allerdings ist in weiten Teilen Europas die Selenaufnahme über die Nahrung ohnehin ungenügend. In Deutschland beispielsweise beträgt sie täglich durchschnittlich nur etwa 50 µg pro Tag (Raymann, 2000). Ausschlaggebend für den Selengehalt des jeweiligen Nahrungsmittels ist die Selenkonzentration des Bodens, welche weltweit stark variiert. Diese ist abhängig von der Konzentration in Steinen, Staub und Wasser der jeweiligen Umgebung (Combs, 2001). Außerdem ist ein niedriger pH, eine hohe Konzentration an Eisen- und Aluminiumverbindungen und die Nähe zu Vulkangesteinen mit einer Selenarmut der Böden assoziiert (Reilly, 2006). Im Durchschnitt enthält ein Kilogramm Erde etwa 8 bis 12 mg Se, in den westlichen Staaten der USA enthält sie allerdings bis zu 90 mg/kg, in anderen Ländern, wie Finnland, Dänemark, Neuseeland, Sibirien und weiten Teilen Chinas nur etwa 2 mg/kg (Combs, 2001). Dementsprechend ist der Gehalt an tierischen und pflanzlichen Nahrungsmitteln, je nach Herkunftsland, stark variabel. Extrem sind die Unterschiede innerhalb Chinas, so ist der Tabelle zu entnehmen, dass der Gehalt von Gemüse zwischen 0,2 µg Se/100 g in selenarmen Gebieten und 4570 µg Se/100 g in selenreichen Gebieten schwankt.

**Tab. 1**  
**Selenkonzentrationen (µg Selen pro 100g) in Nahrungsmitteln in verschiedenen Ländern**

	USA	England	Deutsch-land	Neu-seeland	China1	China2	China3	Vene-zuela
<b>Rotes Fleisch</b>	8-50	5-14	13-28	1-4	1-3	5-25	-	17-83
<b>Geflügel</b>	1-26	5-15	5-15	5-10	2-6	5-10	-	
<b>Fisch</b>	13-148	10-16	24-53	3-31	3-20	10-60	-	32-93
<b>Milch</b>	1-26	1-8	1-10	0.3-2.5	0.2-1.0	1-3	-	11-43
<b>Eier</b>	6-20	5-20	5-20	24-98	2-6	5-15	-	5-15
<b>Getreide</b>	6-20	2-53	3-88	4-9	0.5-2	1.7-11	106-690	12-51
<b>Gemüse</b>	0.1-14	1-9	4-10	0.1-2	0.2-2	0.2-9	34-4570	0.2-298
<b>Obst</b>	0.5-6	0.5-1	0.2-4	0.1-0.4	0.1-0.3	0.5-4	-	0.5-6

nach (Surai, 2006)

Trotz dieser Erkenntnisse hat sich bisher allein Finnland zu einer breitflächigen Substitution, in Form einer Beimischung von Selen im Bodendünger entschlossen. Nachdem die Substitution 1985 eingeführt wurde, stiegen die Selen-Plasma-Werte der finnischen Bevölkerung um etwa  $0,4 \mu\text{mol/l}$ . Körpergewebe, welches von finnischen Unfallopfern untersucht wurde, zeigte ebenfalls eine Selenkonzentrationszunahme von etwa 50-100%. Da sehr viele andere positive Faktoren die Gesundheit der finnischen Bevölkerung in den letzten Jahren beeinflusst haben, kann über den Nutzen dieser Selensubstitution noch keine genaue Aussage gemacht werden (John, 2003). In Deutschland hat sich lediglich die Beimischung von Selen in der Tiernahrung durchgesetzt und so zur besseren Fertilität sowie Immunlage der Tiere beigetragen (Schomburg & Köhrle, 2008).

Letzteres macht deutlich, dass bezüglich der Selenaufnahme nicht nur das Herstellungsland des Produktes, sondern auch das Produkt selbst eine Rolle spielt. So sind beispielsweise in Fleisch besonders hohe Selenkonzentrationen zu verzeichnen (Reilly, 2006). Es ist sicherlich schwierig genau festzulegen, wie viele Menschen weltweit bezüglich Selen chronisch unterversorgt sind, schätzungsweise sind es jedoch 0,5 bis 1,5 Milliarden Menschen (Combs, 2001).

### **2.2.3 Stoffwechsel der Selenverbindungen im menschlichen Körper**

Wie bereits im Kapitel 2.2.3 erwähnt, wird Selen überwiegend in Form der organischen Metabolite SeMet und Sec über die Nahrung aufgenommen. Im Stoffwechsel und ihrer Funktion unterscheiden sich die Aminosäuren aber deutlich voneinander. So kann während der Proteinsynthese SeMet mittels der tRNAMet an dieselben Stellen wie sonst Methionin in die Polypeptidketten eingebaut werden. Allerdings konkurriert SeMet mit dem in höherer Konzentration vorliegendem Methionin, so dass es in nur sehr geringer Menge in Proteine eingebaut wird und als biologisch funktionslos gilt (Schauzer, 2003). Letzteres erklärt, weshalb der Begriff Selenoproteine ausschließlich für Proteine, die Sec enthalten verwendet wird (Behne & Kyriakopoulos, 2001). Sec wiederum ist Bestandteil vieler lebenswichtiger Enzyme (siehe Tab. 2) und wird über einen ungewöhnlichen



Mechanismus in die Proteine eingefügt (siehe Abb. 4). Fünfundzwanzig Gene, welche Selenoproteine kodieren, konnten bereits identifiziert werden- und somit stellt Selen das einzige Spurenelement dar, welches über eine genetische Kodierung in Proteine eingebaut wird (Kryukov, Castellano, Novoselov, 2003). Bisher konnten nicht allen Selenoproteinen eine enzymatische Funktion oder eine 3D-Struktur zugeordnet werden. Diese Informationen liegen bei etwa der Hälfte aller Selenoproteinen vor (Schomburg, Schweizer, & Köhrle, 2004).

**Tab. 2**

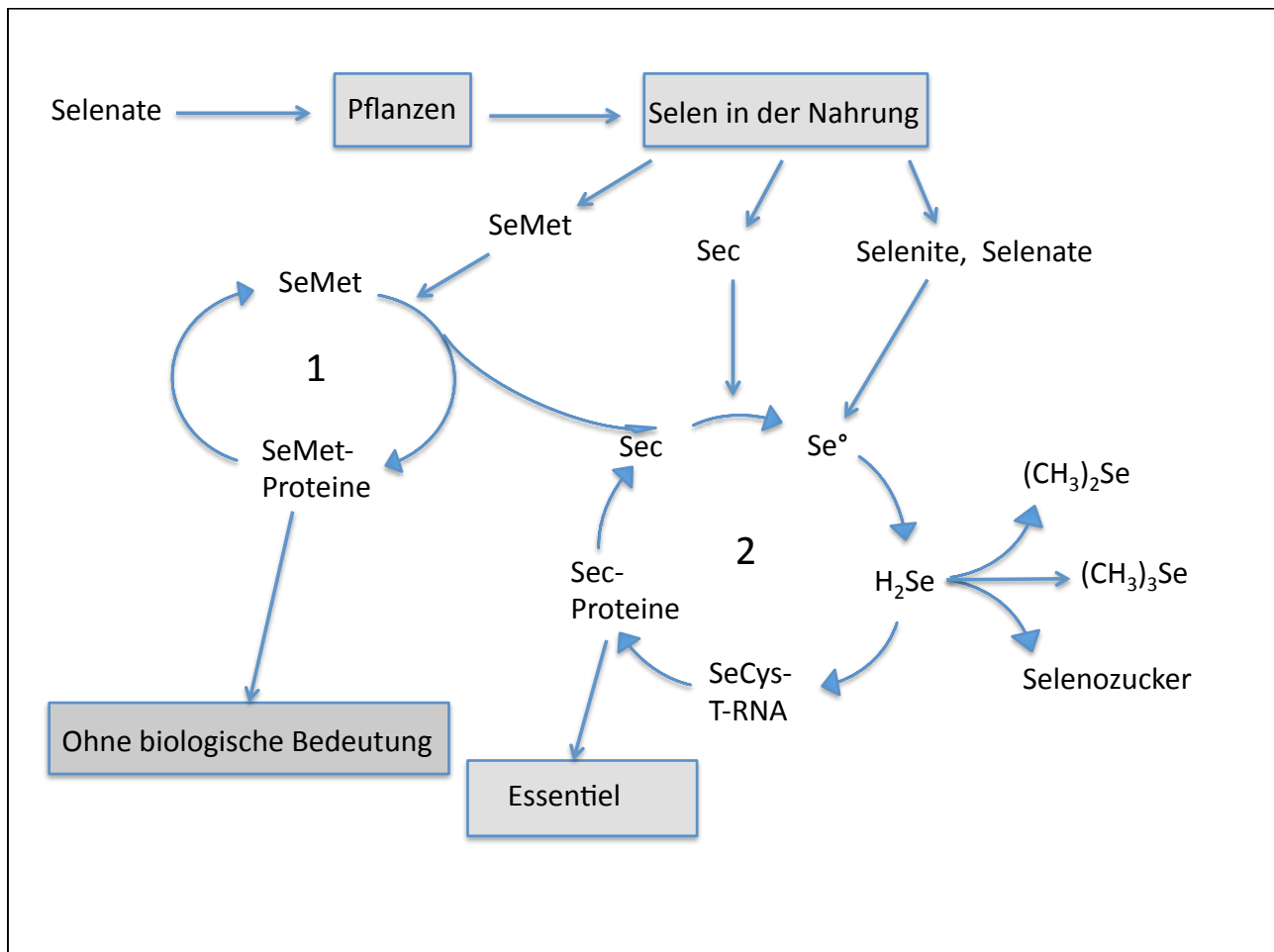
**Ausgewählte Selenoproteine des Menschen und deren Funktion**

<b>Selenoprotein</b>	<b>Funktion</b>
<b>Glutathion-Peroxidase (GPx1, GPx2, GPx3, GPx4, GPx6)</b>	Abbau von Peroxiden
<b>Jod-Thyronin-Dejodase (drei Isoformen)</b>	Regulation der Schilddrüsenhormone und Umwandlung von Thyroxin zu T <sub>3</sub> bzw. rT <sub>3</sub>
<b>Thioredoxin-Reduktasen (drei Isoformen)</b>	Bestandteil des zellulären Redoxsystems (z.B. Reduktion von Nukleotiden der DNA-Synthese)
<b>Selenophosphate synthetase, SPS2</b>	ATP-abhängige Aktivierung von Selen zu Selenophosphat
<b>Methionin-Sulfoxid-Reduktase B, MsrB</b>	Reduktion von Methionin-Sulfoxid zu Methionin
<b>Selenoprotein P, SePP</b>	Im Plasma vorkommend. Transport- und Speicherprotein von Selen.
<b>Selenoprotein W</b>	Aufrechterhaltung der Muskelfunktion

(Raymann, 2000) und (Kryukov, Castellano, Novoselov, 2003)

Die Entstehung der Sec-haltigen Proteine ist, wie bereits angedeutet, weitaus komplizierter als die Synthese SeMet-haltiger Enzyme. Erstaunlicherweise wird Sec während der Translation, das heißt während der Übersetzung der Nukleotidsequenz in ein Polypeptid, über das als „Stop-Codon“ bekannte UGA-Triplet in ein Protein eingefügt. Üblicherweise wird eine Aminosäure als Ganzes mithilfe einer spezifischen tRNA in eine Polypeptidkette integriert. Im Falle von Selenoproteinen wird Selen allerdings zunächst aus einem Molekül freigesetzt, reduziert und schließlich aktiv phosphoryliert. In einem weiteren Schritt koppelt eine Sec-tRNA(ser)sec-Synthase das Selenophosphat im Austausch mit der phosphorylierten Hydroxylgruppe des Serins an eine Ser-tRNA(ser)sec (Bock, Forchhammer, Heider, 1991) (Hatfield & Gladyshev, 2002). Das UGA-Triplet in Kombination mit einer Haarnadelstruktur, welche als Selenocystein-Insertions-Sequenz

(SECIS-Element) bezeichnet wird und in 3'- untranslatierten Bereich der Selenoprotein-mRNA liegt, veranlassen die Bindung spezifischer Proteine an die mRNA und garantieren so, dass nicht die Polypeptidsynthese abbricht, sondern mittels der Ser-t-RNA(ser)sec ein Sec - Molekül in das Protein eingebaut wird (Hatfield & Gladyshev, 2002).



**Abb. 4**

**Stoffwechsel der Selenverbindungen nach (Schauder & Ollenschläger, 2006)**

Sec: Selenocystein

SeMet: Selenomethionin

Selen befindet sich in seiner anorganischen Form als Selenat in Böden, wird so von Pflanzen aufgenommen und in die organischen Metabolite Sec und SeMet verstoffwechselt. Menschen und Tiere nehmen über die pflanzlichen Nahrungsbestandteile somit organische Selenverbindungen auf. Wenn Selen medikamentös substituiert wird, wird es häufig in anorganischer Form als Selenit oder Selenat zugeführt. Die Abbildung macht deutlich, dass zwar nur Sec letztlich in die lebenswichtigen Selenoproteine eingebaut wird, SeMet und die anorganischen Selenformen aber mittels einiger Stoffwechselschritte in die Aminosäure Sec umgewandelt werden können.

## 2.2.4 Die Bedeutung von Selen für die Gesundheit

Anhand der im Kapitel 2.2.3 aufgeführten Selenoproteine wird deutlich, dass Selen eine unverzichtbare Funktion bezüglich der Reduktion oxidierter Metabolite, im Sinne des „Zellschutzes“ vertritt. Diese Aufgabe übernehmen vornehmlich die Enzyme, die der Gruppe der Thioredoxin-Reduktasen (TrxR) und der Glutathion-Peroxidasen (GPx) angehören. Eine weitere Familie der Selenoproteine stellen die Jod-Thyronin-Dejodasen (DIO) dar, welche wesentlich für die Aktivierung und Deaktivierung von Schilddrüsenhormonen sind. Welche Bedeutung diese Enzyme für die Gesundheit des Menschen haben, wird in diesem Kapitel anhand von Beispielen erklärt. Auf aktuelle Erkenntnisse bezüglich der Funktion der Selenoenzyme bei Morbus Basedow und EO wird gesondert im Kapitel 2.3.1 sowie 5 eingegangen. Sec befindet sich im aktiven Zentrum der Selenoenzyme und reduziert so beispielsweise als Bestandteil der Thioredoxin-Reduktase Nukleotide der DNS (Allan, Lacourciere, & Stadtman, 1999). Die Verminderung des oxidativen Stresses eines Organismus durch selenhaltige Enzyme führt auf mehreren Ebenen zu einer Verbesserung des Gesundheitszustandes, wie einige Studien belegen konnten. Nur wenige Krankheitsbilder sind allerdings obligat mit einem Selendefizit verknüpft. In diesem Zusammenhang ist die Keshan- Krankheit zu nennen, eine Herzmuskelerkrankung, welche durch ein Coxsackie-Virus verursacht ist und nur bei Personen mit einem extremen Selendefizit symptomatisch wird. So wurde diese sehr seltene Erkrankung erstmals in einer selenarmen Provinz Chinas beschrieben. Ein Zusammenspiel aus Jod und Selenmangel stellt die Grundlage für die Entstehung der Knochen- und Gelenks-destruierenden Kashin-Beck-Krankheit dar. Dementsprechend kann eine Selensubstitution der Entstehung entgegenwirken bzw. nach Ausbruch die Symptome lindern. Abschließend sei noch der Kretenismus genannt, also die aufgrund von Jodmangel während der Schwangerschaft angeborene Schilddrüsenunterfunktion und geistige Retardierung. Diese, aufgrund der Jodsubstitution in Speisesalz sehr selten gewordene Erkrankung, manifestiert sich, wenn zusätzlich ein schlechter Selenstatus besteht, in einer schweren, myxödematösen Form (Köhrle, Jakob, Contempre, 2005). Es besteht Evidenz, dass ein hoher oxidativer Stress die Krebsentstehung begünstigt, da die durch Oxidation entstandenen sogenannten „freien Radikale“ das Erbgut schädigen. Seit den 1970er Jahren weisen immer wieder epidemiologische Studien auf eine inverse Korrelation zwischen Selenstatus und Krebsmortalität bzw. Krebsinzidenz hin. Das Risiko

war, je nach Studie, zwischen zwei- bis sechs-mal höher als in der Vergleichsgruppe (Combs & WP, 1998). Als Beispiel sei hier nur eine in Harvard (USA) durchgeführte, prospektive Studie genannt. Mittels Zehnnagelanalysen wurde der Selenstatus von 34000 Männern untersucht und dokumentiert. Die Probandengruppe mit dem schlechtesten Selenstatus hatten ein dreifach erhöhtes Risiko in den folgenden zwei Jahren einen fortgeschrittenen Prostatakrebs zu entwickeln, verglichen zu den Probanden mit einem hohen Selengehalt (Yoshizawa, Willet, & Morris, 1998). Eine ähnlich eindeutige Korrelation zeigte sich auch jüngst in Deutschland bei Patienten mit Nierenzellkarzinom (Meyer, Endermann, & Stephan, 2012).

Neben dem Nutzen eines guten Selenstatus bei bestimmten Erkrankungen fördert das Spurenelement im Allgemeinen das menschliche Immunsystem.

Anders formuliert scheint ein schlechter Selenstatus eine verminderte Immunantwort zu bedingen. Denn sogar bei Individuen mit exzellentem Selen-Serumgehalt zeigt eine Substitution einen immunstimulierenden Effekt, im Sinne einer erhöhten T-Zell-Differenzierung und Antigenempfindlichkeit sowie einer gesteigerten Fähigkeit, Tumorzellen zu zerstören (Kiremidjian-Schuhmacher, Roy, Wishe, 1994). Vor diesem Hintergrund ist es nicht verwunderlich, dass in Organgeweben mit Immundefizienz, wie der Leber, der Milz und den Lymphknoten, besonders hohe Selenkonzentrationen zu finden sind (Spallholz, Boylan, & Larsen, 1990). Fujishima et al. konnten so jüngst eine inverse Korrelation zwischen Selenstatus und Mortalität bei 1041 Hämodialyse Patienten aufzeigen. Die erhöhte Mortalität bezog sich in erster Linie auf Infektionskrankheiten, denn eine chronische Niereninsuffizienz ist auch fast immer mit einer defizitären Immunlage assoziiert (Fujishima, Ohsawa, Itai, 2011).

Bekanntermaßen sind die häufigsten Todesursachen in den Industriestaaten die kardiovaskulären Erkrankungen, wie etwa der Myokardinfarkt und der Schlaganfall. Aus diesem Grund wird in diesem Kapitel abschließend auf den Effekt von Selen in Bezug auf diese sogenannten Volkskrankheiten eingegangen. Sowohl der Myokardinfarkt als auch der Schlaganfall sind meist durch sklerotisch veränderte Arterien bedingt, diese wiederum entstehen aufgrund von Nikotingenuss, Diabetes mellitus, Hypercholesterinämie und Hypertonie. In Anbetracht der Erkenntnis, dass es sich bei der Arteriosklerose um einen entzündlichen Prozess handelt und, wie bereits erwähnt, Selen einen immunprotektiven Effekt besitzt, könnte Selen dem Prozess der Gefäßveränderungen entgegenwirken (Nicol, Herdman, & Satter, 1998). Womöglich ist in diesem Fall das Selenoprotein Glutathion Peroxidase 4, welches Hydroperoxide der Phospholipide reduziert und somit

die Thrombozytenaggregation vermindert, für den protektiven Effekt verantwortlich (Sattler, Maiorino, & Stocker, 1994).

Die in diesem Kapitel aufgeführten Studienergebnisse stellen lediglich einen Ausschnitt der vielfältigen Forschungsergebnisse bezüglich des Gesundheitsgewinns durch einen ausreichend guten Selenstatus für den Menschen dar. Aufgrund des überwiegenden Nutzens bleibt zu diskutieren, ob nicht zumindest bei bestimmten Patientengruppen eine Selensupplementierung durchgeführt werden sollte.

### **2.2.5 Die Bedeutung des Transportproteins Selenoprotein P**

Da wir bei unseren EO-Patienten nicht nur die Selenkonzentration im Blut gemessen-, sondern auch den SePP-Gehalt bestimmt haben, wird in diesem Abschnitt auf die Bedeutung dieses Proteins eingegangen. Wie bereits erwähnt, werden die Selenoenzyme und so auch SePP in vielen verschiedenen Körpergeweben, in verschiedener Konzentration, synthetisiert. Die SePP-Sekretion findet allerdings vornehmlich in der Leber statt. In der Blutbahn fungiert SePP als Transporter und versorgt so die unterschiedlichen Gewebe mit dem Spurenelement. Darüberhinaus deutet vieles darauf hin, dass SePP einen extrazellulären Speicher für Se darstellt. Da SePP bekanntermaßen, und im Gegensatz zu den anderen Selenoproteinen, bis zu zehn Sec-Moleküle beinhaltet, und darüber hinaus SePP das am häufigsten vorkommende Selenoprotein darstellt, eignet es sich gut, um den Gesamtselenstatus eines Individuums zu beurteilen (Schomburg, Schweizer, & Köhrle, 2004).

Die folgende Abbildung lässt erkennen, dass SePP neben einer Histidin-reichen Region und einer Region, die zur Sekretions-Signalisierung dient (Signalpeptid), zehn Sec-Moleküle beinhaltet.

Desweiteren werden bei einer Gesamtselenbestimmung auch die anorganischen Selenmetaboliten und SeMet-haltigen Proteine bestimmt. Wie bereits im Kapitel 2.2.3 erwähnt, sind jedoch lediglich die Sec-haltigen Enzyme von biologischer Bedeutung, so dass beispielsweise im Falle einer hohen SeMet - Konzentration auch enzymatisch inaktives Selen gemessen wird (Hill, Xia, Akesson, 1996).



## Abb. 5

### Aufbau von Selenoprotein P (SePP)

Sec: Selenocystein

SP: Signalpeptid zur Sekretion des Proteins

Histidin: Histidinreiche Region

Schematische Darstellung des Aufbaus von SePP, welches als einziges Selenoprotein mehrere (zehn) Sec-Moleküle beinhaltet. Es wird in der Leber gebildet und dient als Transportprotein für Selen und beinhaltet als solches etwa die Hälfte des gesamten Serumselens (Burk & KE, 2005).

### 2.2.6 Forschungsergebnisse zur Selensubstitution bei Hashimoto Thyreoditis

Aufgrund der Auswertung einiger prospektiver Studien zu dem Thema „Selensubstitution bei Hashimoto Patienten“ besteht nun Evidenz, dass eine Selensubstitution zusammen mit der üblichen Levothyroxin (LT<sub>4</sub>)-Gabe für die Patienten in mehrfacher Hinsicht von Nutzen sein kann. Die erprobte Kombinationstherapie zeigte eine Abnahme der TPO-Autoantikörper, welche mit der entzündlichen Zerstörung des Schilddrüsengewebes einhergehen.

Darüber hinaus konnte eine sonographisch darstellbare Verbesserung der Schilddrüsen-Morphologie sowie der Stimmungslage der Patienten verzeichnet werden. A. Konstantinos et al. stellen in ihrer Literaturübersicht zu diesem Thema fest, dass eine Se- Einnahme von 200 µg pro Tag die TPO-Antikörper um etwa 300 IU/ml reduziert. Der Nutzen einer Substitution die länger als drei Monate andauert ist jedoch noch nicht evident (Konstantinos, Anthanasios, Anastasilakis, 2010).

**Tab. 3**

**Auswahl von klinischen Studien zur Selensubstitution bei Hashimoto-Thyreoiditis**

<b>Probandengruppe</b>	<b>Studientyp</b>	<b>Selenform</b>	<b>Ergebnisse</b>
<b>1. Hashimoto-Thyreoiditis Frauen</b>	Prospektiv, Placebo kontrolliert, doppel-blind, crossover*	200 µg Selenit	Verminderte TPO-AK; verbessertes Wohlempfinden, Normalisierung der SD im Ultraschall
<b>2. Hashimoto-Thyreoiditis</b>	Prospektiv, Placebo kontrolliert, doppel-blind **	200 µg Semet	Verminderte TPO-AK; verbessertes Wohlempfinden
<b>3. Hashimoto-Thyreoiditis Frauen</b>	Prospektiv, Placebo kontrolliert, doppel-blind***	200 µg Semet	Verminderte TPO-AK
<b>4. Hashimoto-Thyreoiditis Schwangere</b>	Prospektiv, Placebo kontrolliert, doppel-blind****	200 µg Semet	Verminderte TPO-AK sowohl postpartal als auch permanent

\* (Gärtner & Gasnier, 2003)

\*\* (Duntas, Mantzou, & Koutras, 2003)

\*\*\* (Turker, Kumanlioglu, & Karapolat, 2006)

\*\*\*\* (Negro, Greco, Mangieri, 2007)

Diese Übersicht zeigt, dass in vier unterschiedlichen, in Europa durchgeführten, prospektiven Studien mittels Selensubstitution sowohl in Form von anorganischem Selenit, als auch in organischer Darreichungsform, als SeMet, der TPO-Ak-Titer gesenkt werden konnte. Darüberhinaus konnten Gärtner et. al eine Verbesserung im sonographischen Bild der Schilddrüse feststellen. Eine Besserung des allgemeinen Wohlbefindens der Probanden konnten in zwei Studien verzeichnet werden.

Interessanterweise wurde bei allen hier aufgeführten Studien die gleiche Dosierung gewählt, nämlich 200 µg Selenit bzw. SeMet pro Tag. Ebenfalls auffällig ist, dass diese Studien in Europa stattfanden, wo bekanntermaßen die Böden selenarm sind und somit die täglich Selenaufnahme der Bevölkerung niedrig ist.

Die Gründe für den Nutzen einer Selensubstitution bei Hashimoto Patienten werden vielfach diskutiert. Vermutlich trägt der immunmodulierende Effekt Selens, welcher bereits im Kapitel 2.2.4 besprochen wurde, zu einer Abnahme der durch Auto-Ak bedingten Zerstörung der Schilddrüse bei. Wobei unklar bleibt ob ein Selendefizit allein eine

immunogene Schilddrüsenunterfunktion bedingen kann (Gärtner, Gasnier, Dietrich, 2002). An Mäusen konnte gezeigt werden, dass ein erhöhtes Vorkommen von GPX Enzymen dank gutem Selenstatus mit einer Verminderung der Zerstörung der Schilddrüse einhergeht (Contempre, Le Moine, Dumont, 1996). Die positiven Studien wurden in einer Meta-Analyse von Toulis et al. zusammengefasst, und es zeigte sich über alle Studien gemittelt eine signifikante Verminderung der TPO-Autoantikörperkonzentrationen (Toulis, Anastasilakis, & Tzellos, 2010). Allerdings zeigt sich bei genauerer Betrachtung, wenn auch weniger gut kontrollierte Studien und neueste Ergebnisse mitbetrachtet werden, dass die Selensubstitution keinen messbaren Effekt für die Patienten zur Folge hat (Schomburg, 2011). Somit muss resümiert werden, dass weder die Mechanismen noch die beste Dosierung oder die geeignetsten Patienten bislang bekannt sind, und noch viel in dieser Hinsicht erforscht werden muss.

## **2.3 Selenoprotein P- Gehalt bei Patienten mit Endokriner Orbitopathie**

### **2.3.1 Forschungsergebnisse zur Bedeutung von Selen bei Patienten mit endokriner Orbitopathie**

Die bisher vorliegenden Forschungsergebnisse bezüglich der Selensubstitution bei Hashimoto-Patienten sowie die Erkenntnisse über den Gesundheitsnutzen von Selen im Allgemeinen haben dazu geführt, dass sich vielerorts Forschungsgruppen mit der Frage befassen, ob eine Kausalität zwischen Selenstatus und Krankheitsentstehung bzw. Verlauf bei Morbus Basedow und EO besteht. Zunächst ist zu vermerken, dass dieses Spurenelement in endokrinen Organen und so auch in der Schilddrüse in besonders hohen Konzentrationen vorkommt (Köhrle, Jakob, Contempre, 2005). Des Weiteren ist Selen essentiell für die Synthese der Dejodasen (DIO 1-3) und Glutathionperoxidasen. Die Dejodasen können das in höherer Konzentration vorliegende T<sub>4</sub> in das biologisch weitaus wirksamere Hormon T<sub>3</sub> umwandeln, indem sie die Abspaltung eines Jod-Moleküls katalysieren. Die Glutathionperoxidasen sind am Zellschutz der Thyreozyten beteiligt (Schomburg & Köhrle, 2008).

Schilddrüsenüberfunktion ist aufgrund der vermehrten Hormonsynthese, bei welcher als Nebenprodukt H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> entsteht, und dem Hypermetabolismus mit einem erhöhten oxidativen Stress des Organismus verbunden (Köhrle, Jakob, Contempre, 2005). Letzteres sollte ein Ansteigen antioxidativer Enzyme, wie beispielsweise der



selenabhängigen Glutationperoxidasen, bedingen (Duntas, 2006). Jedoch konnten A. Kaur et al. zeigen, dass selbst nachdem die Schilddrüsenhormone bei einer Probandengruppe von EO- Patienten aus Indien therapeutisch normalisiert wurden, weiterhin ein erhöhtes oxidatives Stress-Niveau zu verzeichnen war und paradoxerweise Enzyme wie die GPX in ihrer Konzentration vermindert im Blut vorkamen. Der veränderte Metabolismus sowie eine bereits bestehende Insuffizienz bezüglich der Selenaufnahme der indischen Bevölkerung werden als Erklärung vorgeschlagen; ferner die zusätzliche Gabe von Selenmetaboliten während der Morbus Basedow Behandlung empfohlen (Kaur, Panday, Kumar, 2010). Ergänzend dazu ist eine weitere Studie aufzuführen, bei welcher eine Gruppe von Basedow-Patienten die übliche Therapie mit dem Thyreostatikum Methimazol erhielt, eine andere Probandengruppe bekam zusätzlich eine Kombination aus antioxidativen Substanzen (Vitamins C und E, beta- Carotin und Se). Die Probanden, welche neben Methimazol antioxidative Spurenelemente einnahmen, erzielten schneller einen euthyreoten Stoffwechsel. Beide Probandengruppen zeigten während der Therapie einen Anstieg der GPX-Konzentration im Serum, allerdings war der Anstieg bei der Probandengruppe, die zusätzlich Spurenelemente substituierte, höher (Bacic-Vrca, Skrep, Cepelak, 2004). Abschließend seien die Ergebnisse einer Studien genannt, welche den Selengehalt bei Patienten mit Struma, Morbus Basedow, Hashimoto-Thyreoditis, Schilddrüsenkarzinom und den von gesunden Probanden bestimmten und miteinander verglichen. Die Selenmessungen wurde mithilfe der TRFA-Methode, welche im Kapitel 3.3 erklärt wird, durchgeführt. Die niedrigste Gesamtselenkonzentration wurde dabei interessanterweise bei Patienten mit Morbus Basedow erfasst. Die höchste Selenkonzentration fand sich bei den gesunden Probanden. So empfehlen Kucharzewski et al. ebenfalls die Erwägung einer Selen (Kucharzewski, Braziewicz, Majewska, 2002). Auf eine im Jahr 2011 publizierte Studie zur Selensubstitution bei milder EO wird im Kapitel 5 eingegangen (Marocci, Kahlay, & Krassas, 2011).

### **3 Material und Methoden**

#### **3.1 Patientenkollektiv**

Für die Selen- und SePP-Messungen machten wir Gebrauch von einer

Patientendatenbank der ophthalmologischen Abteilung der Universitätsklinik Essen. Diese Datenbank beinhaltete im Frühjahr 2008 Informationen zu 105 weiblichen und männlichen Patienten mit endokriner Orbitopathie, die sich aufgrund dieser in augenärztlicher Behandlung an der Universitätsklinik Essen befanden.

Diejenigen Patienten, die der Teilnahme an der Studie zugestimmt hatten, wurden bei jeder dieser augenärztlichen Kontrollen in einem Zeitraum von maximal sechs Jahren, Blut abgenommen, welches uns später als Probenmaterial zur SePP- und Selenbestimmung diente. Für unsere Blutanalysen nahmen wir nur das Serum der weiblichen EO Patienten, da lediglich 14 männliche Patienten in der Datenbank eingeschlossen waren. Außerdem wurde gezeigt, dass Männer einen unterschiedlichen Selenmetabolismus und im Durchschnitt höhere Selen- und Selenprotein P-Werte aufweisen (Schomburg & Schweizer, 2009). Weiterhin wurden alle Patienten, die das Spurenelement Selen als Nahrungsergänzungsmittel einnehmen, aus der Studie ausgeschlossen. Schließlich wurden die Seren von 86 EO-Patienten für die Selenanalysen herangezogen. Bei diesen Patienten wurde alle 11-14 Monate, entsprechend der allgemeinen Empfehlung, die EO mittels zweier Einteilungen klassifiziert:

Der Schweregrad der EO wurde regelmäßig mittels des NOSPECS quantifiziert.

NOSPECS ist ein Akronym und fasst die Merkmale zusammen, die zur Beurteilung des Schweregrades der EO notwendig sind (siehe Tab. 4). Anhand der NOSPECS-Einteilung können die Patienten als mild oder schwer erkrankt eingestuft werden. In der NOSPECS-Klassifikation werden die Entzündungszeichen berücksichtigt, allerdings nicht so ausführlich wie in der unten aufgeführten CAS-Klassifikation. Außerdem werden hier im Gegensatz zum CAS nur objektivierbare Veränderungen beurteilt. Mittels NOSPECS lassen sich die als Folgeerscheinung der Augenentzündung auftretenden Veränderungen, wie das Hervortreten des Augapfels und Oberlidverkürzungen in mm gut quantifizieren. Weiterhin werden die Bewegungseinschränkung des Auges und die Seitendifferenz beurteilt. Außerdem wird berücksichtigt, ob eine Sehnervenkompression oder eine Hornhautschädigung bestehen.

Patienten mit milder EO haben nur leichte Entzündungszeichen, keine Augenbewegungsstörungen und sind aufgrund der EO im Alltag kaum beeinträchtigt. Patienten mit schwerer EO umfassen diejenigen, welche durch die Auswirkungen täglich beeinträchtigt sind. Es besteht eine fortgeschrittene Entzündung, Augenbewegungsstörungen und meist ein Lagophthalmus. Die schwere EO bedarf meist einer immunsuppressiven, operativen, oder radiotherapeutischen Therapie (Eckstein &

Esser, 2010).

Tab. 4

**NOSPECS\* zur Bestimmung des Schweregrads der endokrinen Orbitopathie**

Punkte	0	1	2	3
<b>Oberlidretraktion</b>	Nein	Ja		
<b>Entzündung**</b>	Nein	1 - 4	5 - 8	> 8
<b>Exophtalmus</b>	< 17 mm	17 - 18mm	19 - 21mm	> 22mm
<b>Hertel</b>	< 1,5 mm	1,5 – 2 mm	2,5 - 3,5mm	> 4mm
<b>Seitendifferenz</b>				
<b>Motilitätsstörungen</b>	Nein	Ja	Eingeschränkt: Aufblick > 20° Abduktion > 35°	Eingeschränkt: Aufblick < 20° Abduktion < 35°
<b>Hornhautschädigung</b>	Nein	Ja		
<b>Sehnervenkompression</b>	Nein			Ja

\*NOSPECS: N = „no signs“ = keine endokrine Orbitopathie, S = „soft tissue“ = Entzündung, P = „proptosis“ = Exophtalmus, E = „extraocular muscles“ = Motilitätsstörungen, C = „cornea“ = Hornhautbeteiligung, S = „sight“ = Sehminderung durch Sehnervenkompression.

\*\*Lidödeme Oberlid 0-2, Lidödeme Unterlid 0-2, Bindehautinjektion 1, Chemosis 1. Maximaler Score 14 Punkte

nach (Eckstein & Esser, Graves' ophthalmopathy, 2010)

Die klinische Aktivität der Entzündung wird mittels des CAS klassifiziert, wobei ein CAS-Score <4 als inaktiv gilt. Bei maximaler Krankheitsaktivität wird ein CAS von 10 erreicht. Besteht laut CAS eine aktive Entzündung spricht der Patient zu etwa 80% auf eine antiinflammatorische Therapie an. Die Ansprechrate sinkt jedoch signifikant, wenn die EO schon lange besteht (Eckstein & Esser, 2010).

Der CAS berücksichtigt sowohl subjektive als auch objektive Aktivitätszeichen der Entzündung und drei Zeichen, die auf ein Fortschreiten der EO hindeuten: Protusionszunahme, Bewegungsstörung und Sehminderung.

Tab. 5

**Clinical Activity Score (CAS) zur Bestimmung der Krankheitsaktivität bei EO**

Kriterium	Vorhanden
<b>Subjektive Aktivitätszeichen</b>	
Schmerzen oder Druckgefühl hinter dem Augapfel während der letzten 4 Wochen	1
Schmerzen bei Auf-, Ab- oder Seitenblick während der letzten 4 Wochen	1
<b>Objektive Entzündungszeichen</b>	
Rötung der Augenlider	1
Schwellung der Augenlider	1
Diffuse Rötung der Konjunktiva in mindestens einem Quadranten	1

Chemosis	1
Karunkelschwellung	1
<b>Zeichen der Progredienz</b>	
Protrusionszunahme > 2 mm während der letzten 1-3 Monate	1
Verminderung der Augenbeweglichkeit in beliebiger Richtung > 5° während der letzten 1-3 Monate	1
Visusminderung um > 1 Linie während der letzten 1-3 Monate	1
<b>Gesamtscore</b>	Maximal 10

(Eckstein & Esser, Graves' ophthalmopathy, 2010)

Die folgende Tabelle vergleicht die Charakteristika der Probanden mit schwerer und mit milder EO zum Zeitpunkt der ersten Blutentnahme.

**Tab. 6**  
**Charakteristika der 86 EO Patienten zum Zeitpunkt 1**

	Milde EO	Schwere EO
<b>Anzahl</b>	42	44
<b>Davon aktive EO</b>	20 (48%)	40 (91%)
<b>Monate seit Erstdiagnose</b>	3,7	4,6
<b>Epidemiologische Daten</b>		
<b>Durchschnittliches Alter</b>	45	50
<b>Niedrigstes Alter</b>	29	32
<b>Höchstes Alter</b>	69	83
<b>Nicht Raucherinnen</b>	18 (43%)	12 (27%)
<b>Raucherinnen</b>	24 (57%)	32 (73%)
<b>Zigaretten pro Tag</b>	14	15
<b>Aktuelle Medikamenteneinnahme</b>		
<b>Thyreostatika</b>	23 (55%)	24 (55%)
<b>L-Thyroxin</b>	10 (24%)	7 (15%)
<b>Glukokortikoide p.o.</b>	2 (5%)	8 (18%)

<b>Vorangegangene Therapie</b>		
<b>Thyreoidektomie</b>	3 (7%)	11 (25%)
<b>Radiojodtherapie</b>	2 (7%)	2 (5%)
<b>Laborchemische Parameter</b>		
<b>TRAK*</b>	11 U/l	20 U/l
<b>euthyreot</b>	2 (5%)	2 (5%)
<b>hypothyreot</b>	1 (2%)	3 (7%)
<b>hyperthyreot</b>	39 (93%)	39 (89%)
<b>*TRAK Referenzwert &lt; 9 U/l</b>		

Zum Zeitpunkt eins befanden sich 42 Patienten mit milder- und 44 mit schwerer EO unter den Probanden. Gemäß der Einteilung nach klinischer Aktivität der EO (CAS) hatten zum Zeitpunkt der Blutentnahme doppelt so viele Patienten mit schwerer EO auch eine klinisch aktive EO (91%).

Allerdings hatten weniger als die Hälfte der Patienten mit milder EO zu diesem Zeitpunkt eine aktive EO.

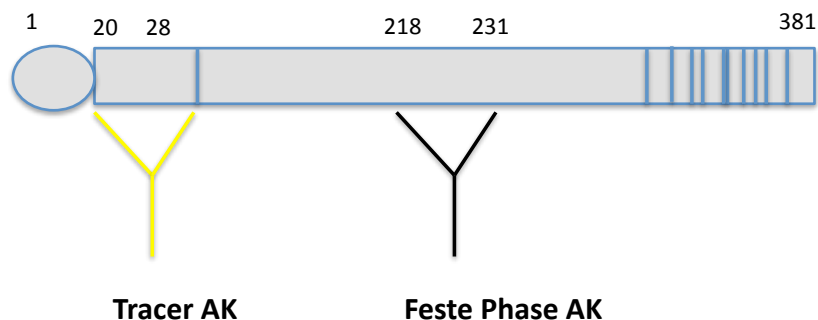
Die Serumgewinnung fand bei Patienten mit milder EO durchschnittlich 3,7 Monate nach der Erstdiagnose der EO statt, bei schwerer EO durchschnittlich 4,6 Monate. Die Patienten mit schwerer EO waren außerdem im Durchschnitt fünf Jahre älter und seltener Nichtraucher.

Es ist bekannt, dass Nikotinkonsum ein bedeutender Risikofaktor für die Entstehung einer EO ist und sogar eine direkte Dosisabhängigkeit besteht (Pfeilschifter & Ziegler, 1996) und (Prummel & Wirsinga, 1993). Beide Patientengruppen nahmen in gleicher Häufigkeit Thyreostatika ein, Patienten mit milder EO nahmen häufiger zusätzlich L-Thyroxin, wohingegen Patienten mit schwerer EO viermal häufiger Glukokortikoide einnahmen. Eine operative Thyreoidektomie erfolgte bei Patienten mit schwerer EO zu 25% und nur zu 7% bei milder EO. Wenig überraschend ist auch, dass der Antikörpertiter (TRAK in U/l) bei schwerer EO durchschnittlich etwa doppelt so hoch war.

### 3.2 Quantitative Selenoprotein P- Bestimmung

Zur quantitativen Bestimmung des Selenoprotein P (SePP)-Gehaltes im Serum der 86

Probanden wird ein immunoluminometrischer-Sandwich-Assay verwendet. Diese Methode wurde 2008 von Hollenbach et al. beschrieben (Hollenbach, Morgenthaler, Struck, 2008). Die SePP-Bestimmung erfolgt im Triplikat; hierbei werden Aliquots von jeweils 50 µl Serum zusammen mit 200 µl eines SePP– spezifischen Tracer- Antikörper in beschichtete Polystyrol Röhrcchen gegeben. Die Beschichtung besteht aus SePP-spezifischem Antiserum. In dieser Zusammensetzung werden die Polystyrol Röhrcchen zwei Stunden bei 300 rpm und Raumtemperatur (18-25°C) inkubiert und anschließend dreimal mit 1 ml Waschpuffer (LUMItest, B.R.A.H.M.S AG Hennigsdorf) gewaschen, ausgeklopft und 20 Minuten über Kopf und im Dunkeln getrocknet. Es folgen drei Kontrollmessungen, die aus einer Nullmessung und der Messung zwei feststehender Verdünnungen (1:2; 1:10) bestehen. Im Anschluss an die obengenannten Vorbereitungen erfolgt die SePP Quantifizierung mittels Lumineszenz Messung (Kettenluminometer von Berthold, Modell LB 953) nach automatischer Zugabe von 300 µl Basisreagenz 1 (100 mM HNO<sub>3</sub>; 0,5% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) und 300 µL Basisreagenz 2 (250 mM NaOH). Um die Inter-Assayvariabilität zu bestimmen, wurden bei jeder Messung zwei interne Standardproben bekannter SePP-Konzentration, die einen relativ hohen und niedrigen Se-Status widerspiegeln, mitgemessen.



**Abb. 6**

**„Sandwich-ILMA“ (Immuno-Luminometric Assay)**

Ak: Antikörper

Die Abbildung zeigt schematisch das Prinzip des Sandwich-ILMA-Assays zur quantitativen SePP-Bestimmung. Zunächst bindet ein an ein Reagenzglas gekoppelter (solide Phase) Antikörper an eine bestimmte Region (Sequenz 218-231) des Proteins. Dieser Ak ist für SePP spezifisch, so dass im darauffolgenden Schritt die übrigen Proteine abgewaschen werden können.

In einem zweiten Schritt wird ein zweiter Tracer-Ak dazugegeben, der an die Sequenz 20-28 bindet. Die farbliche Markierung des zweiten Aks dient der photometrischen Quantifizierung von SePP.

(Hollenbach, Morgenthaler, Struck, 2008)

### 3.3 Quantitative Selen-Bestimmung

Der Serum-Selengehalt wurde mittels der Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse (TRFA, oder en. TXRF, total reflection X-ray fluorescence) durchgeführt.

Zusammenfassend gesagt wird sich hierbei zu Nutze gemacht, dass durch die Röntgenbestrahlung einer Probe (in unserem Fall Serum) Fluoreszenzstrahlung hervorgerufen wird. Die Wellenlängen der Floreszenzen sind spezifisch für die jeweiligen Spurenelemente im Serum und die Signalintensität ist abhängig von der Konzentration des Elementes, so dass auf diese Weise sowohl eine Aussage über ihr qualitatives als auch das quantitative Vorhandensein getroffen werden kann. Als Standard während der Messung dient das Metall Gallium, welches jeder Probe zugesetzt wird. Zur Messung des Selengehaltes werden 100 µl Serum mit zweifach destilliertem Wasser 1:10 verdünnt und mit 5 µl Gallium-Lösung versetzt. Anschließend wird die Mischung homogenisiert und 10 µl der Probe auf nicht silikonisierten Quarzglasprobenträgern mithilfe einer Heizplatte zum Eintrocknen gebracht. Schließlich werden die Proben in einem TRFA Spektrometer (S2 PICOFOX, Bruker AXS Microanalysis GmbH, Berlin) gemessen, und in diesem Fall der Selengehalt in den jeweiligen Seren der Patienten erfasst.

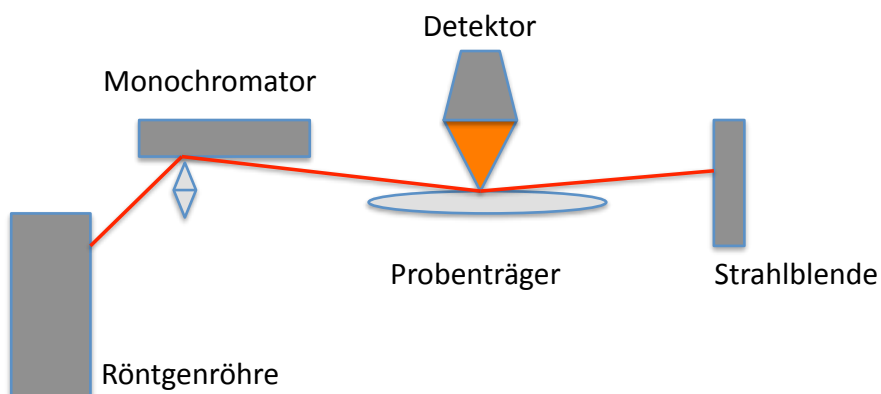


Abb. 7

### **Quantitative Selenbestimmung mittels Totalreflexions-Röntgenfluoreszenzanalyse (TRFA)**

Die Spurenelemente auf dem Probenträger werden mittels Röntgenstrahlen kurzzeitig angeregt, Licht abzugeben (Fluoreszenz). Die Wellenlänge dieser Fluoreszenz ist für jedes Spurenelement spezifisch und die Peakfläche ist zur Konzentration proportional, und dient so der qualitativen und quantitativen Erfassung durch den Detektor.

### **3.4 Datenauswertung und Statistik**

Für die Datenauswertung und Statistik wurden Graphpad Prism 5 und Microsoft Excel 2011 verwendet.

Um Unterschiede im SePP- bzw. Selengehalt festzustellen wurde der unpaired t-Test angewendet. Eine signifikante Wahrscheinlichkeit ( $p$ -Wert  $< 0,05$ ) wird mit einem \* markiert.

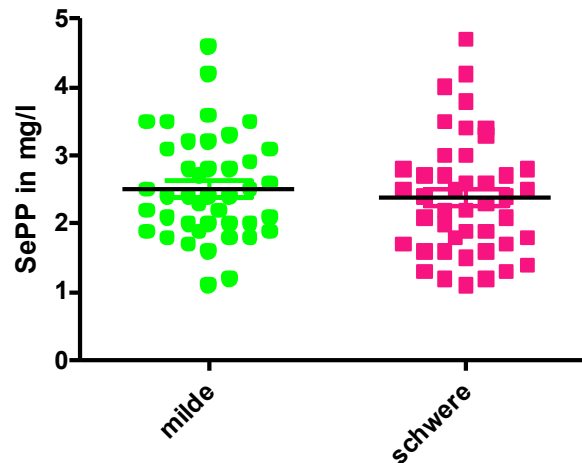
## **4 Ergebnisse**

In dieser Dissertation wird der Frage nachgegangen, inwiefern sich der Selenstatus von Patienten mit schwerer- und milder- EO quantitativ unterscheidet. Wie bereits im Kapitel Material und Methoden erwähnt, wurden ausschließlich Frauen in die Untersuchungen eingeschlossen. Es wurde von 42 Probanden mit milder EO und 44 mit schwerer EO, nach ausführlicher Aufklärung und ausdrücklicher, freiwilliger Teilnahme Blut abgenommen. Die Serumanalysen wurde entsprechend des Helsinki Abkommens behandelt und wurden vom Ethikkomitee der Universitätsklinik Essen (No: 02-1860) genehmigt. Darüberhinaus wurden die Probanden bezüglich eventueller Selensubstitution befragt. In allen Blutproben wurde die SePP- und die Gesamtselenkonzentration gemessen. Im folgenden Abschnitt werden die Messungsergebnisse dargestellt. Die Aufzeichnung der Ergebnisse erfolgt in vier Untergruppen: Milde- , Schwere- , klinisch aktive- und klinisch inaktive EO.

Die Diagramme zeigen jeweils den Mittelwert, die Standardabweichung sowie die Gesamtverteilung des SePP- bzw. Selengehaltes.



#### 4. 1. SePP-Ergebnisse



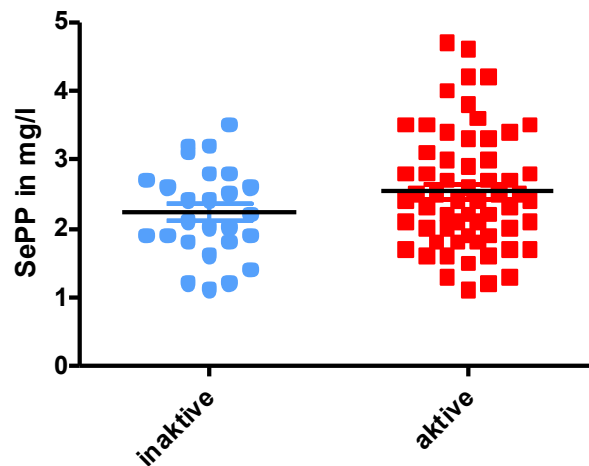
**Abb. 8**

##### **Gesamt-SePP-Konzentration in Serum (mg/l) bei milder und schwerer EO.**

Die Abbildung zeigt die Serum-SePP-Konzentration von 42 Patienten mit milder und 44 Patienten mit schwerer EO. Der SePP-Mittelwert betrifft bei milder EO  $2,5 \pm 0,1$  mg SePP/l Serum und bei schwerer EO  $2,4 \pm 0,1$  mg/l. Es ist ein kein signifikanter Unterschied ( $p < 0,4672$ ) im SePP-Gehalt zwischen der milden- und der schweren EO festzustellen.

Wie bereits im Kapitel 2.2.5 erwähnt beinhaltet SePP etwa die Hälfte des gesamten Serumselens in Form von bis zu zehn Selenocystein-Resten pro SePP-Molekül. Sec-Proteine sind im Gegensatz zu SeMet-Proteinen essentiell und werden abhängig vom Selenstatus synthetisiert. Aus letzteren Gründen eignet sich SePP sehr gut, um den Selenstatus eines Individuums einzuschätzen. Allerdings wurde noch kein offizieller Referenzwert für SePP etabliert.

Der von Hollenbach et al. publizierte durchschnittliche SePP-Wertebereich der Normalbevölkerung liegt bei 2,6– 3,4 mg/l (Hollenbach, Morgenthaler, Struck, 2008). Dieser SePP-Durchschnittswert ist allerdings nicht als universal gültig zu sehen, da er anhand von Messungen an gesunden Sportlern ermittelt wurde. Die durchschnittlichen SePP-Werte der Probanden liegen leicht unterhalb des von Hollenbach et al. publizierten Durchschnittswert.



**Abb. 9**

**Gesamt-SePP-Konzentration in mg pro Liter Serum bei inaktiver und aktiver EO**

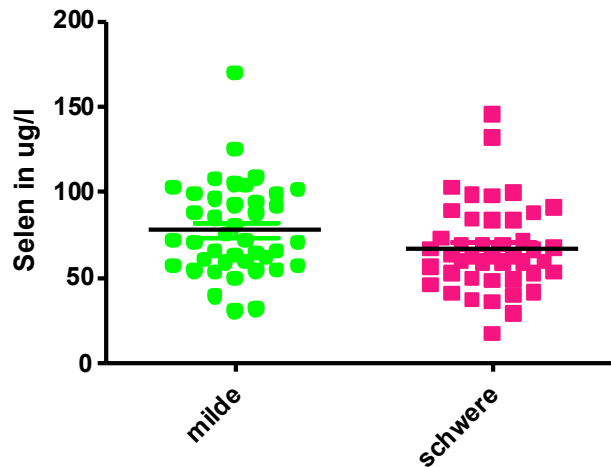
Die Abbildung vergleicht den Serum-SePP-Gehalt von Patienten mit klinischer aktiver EO (n= 26) und Patienten mit klinisch inaktiver Entzündung (n=61). Patienten mit einer nicht aktiv entzündlichen EO hatten eine im Durchschnitt nicht-signifikant niedrigere SePP-Konzentration von  $2,2 \pm 0,1$ mg/l im Vergleich zu  $2,5 \pm 0,11$  mg SePP/l bei Patienten mit einer aktiven Entzündung.

Es zeigte sich weder zwischen milder und schwerer EO noch bezüglich der Entzündungsaktivität (inaktive und aktive EO) ein signifikanter Unterschied in der SePP-Konzentration.

**4. 2. Selen-Ergebnisse**

Es wurde mittels der TRF-Analyse der Selengehalt im Serum von EO-Patienten gemessen, um der Frage nachzugehen, ob Patienten, die schwerer betroffen sind bzw. eine höhere Entzündungsaktivität aufweisen, einen signifikant unterschiedlichen Selengehalt aufweisen.

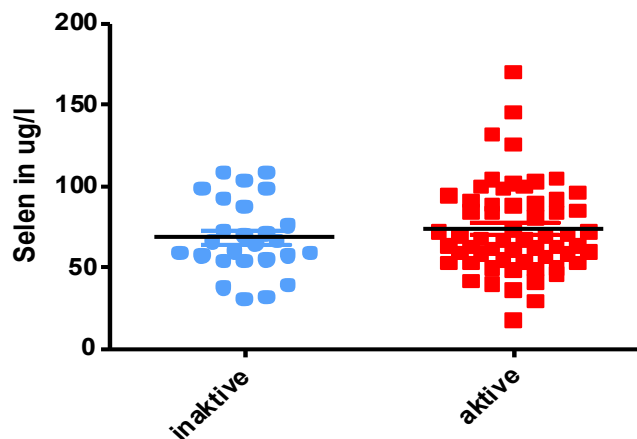
Im Gegenteil zur SePP-Serumkonzentration sind für die Selenserumkonzentration Referenzwerte der gesunden Normalbevölkerung etabliert (Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie der Charité, 2008). In Deutschland gelten Selenwerte zwischen 50 und 120 µg/l als normwertig.



**Abb. 10**

**Gesamt-Selenkonzentration in µg/l bei milder und schwerer EO**

Der Selengehalt bei milder EO lag mit  $77,5 \pm 4,2 \mu\text{g/l}$  nicht signifikant höher als der Selengehalt bei schwerer EO ( $66,9 \pm 3,8 \mu\text{g/l}$ ).



**Abb. 11**

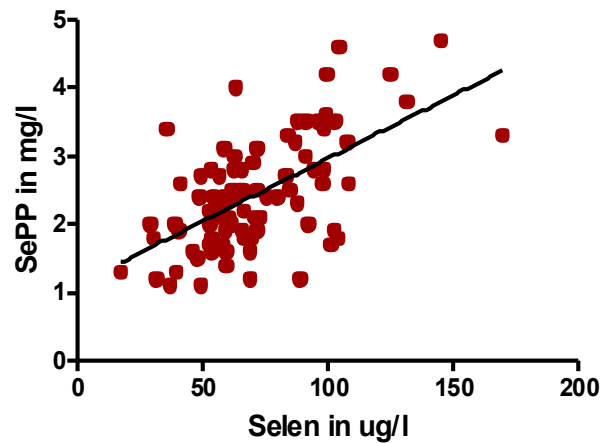
**Gesamt-Selenkonzentration in µg/l bei inaktiver und aktiver EO**

Die Abbildung zeigt die Konzentration von Selen im Serum bei inaktiver und aktiver EO. Es besteht kein signifikanter Unterschied.

Die Probanden mit einer als aktiv eingestuftem Entzündung wiesen durchschnittlich mit  $73,4 \pm 3,6 \mu\text{g/l}$  einen nicht signifikant höhere Selenkonzentration als Patienten mit einer inaktiven Augenentzündung ( $68,1 \pm 4,5 \mu\text{g/l}$ )

Im Durchschnitt lagen alle vier Patientengruppen in der unteren Hälfte des für Deutschland etablierten Selenreferenzbereiches von 50-120 µg /l Serum.

### 4. 3. Korrelation zwischen Selen und SePP



**Abb. 12**

#### **Korrelation SePP in mg/l versus Selen in µg/l aller EO-Probanden**

Die Abbildung stellt den SePP- und den Selengehalt aller 86 EO Probanden gegenüber.

Es zeigen sich ein durchschnittlicher SePP-Wert von 2,4 mg/l und ein Selenmittelwert von 63,7 µg/l. Die Probanden liegen somit den SePP-Gehalt betreffend leicht unterhalb des vorgeschlagenen Referenzwertes und den Selengehalt betreffend in der unteren Hälfte des etablierten Referenzbereiches. Probanden mit einem Selengehalt von 100 µg/l wiesen durchschnittlich eine SePP-Konzentration von etwa 3 mg/l auf.

Die Abbildung zeigt darüberhinaus, dass ein Anstieg des Serumselens mit einem linearen Anstieg des SePP-Gehaltes korreliert.

## 5 Diskussion

Der vorliegenden Arbeit lag die Hypothese zugrunde, dass eine schwer verlaufende EO einen zunehmenden Selenmangel bedingt, und somit der Selenstatus von EO Patienten negativ zu ihren Erkrankungsparametern wie Schwere oder Aktivität der Erkrankung korreliert.

Es ist bekannt, dass eine Schilddrüsenüberfunktion einen Hypermetabolismus bedingt (Allan, Lacourciere, & Stadtman, 1999). Letzterer führt zu einem erhöhten Anteil von oxidativem Stress und oxidierten Metaboliten in den jeweiligen Zellen (Duntas, 2012).

In der Schilddrüse selbst steigt ebenfalls die Konzentration an freien Radikalen an, da für die Synthese von  $T_3$  und  $T_4$  das meta-stabile  $H_2O_2$  benötigt wird und anfällt. Bei der Hyperthyreose könnte sich dementsprechend vermehrt  $H_2O_2$  in der Schilddrüse ansammeln und vermehrt zu Zellschäden führen (Köhrle, Jakob, Contempre, 2005).

Bezüglich des Verlaufs der EO konnte gezeigt werden, dass dieser mit dem Titer an TSH-Rezeptor-Autoantikörpern korreliert. Dementsprechend ist eine schwere EO meist auch mit einem schweren Verlauf der Schilddrüsenüberfunktion und hohen TSH-Rezeptor Autoantikörperkonzentrationen vergesellschaftet (Eckstein & Esser, 2010). Ferner wiesen Burch et al. bereits 1997 nach, dass freie Radikale die Entstehung einer EO begünstigen können (Burch, Lahiri, Bahn, 1997).

Da Selenoproteine eine unverzichtbare Rolle in der Reduzierung oxidierter Moleküle und den antioxidativen Schutzsystemen spielen, wurde in dieser Arbeit die Möglichkeit getestet, ob insbesondere Patienten mit einer schweren bzw. aktiven EO einen schlechten Selenstatus bzw. erhöhten Verbrauch der selenabhängigen Systeme aufweisen. Das Design unserer Analysen erlaubt jedoch nicht, zwischen Prädisposition, d.h. ein Selenmangel begünstigt eine schwere EO, und Folge, d.h. erst aufgrund der Erkrankung sinkt der Selenstatus in den Patienten ab, zu unterscheiden.

Womöglich ist ein defizitärer Selenstatus, wenn er gemeinsam mit einer genetischen Disposition auftritt, sogar der auslösende oder zumindest begünstigende Faktor für die Entwicklung einer autoimmunen Schilddrüsenerkrankung (Derumeaux, Valeix, Castebon, 2003) (Köhrle & Gärtner, 2009). Als Grund dafür wird die immunmodulierende Wirkung, die den Selenoproteinen neben ihrer Redox-Funktion zugesprochen wird, verantwortlich gemacht (Huang, Rose, & Hoffmann, 2012).

Selenoproteine wirken anti-inflammatorisch und werden als negative Akute-Phase-

Proteine bezeichnet (Nicol, Herdman, & Satter, 1998). So konnten Satter et al. eine inverse Korrelation zwischen der Serumkonzentration des Akute-Phase-Proteins CRP und dem Selengehalt feststellen (Sattar, Scott, & McMillian, 1997). Umgekehrt konnte sowohl im Mausmodell als auch beim Menschen gezeigt werden, dass vor allem proinflammatorische Zytokine die Expression von Selenoproteinen hemmen (Stoedter, Renko, & Hoeg, 2010) (Dreher, Schmutzler, Jakob, 1997).

Der immunmodulierende Effekt im Sinne einer Entzündungshemmung wird auch als hauptsächlicher Grund für den Nutzen der Selensubstitution bei Hashimoto-Patienten genannt (Gärtner, Gasnier, Dietrich, 2002). Allerdings ist bei den Studien mit Hashimoto-Patienten kein einheitliches Muster der Selenwirkung festzustellen, und somit auch noch kein generelles Wirkprinzip ableitbar (Schomburg, 2011)

Um die obengenannten Hypothesen zu prüfen, wurden in der vorliegenden Arbeit der SePP- und der Selengehalt im Serum bei milder und schwerer EO gemessen und quantitativ miteinander verglichen. Die Ergebnisse zeigen eindeutig, dass beide Selenparameter gut im Serum der Patienten korrelieren. Da SePP ab einer Serum-Selenkonzentration von ca. 125 µg/L maximal exprimiert wird, sind diese Ergebnisse dahingehend zu interpretieren, dass die EO Patienten noch keine maximalen SePP-Expressionen und damit einen latenten Selenmangel, wie er in Europa typisch ist, aufweisen. Eine Supplementation würde in diesen Patienten wahrscheinlich zu einem erhöhten SePP- und Selenstatus führen, und ggf. positive gesundheitliche Auswirkungen haben, da dadurch auch andere Selenoproteine vermehrt synthetisiert werden könnten. Neben der Frage nach dem Unterschied zwischen milder und schwerer EO wurde in dieser Arbeit auch untersucht, ob sich der Selenstatus von einer zu diesem Zeitpunkt aktiv entzündlichen- von einer inaktiv entzündlichen EO unterscheidet. Diese Analyse betrachtet also die Aktivität des Immunsystems im Hinblick auf den Selenstatus etwas direkter und könnte somit im Umkehrschluss auch eine bessere Einschätzung des therapeutischen Potentials einer Selensupplementation erlauben. Offen bleibt in dieser Arbeit jedoch die Frage, wie sich der Selenstatus von Patienten mit Morbus Basedow ohne Augenbeteiligung und von gesunden Probanden im Vergleich zu den EO Patienten verhält, da das untersuchte Patientenkollektiv keine gesunden Probanden und keine EO-freien Patienten mit M. Basedow umfasste. Hierzu gibt es allerdings neuere Befunden aus der Literatur, die diesbezüglich bereits darlegen, dass Morbus Basedow Patienten einen hochsignifikant niedrigeren Selengehalt als euthyreote Menschen haben (Bülow Pedersen, Knudsen, Carlé, 2013). Überraschenderweise konnte weder im SePP- noch im

Selenstatus ein signifikanter Unterschied zwischen milder und schwerer EO gezeigt werden. Dieses Ergebnis deutet an, dass es unwahrscheinlich ist, dass ein vorliegender Selenmangel einen starken Einfluss auf die Schwere der EO Erkrankung hat und die Schwere der Erkrankung einen negativen Einfluss auf den Selenstatus ausübt. Hätte sich hier ein deutlicher Unterschied gezeigt, so müsste postuliert werden, dass sich ein Selenmangel während der Entwicklung der EO einstellt und eine Selensupplementation ggf. dieser Komplikation direkt entgegen wirken könnte. Da sich hier aber kein direkter Zusammenhang zwischen Schwere der EO und Selenstatus zeigt, rückt die Frage nach der Bedeutung der Entzündungsaktivität in den Fokus. Die Entzündungsaktivität ist eher direkt mit dem Immunsystem verbunden als die Schwere der EO. Nach unserer Hypothese der negativen Regulation des Selenstatus durch proinflammatorische Zytokine ist zu erwarten, dass sich auch zwischen Selenstatus und EO Entzündungsaktivität eine negative Korrelation findet. Wiederum überraschenderweise war kein signifikanter Unterschied im Selenstatus bei sehr aktiver versus wenig aktiver EO festzustellen.

Alle vier Probandenuntergruppen (milde-, schwere-, inaktive- und aktive EO) lagen mit ihrem Selengehalt durchschnittlich in der unteren Hälfte des Referenzwertes von 50 bis 120 µg Selen pro Liter Serum.

Die Frage, ob die EO-Probanden innerhalb des Referenzbereichs für SePP lagen, kann nicht sicher beantwortet werden, da bisher noch kein Konsens für eine normale Serum-SePP-Konzentration in der Bevölkerung gefunden wurde. Allerdings muss man angesichts der Selenkonzentrationen erwarten, dass die Patienten, wie oben erläutert, auch bzgl. SePP eine submaximale Expression zeigen.

Diese Einschätzung wird durch die Publikation von Hollenbach et al. gestützt, die in einem Kollektiv gesunder Erwachsener einen Normalwert von 2,6 – 3,4 mg SePP/l Serum bestimmt hat (Hollenbach, Morgenthaler, Struck, 2008); dieser Wert wird von den meisten der hier untersuchten EO Patienten deutlich unterschritten.

Diese Einschätzung lässt sich am deutlichsten anhand von Abb. 12 nachvollziehen. Diese zeigt einen linearen SePP-Anstieg bei steigenden Selenkonzentrationen. Selen- und SePP-Gehalt korrelieren also miteinander, da SePP noch nicht maximal exprimiert ist. Einen ähnlichen Kurvenverlauf zeigt die Korrelation von SePP und Selen typischerweise in nicht ausreichend mit Selen versorgten Probanden, wie z.B. bei 62 Nierenkrebs-Patienten aus Deutschland, bei denen ebenfalls die Selen- und SePP-Konzentrationen aus den gleichen Serumproben bestimmt wurden (Meyer, Endermann, & Stephan, 2012). Im Gegensatz dazu lässt die Gegenüberstellung der SePP- und Selenserumkonzentration

einer US-amerikanischen Probandengruppe einen nahezu horizontalen Kurvenverlauf ohne erkennbare Korrelation des Selenwertes mit der SePP-Konzentration erkennen (Combs, Watts, Jackson, 2011). Die 261 Probanden waren bereits mit Selen ausreichend versorgt. Ob sie dennoch aus einer Selensubstitution einen gesundheitlichen Nutzen ziehen könnten ist fraglich. Insbesondere angesichts der eher negativen Resultate bezüglich Selensubstitution der prospektiven SELECT Studie aus den USA (Klein, Thompson, Tangen, 2011) .

Obwohl die oben genannten Hypothesen hier nicht bestätigt werden konnten, hatten in einer Arbeit von Kucharzewski et al. Morbus Basedow Patienten verglichen mit Gesunden und Patienten mit anderen Schilddrüsenerkrankungen den niedrigsten Selengehalt (Kucharzewski, Braziewicz, Majewska, 2002). In dieser polnischen Studie wurde der Selengehalt von 41 Frauen mit Schilddrüsenstruma, 19 Frauen und zwei Männern mit Schilddrüsenkarzinom , 18 Frauen mit Hashimoto Thyreoditis und 18 Frauen mit Morbus Basedow miteinander verglichen. Die Kontrollgruppe bestand aus 30 gesunden Frauen und 20 gesunden Männern. Der Selengehalt wurde mittels der TRF Methode (s. Kapitel 3.3) im Serum und im Schilddrüsengewebe der Erkrankten gemessen. Die Kontrollgruppe hatte den höchsten Selen Serumgehalt, die Basedow Patienten den niedrigsten. Allerdings waren die Unterschiede im Selenstatus zwischen den einzelnen Patientengruppen nicht signifikant.

Die Aussagekraft dieser Studie ist darüberhinaus vermutlich aufgrund der geringen Anzahl an Patienten (lediglich 18 Basedow Patienten) eingeschränkt. Ein weiterer Störfaktor könnte dadurch entstanden sein, dass die vorwiegend weiblichen Patienten auch mit gesunden Männern verglichen wurden. Da Männer einen durchschnittlich höheren Selenwert aufweisen (Schomburg & Schweizer, 2009), müssten sie von Frauen getrennt betrachtet werden.

In einer Arbeit, die 2010 lediglich auf dem europäischen Kongress für Endokrinologie vorgestellt - aber bisher nicht veröffentlicht wurde, konnte wiederum kein Unterschied in der Selenkonzentration zwischen Patienten mit milder EO und Gesunden festgestellt werden (Krassas, Karras, & Boboridis, 2010). Da diese Studie nicht zugänglich ist, können die Methoden sowie das Ergebnis hier nicht weiter erläutert werden.

In einer, bereits oben erwähnten, 2013 veröffentlichten dänischen Studie zeigte sich ein hochsignifikant niedrigerer Serumselengehalt bei Morbus Basedow Patienten im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe (Bülow Pedersen, Knudsen, Carlé, 2013). In dieser Fall-



Kontroll-Studie wurde mittels der TRF Methode der Selengehalt der Probanden gemessen. Genauer gesagt wurde das Serum von 97 Basedow Patienten, 96 Hashimoto Patienten, 92 Probanden die euthyreotisch waren, aber einen TPO-AK-Titer > 1500 U/ml aufwiesen und 830 gesunden Probanden gemessen und miteinander verglichen.

In der univariaten Analyse hatten lediglich die Basedow Patienten einen signifikant niedrigeren Selengehalt. In der multivariaten Analyse, in der Rauchverhalten, Geschlecht, Alter und Zeitpunkt der Blutentnahme mitberücksichtigt wurden, hatten auch die Hashimoto Patienten einen signifikant ( $p=0,04$ ) niedrigeren Selenstatus als die euthyreoten Probanden.

Allerdings fand sich weder eine Korrelation zwischen Selenstatus und TRAK-Konzentration noch zwischen Serumselen und Schilddrüsenfunktion. Letzteres ist insofern mit den hier vorgestellten Ergebnissen im Einklang, denn auch wir konnten keine Korrelation zwischen Selenstatus und Schweregrad feststellen.

Den Einfluss, den womöglich die Schilddrüsenmedikamente, die ein Großteil der Patienten zu dem Zeitpunkt einnahmen, auf den Selenstatus hatte, wurde in der dänischen Arbeit nicht mitberücksichtigt.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass der Selenstatus bei Basedow Patienten nur selten untersucht wurde. EO Patienten wurden dabei nur in der noch unveröffentlichten Studie von Krassas et al. gesondert betrachtet. Wenn man sowohl die dänische- und polnische Studie als auch unsere Ergebnisse betrachtet, ist jedoch die Tendenz erkennbar, dass Basedow Patienten im Vergleich zur europäischen Bevölkerung eine schlechtere Selenversorgung aufweisen, dieses Defizit nicht aber mit der Schwere oder Aktivität der EO korreliert. Eine bessere Selenversorgung, z.B. mittels Substitution, würde eine höhere SePP-Expression und somit vermutlich einen suffizienteren Zellschutz- sowie eine verminderte Entzündungsreaktion gewährleisten können. Zur Verifizierung dieser Aussage wären weitere Untersuchungen mit größeren Probandenkollektiven, in denen Basedow Patienten ohne-, mit milder- und mit schwerer EO sowie gesunde Probanden miteinander verglichen werden, für die Zukunft wünschenswert. Gerade im Hinblick auf das therapeutische Potential der Korrektur eines Selendefizits wäre die ideale Konzeption natürlich eine diesbezügliche randomisierte verblindete multizentrische Supplementationsstudie in Europa, denn angesichts des hier vorliegenden tendenziellen Selendefizits wären die Erfolgsaussichten hier deutlich besser als z.B. in den gut mit Selen versorgten USA.

Eindeutiger als die Untersuchungen zum Selenstatus bei Basedow Patienten ist die Datenlage zum Nutzen einer Selensubstitution bei Morbus Basedow und EO. So erreichten Morbus Basedow Patienten schneller einen euthyreoten Zustand, wenn sie zusätzlich zum Thyreostatikum Selen einnahmen (Bacic-Vrca, Skrep, Cepelak, 2004). In dieser kroatischen Studie wurden die Patienten der Gruppe A mit Antioxidantien (Vitamin C und E, beta-Karotin und Selen) und dem Thyreostatikum Methimazol behandelt, wohingegen Patienten der Gruppe B nur mit Methimazol behandelt wurden. Die Patienten der Gruppe A erlangten schneller einen euthyreoten Stoffwechsel. Der Verlauf der EO wurde in dieser Studie allerdings nicht untersucht. Da die Einstellung einer Euthyreose aber ein wichtiger Bestandteil der EO Therapie darstellt, ist auch ein gewisser Vorteil bezüglich des EO-Verlaufs in der Gruppe A nicht unwahrscheinlich. Offen bleibt jedoch die Frage, welches supplementierte Antioxidans die größte Rolle beim Erlangen einer Euthyreose spielte.

Einen Nutzen durch Selensubstitution bei milder bis moderater EO konnten auch Bouzas et al. zeigen (Bouzas, Karadimas, Mastorakos, 2000). In dieser prospektiven, nicht randomisierten Studie der Universitätsklinik Athen hatten Patienten mit milder bis moderater EO und Selensubstitution einen Vorteil bezüglich Entzündungsaktivität und Patientenzufriedenheit gegenüber Patienten, die ein Placebo erhielten. Eine 2011 publizierte randomisierte, doppel-blinde, Placebo-kontrollierte Studie zeigte einen positiven Effekt durch Selensubstitution bei milder EO. In dieser Studie wurden 152 Patienten in verschiedenen europäischen Zentren mit milder EO entweder mit dem Entzündungshemmer Pentoxifylline, zweimal täglich mit 100 µg Selenit oder mit einem Placebo behandelt.

Nach sechs Monaten konnte eine hochsignifikante Verbesserung der Lebensqualität in der Selengruppe gegenüber der Pentoxifylline- und der Placebogruppe festgestellt werden.

Der EO-spezifische-Fragebogen (GO-QOL) zur Lebensqualität misst vor allem subjektive Einschränkungen der Sehkraft und durch das veränderte Aussehen hervorgerufene psychosoziale Probleme.

Der CAS verbesserte sich in jeder Gruppe, jedoch war dieser Effekt am stärksten bei den Patienten mit Selensubstitution. Auch nach 12 Monaten hatten die Patienten in der Selengruppe die besten Ergebnisse in der Befragung zu Lebensqualität sowie bezüglich des Progresses der EO, obwohl die aktive Selengabe nur über die ersten 6 Monate durchgeführt wurde (Marocci, Kahlay, & Krassas, 2011).

Nebenwirkungen, die auf die Seleneinnahme zurückgeführt werden müssten, traten in

keiner der drei Studien auf.

Betrachtet man die Datenlage zur Selen substitution bei milder EO erscheint es erstaunlich, dass die Selen substitution, als nebenwirkungsarme und kostengünstige zusätzliche Therapie noch nicht in den Leitlinien der EO-Therapie berücksichtigt wird.

In diesem Zusammenhang soll hier noch auf den ökonomischen Aspekt der EO-Therapie eingegangen werden (Ponto, Merkesdal, & Hommel, 2013). Ponto et al. haben in ihrer Arbeit die Kosten aufgeführt, die durch EO-Therapie und EO-bedingte-Arbeitsunfähigkeit hervorgerufen werden.

Eine eingeschränkte bis nicht mehr vorhandene Arbeitsfähigkeit ist bei EO-Patienten meist durch einen Verlust der Sehfähigkeit bedingt. Stellt man die Therapiekosten denen durch Krankheitstage und Frühberentung entstandene Kosten gegenüber, so stellt man fest, dass letztere die Therapiekosten um ein vielfaches überschreiten. Die Senkung dieser indirekten Kosten sollte, neben der Verbesserung der Lebensqualität, durch Optimierung der Therapie ebenfalls angestrebt werden.

Patienten mit schwerer EO wurden in bisher keiner Studie berücksichtigt, so dass sich die Frage aufdrängt, ob auch diese Patientengruppe von einer Selen substitution profitieren könnte. Wie bereits im Kapitel 2.1.7 erläutert wird die schwere EO mit intravenösen oder oralen Glukokortikoiden und ggf. Orbitabestrahlung therapiert, wo hingegen bei der milden EO, neben der Einstellung eines euthyroten Stoffwechsels, eine meist beobachtende Haltung eingenommen wird (Marocci & Marino, 2012). Da in unseren Messungen dieser Unterschied nicht berücksichtigt wurde, stellt sich die Frage, ob die unterschiedliche Medikamenteneinnahme einen Störfaktor in der Auswertung der Messergebnisse darstellt. Es gibt Hinweise, dass die Aktivierung des human Glukokortikoidrezeptors die Expression von SePP herunterreguliert und so die Gabe von Dexamethason die SePP-Konzentration senken könnte (Rock & Moos, 2009). Da nur acht Probanden mit schwerer EO und zwei mit milder EO zu dem Zeitpunkt Glukokortikoide einnahmen, ist aber nicht von einem bedeutenden Störfaktor auszugehen.

Um den Einfluss von Kortison auf den Selenstoffwechsel beurteilen zu können, bedarf es jedoch weiterer Untersuchungen.

Auffällig ist, dass die bisher durchgeführten Studien zur Selen substitution bei Morbus Basedow und EO nur in europäischen Ländern durchgeführt wurden.

Die Böden Europas sind bekanntlich selenarm (siehe Tabelle Kapitel 2.2.2), so dass auch von einer Selenunterversorgung der europäischen Bevölkerung und damit der

europäischen M. Basedow Patienten ausgegangen werden kann.

Auch die aufgeführten Studien zur Selen substitution bei Hashimoto-Thyreoiditis fanden ausschließlich in Europa statt (Schomburg, 2011)

Einen signifikanten Nutzen durch die zusätzliche Einnahme des Spurenelementes konnten sowohl die Morbus Basedow- als auch einige Hashimoto-Studien zeigen.

Fraglich bleibt, ob auch Patienten aus selenreichen Gebieten wie z.B. aus den USA oder bestimmten Regionen Chinas von einer Supplementation profitieren würden oder ob eine Selenunterversorgung als Ausgangssituation eine Bedingung für diesen Nutzen darstellt.

Möglicherweise kommt es hier durch unveröffentlichte Studien zur Selen substitution bei Basedow Patienten in selenreichen Gebieten, die zu keinem signifikantem Ergebnis geführt haben, zu einem Publikations-Bias, da häufig nur die erfolgreichen Studien auch in der wissenschaftlichen Literatur publiziert werden.

Wünschenswert wären deswegen Daten zur Selen substitution bei EO in selenreichen Gebieten, ungeachtet dessen, ob diese nun einen positiven Effekt oder keinen zeigen. Es ist nur schwer vorstellbar, dass diese in Europa nun mehrfach erfolgreich durchgeführte adjuvante Therapie noch nicht in besser versorgte Gebieten wie z.B. den USA ausgetestet wurde.

Abschließend sei erwähnt, dass die Ergebnisse dieser Arbeit die Annahme unterstützen, dass sich SePP sehr gut als Biomarker für den Selenstatus eines Menschen eignet.

Wie bereits im Kapitel 2.2.5. erwähnt wurde, sind ca. 50% des Serumselens in SePP enthalten; außerdem beinhaltet das Transportprotein nur das biologisch bedeutsame Sec und nicht die Fraktion SeMet-haltiger Proteine (Schomburg, Schweizer, & Köhrle, 2004).

Die Messergebnisse im Kapitel 4.3. zeigen für SePP und Selen vergleichbare Tendenzen. Nämlich dass die Probanden unterdurchschnittlich bis niedrig-normal mit Selen versorgt sind. Ein weiterer Hinweis, dass SePP ein bedeutsamer Biomarker ist, zeigt die Korrelation von SePP und Selen der Abb. 12. Für die Zukunft wäre insofern die Etablierung eines SePP-Referenzwertes von großer Bedeutung.

In der vorliegenden Arbeit konnte keine Korrelation zwischen dem Schweregrad der EO und dem Selenstatus gezeigt werden. Jedoch zeigt sich, dass EO Patienten, die einem hohen oxidativen Stress ausgesetzt sind, einen tendenziell schlechteren Selenstatus als die bereits unterversorgte europäische Bevölkerung aufweist.

Aus diesem Grund, und aufgrund des heutigen Wissens über die gesundheitliche

Bedeutung von Selen und der oben aufgeführten Studienlage zur Selensubstitution, sollte diese kostengünstige und nebenwirkungsarme Therapieoption bei Patienten mit milder EO stets erwogen werden. Es wäre wünschenswert, eine solche Selensubstitution mit einem entsprechenden laborklinischen Monitoring zu begleiten, um Überdosierungen zu vermeiden und nur die wirklich selendefizienten Patienten zu supplementieren.

## 6 Literaturverzeichnis

- Allan, C., Lacourciere, G., & Stadtman, T. (1999). Responsiveness of selenoproteins to dietary selenium. *Ann Rev Nutr* , 19, 1-16.
- Bacic-Vrca, V., Skrep, F., Cepelak, I., & al. (2004). Supplementation with antioxidants in the treatment of Graves' disease; the effect on glutathione peroxidase activity and concentration of selenium. *Clin Chem Acta* , 341 (1-2), 55-63.
- Bahn, R. (2010). Graves' Ophthalmopathy. *N Engl J Med* , 362 (8), 726-38.
- Barceloux, D. (1999). Selenium. *J Toxicol Clin Toxicol* , 37 (2), 145-72.
- Bartley, G., Fatourechi, V., Kadrmas, E., & al. (1996). Long-term follow-up of Graves' ophthalmopathy in an incidence cohort. *Ophthalmology* , 103 (6), 958-962.
- Behne, D., & Kyriakopoulos, A. (2001). Mammalian selenium- containing proteins. *Annu Rev Nutr* , 21 ( ), 453-473.
- Bock, A., Forchhammer, K., Heider, J., & al. (1991). Selenoprotein synthesis: an expansion of the genetic code. *Trends Biochem Sci* , 16 (12), 463-7.
- Bouzas, E., Karadimas, P., Mastorakos, G., & al. (2000). Antioxidant agents in the treatment of Graves' ophthalmopathy. *Am J Ophthalmol.* , 129 (5), 618-22.
- Bülow Pedersen, I., Knudsen, N., Carlé, A., & al. (2013). Serum selenium is low in newly diagnosed Graves disease. A population based study. *Clin Endocrinol (Oxf)*.
- Burch, H., Lahiri, S., Bahn, R., & al. (1997). Superoxide radical production stimulates retroocular fibroblast proliferation in Graves' ophthalmopathy. *Exp Eye Res.* , 65 (2), 311-6.
- Burk, R., & KE, H. (2005). Selenoprotein P: an extracellular protein with unique physical characteristics and a role in selenium homeostasis. *Annu Rev Nutr.* , 25, 215-35.
- Carlson, H. (1980). Gynecomastia. *N Engl J Med.* , 303 (14), 795-9.
- Classen, M., & Diehl, V. (2004). *Innere Medizin*. Deutschland: Urban & Fischer.
- Combs, G. (2001). Selenium in global food systems. *B J Nutr.* , 85 (5), 517-47.
- Combs, G., & Gray, WP (1998). Chemopreventive agents: selenium. *Pharmacol Ther.* , 79 (3), 179-92.
- Combs, G., Watts, J., Jackson, M., & al. (2011). Determinants of Selenium Status in Healthy Adults. *Nutr J.* , 75.

- Contempre, B., Dumont, J. D., & al. (1995). Effects of selenium deficiency on thyroid necrosis, fibrosis and proliferation: a possible role in myxoedematous cretinism. *Eur J Endocrinol.* , 133 (1), 99-109.
- Contempre, B., Le Moine, O., Dumont, J., & al. (1996). Selenium deficiency and thyroid fibrosis. A key role for macrophages and transforming growth factor beta (TGF- beta). *Mol Cell Endocrinol.* , 124 (1-2), 7-15.
- Cooper, D. (2003). Hyperthyroidism. *Lancet.* , 362 (9382), 459-68.
- Costenbader, K., & Karlson, E. (2006). Cigarette smoking and autoimmune disease: what can we learn from epidemiology? *Lupus.* , 15 (11), 737-45.
- Derumeaux, H., Valeix, P., Castebon, K., & al. (2003). Association of selenium with thyroid volume and echostructure in 35 to 60-year-old Franch adults. *Eur J Endocrinol.* , 148 (3), 309-15.
- Dietel, M., & Zeitz, D. (2009). *Harissons Innere Medizin*. Lehmanns.
- Dreher, I., Schmutzler, C., Jakob, F., & al. (1997). Expression of selenoproteins in various rat and human tissues and cell lines. *J Trace Elem Med Biol.* , 11 (2), 83-91.
- Duntas, L. (2012). The evolving role of selenium in the treatment of graves' disease and ophthalmopathy. *J Thyroid Res*.
- Duntas, L. (2006). The role of selenium in thyroid autoimmunity and cancer . *Thyroid.* , 16 (5), 455-60.
- Duntas, L., Mantzou, E., & Koutras, D. (2003). Effects of six month treatment with selenomethionine in patients with autoimmune thyroiditis. *Eur J Endocrinol.* , 148 (4), 389-93.
- Eckstein, A., & Esser, J. (2010). Graves' ophthalmopathy. *Internist (Berl).* , 51 ( 5), 584-95.
- Eckstein, A., Lax, H., Losch, C., & al. (2007). Patients with severe Graves' ophthalmopathy have a higher risk of relapsing hyperthyroidism and are unlikely to remain in remission. *Clin Endocrinol (Oxf).* , 67 (4), 607-12.
- Eckstein, A., Pflicht, M., Lax, H., & al. (2006). Thyrotropin receptor autoantibodies are independent risk factors for Graves' ophthalmopathy and help to predict severity and outcome of the disease. *J Clin Endocrinol Metab.* , 91 (9), 3464-70.
- Fatourech, V. (2005). Pretibial myxedema: pathophysiology and treatment options. *Am J Clin Dermatol.* , 6 (5), 295-309.
- Figurovski, N. (1981). *Die Entdeckung der chemischen Elemente und der Ursprung ihrer Namen*. Aulis Verlag Deubner.
- Fujishima, Y., Ohsawa, M., Itai, K., & al. (2011). Serum selenium levels are inversely associated with death risk among hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* , 26 (10), 3331-8.

- Gärtner, R., & Gasnier, B. (2003). Selenium in the treatment of autoimmune thyroiditis. *Biofactors* , 19 (3-4), 165-70.
- Gärtner, R., Gasnier, B., Dietrich, J., & al. (2002). Selenium supplementation in patients with auto-immune thyroiditis decreases thyroid peroxidase antibodies concentrations. *J Clin Endocrinol Metab.* , 87 (4), 1687-91.
- Gianoukakis, A., & Smith, T. (2008). Recent insights into the pathogenesis and management of thyroid-associated ophthalmopathy. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* , 15 (5), 446-52.
- Hatfield, D., & Gladyshev, V. (2002). How selenium has altered our understanding of the genetic code. *Mol Cell Biol.* , 22 (11), 3565-76.
- Hill, K., Xia, Y., Akesson, B., & al. (1996). Selenoprotein P concentration in plasma is an index of selenium status in selenium-deficient and selenium-supplemented Chinese subjects. *J Nutr.* , 126 (1), 138-45.
- Hollenbach, B., Morgenthaler, N., Struck, J., & al. (2008). New assay for the measurement of selenoprotein P as a sepsis biomarker from serum. *J Trace Elem Med Biol.* , 22 (1), 24-32.
- Huang, Z., Rose, A., & Hoffmann, P. (2012). The role of selenium in inflammation and immunity: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal.* , 16 (1), 705-43.
- John, R. (2003). Selenium supplementation: Does soil supplementation help and why? *Proc Nutr Soc.* , 62 (2), 393-7.
- Köhrle, J., & Gärtner, R. (2009). Selenium and thyroid. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* , 23 (9), 815-27.
- Köhrle, J., Jakob, F., Contempre, B., & al. (2005). Selenium, the thyroid, and the endocrine system. *Endocr Rev.* , 26 (7), 944-84.
- Kaur, A., Panday, S., Kumar, S., & al. (2010). Oxidative stress profile in graves' ophthalmopathy in Indian patients. *Orbit.* , 29 (2), 97-101.
- Khoo, T., & Bahn, R. (2007). Pathogenesis of Graves' ophthalmopathy: the role of autoantibodies. *Thyroid.* , 17 (10), 1013-8.
- Kiremidjian-Schuhmacher, L., Roy, M., Wishe, H., & al. (1994). Supplementation with selenium and human immune cell functions. II. Effect on cytotoxic lymphocytes and natural killer cells. *Biol Trace Elem Res.* , 41 (1-2), 115-27.
- Klein, E., Thompson, I. J., Tangen, C., & al. (2011). Vitamin E and the risk of prostate cancer: the Selenium and Vitamin E Cancer Prevention Trial (SELECT). *JAMA.* , 306 (14), 1549-56.



- Knudson, P. (1995). Hyperthyroidism in adults: variable clinical presentations and approaches to diagnosis. *J Am Board Fam Pract.* , 8 (2), 109-13.
- Konstantinos, A., Anthanasios, D., Anastasilakis, T., & al. (2010). Selenium supplementation in the treatment of Hashimoto's thyroiditis: a systematic review and a meta-analysis. *Thyroid.* , 20 (10), 1163-73.
- Krassas, G. (2000). Thyroid disease and female reproduction. *Fertil Steril.* , 74 (6), 1063-70.
- Krassas, G., Karras, S., & Boboridis, K. (2010). Selenium serum levels in patients with mild Graves' orbitopathy: results of a controlled study. *Presented at the 12th European Congress of Endocrinology* (S. ). Prague, Czech Republic.
- Kryukov, G., Castellano, S., Novoselov, S., & al. (2003). Characterization of mammalian selenoproteomes. *Science.* , 300 (5624), 1439-43.
- Kucharzewski, M., Braziewicz, J., U, M., & al. (2002). Concentration of selenium in the whole blood and the thyroid tissue of patients with various thyroid diseases. *Biol Trace Elem Res.* , 88 (1), 25-30.
- Lang, F., & Schmidt, R. (2007). *Physiologie des Menschen*. Berlin: Springer-Lehrbuch.
- Marocci, C., & Marino, M. (2012). Treatment of mild, moderate-to-severe and very severe Graves' orbitopathy. *Best Prac res Clin Endocrinol Metab.* , 26 (3), 325-37.
- Marocci, C., Kahlay, K., Krassas, G., & al. (2011). Selenium and the course of mild Graves' orbitopathy. *N Engl J Med.* , 364 (20), 1920-31.
- McLachlan, S., & Rapoport, B. (2004). Autoimmune hypothyroidism: T cells caught in the act. *Nat Med.* , 10 (9), 895-6.
- Meyer, H., Endermann, T., Stephan, C., & al. (2012). Selenoprotein P Status Correlates to Cancer-Specific Mortality in Renal Cancer Patients. *Plos one.* , 7 (10).
- Minich, W., Dehina, N., Welsink, T., & al. (2013). Autoantibodies to the IGF1 Receptor in Graves' Orbitopathy. *J Clin Endocrinol Metab.* , 98 (2), 752-60.
- Morshed, S., Latif, R., & Davies, T. (2009). Characterization of thyrotropin receptor antibody-induced signaling cascades. *Endocrinology.* , 150 (1), 519-29.
- Negro, R., Greco, G., Mangieri, T., & al. (2007). The influence of selenium supplementation on postpartum thyroid status in pregnant women with thyroid peroxidase autoantibodies. *J Clin Endocrinol Metab.* , 92 (4), 1263-8.
- Nicol, C., Herdman, J., Satter, N., & al. (1998). Changes in the concentrations of plasma selenium and selenoproteins after minor elective surgery: further evidence for a negative acute phase response. *Clin Chem.* , 44 (8), 1764-66.

- Page, S., Sheard, C., Herbert, M., & al. (1996). A comparison of 20 or 40 mg per day of carbimazole in the initial treatment of hyperthyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)*. , 45 (5), 511-6.
- Pathobiochemie, C. I. (2008). <http://www.charite.de/zlp/routine/referenzdb/00Start.htm>.
- Pearce, E., Farwell, A., & LE, B. (2003). Thyroiditis. *N Engl J Med*. , 348 (26), 2646-55.
- Perros, P., Crombie, A., & Kendall-Taylor, P. (1995). Natural history of thyroid associated ophthalmopathy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. , 42 (1), 45-50.
- Pfeilschifter, A., & Ziegler, J. (1996). Smoking and endocrine ophthalmopathy: impact of smoking severity and current vs lifetime cigarette consumption. *Clin Endocrinol*. , 45 (4), 477-81.
- Ponto, K., Merkesdal, S., Hommel, G., & al. (2013). Public health relevance of Graves' orbitopathy. *J Clin Endocrinol Metab*. , 98 (1), 145–52.
- Prummel, M., & Wirsinga, W. (1993). Smoking and risk of Graves` disease. *JAMA*. , 269 (4), 479-82.
- Raymann, M. (2000). The importance of selenium to human health. *Lancet*. , 356 (9225), 233-41.
- Reid, J., & Wheeler, S. (2005). Hyperthyroidism: diagnosis and treatment. *Am Fam Physician*. , 72 (4), 623-30.
- Reilly, C. (2006). *Selenium in food and health*. Springer.
- Rock, C., & Moos, P. (2009). Selenoprotein P regulation by the glucocorticoid receptor. *Biometals*. , 22 (6), 995-1009.
- Sattar, N., Scott, H., McMillan, D., & al. (1997). Acute-phase reactants and plasma trace element concentrations in non-small cell lung cancer patients and controls. *Nutr Cancer*. , 28 (3), 308-12.
- Sattler, W., Maiorino, M., & Stocker, R. (1994). Reduction of HDL- and LDL-associated cholesterylester and phospholipid hydroperoxides by phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase and Ebselen (PZ 51). *Arch Biochem Biophys* , 309 (2), 214-21.
- Schauder, P., & Ollenschläger, G. (2006). *Ernährungsmedizin- Prävention und Therapie*. Urban & Fischer.
- Schomburg, L. (2011). Selenium, selenoproteins and the thyroid gland: interactions in health and disease. *Nat Rev Endocrinol*. , 8 (3), 160-71.
- Schomburg, L., & Köhrle, J. (2008). On the importance of selenium and iodine metabolism for thyroid hormone biosynthesis and human health. *Mol Nutr Food Res*. , 52 (11), 1235-46.

- Schomburg, L., & Schweizer, U. (2009). Hierarchical regulation of selenoprotein expression and sex-specific effects of selenium. *Biochim Biophys Acta.* , 1790 (11), 1453-62.
- Schomburg, L., Schweizer, U., & Köhrle, J. (2004). Selenium and selenoproteins in mammals: extraordinary, essential, enigmatic. *Cell Mol Life Sci.* , 61 (16), 1988-95.
- Schrauzer, G. (2003). The nutritional significance, metabolism and toxicology of selenomethionine. *Adv Food Nutr Res.* , 47, 73-112.
- Shimizu, T., Koide, S., Noh, J., & al. (2002). Hyperthyroidism and the management of atrial fibrillation. *Thyroid.* , 12 (6), 489-93.
- Spallholz, J., Boylan, L., & Larsen, H. (1990). Advances in understanding selenium's role in the immune system. *Ann N Y Acad Sci.* , 587, 123-39.
- Stoedter, M., Renko, K., Hoeg, A., & al. (2010). Selenium controls the sex-specific immune response and selenoprotein expression during the acute-phase in mice. *Biochem J.* , 429 (1), 43-51.
- Surai, P. (2006). *Selenium in nutrition and health* . Nottingham University Press.
- Tajiri, J., Noguchi, S., Murakami, T., & al. (1990). Antithyroid drug-induced agranulocytosis. The usefulness of routine white blood cell count monitoring. *Arch Intern Med.* , 150 (3), 621-4.
- Toulis, K., Anastasilakis, A., Tzellos, T., & al. (2010). Selenium supplementation in the treatment of Hashimoto's thyroiditis: a systematic review and a meta-analysis. *Thyroid.* , 20 (10), 1163-73.
- Turker, O., Kumanlioglu, K., Karapolat, I., & al. (2006). Selenium treatment in autoimmune thyroiditis: 9-month follow-up with variable doses. *J Endocrinol.* , 190 (1), 151-6.
- Weetman, A. (2000). Graves` disease. *N Engl J Med.* , 343 (17), 1236-48.
- Werner, S., & Ingbar, S. (2000). *The Thyroid: a fundamental and clinical text*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Whanger, P., Vendeland, S., Park, Y., & al. (1996). Metabolism of subtoxic levels of selenium in animals and humans. *Ann Clin Lab Sci.* , 26 (2), 99-113.
- Wiersinga, W. (2007). Management of Graves Ophthalmopathy. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab.* , 3 (5), 396-404.
- Wiersinga, W., & Bartalena, L. (2002). Epidemiology and prevention of Graves' ophthalmopathy. *Thyroid* , 12 (10), 855-60.
- Woenckhaus, U., & Girlich, C. (2005). Therapy and prevention of hyperthyroidism. *Internist (Berl).* , 46 (12), 1318-23.
- Yoshizawa, K., Willet, W., Morris, S., & al. (1998). Study of prediagnostic selenium level in toenails and the risk of advanced prostate cancer. *J Natl Cancer Inst.* , 90 (16), 1219-24.

## 7 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Nora Dehina, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Die Bedeutung von Selen bei Endokriner Orbitopathie“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -[www.icmje.org](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

**Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.**

## 8 Danksagung

Zunächst gilt mein Dank meinem Doktorvater und Tutor Prof. Lutz Schomburg, da ich viel von ihm lernen durfte und er mich stets, mit viel Geduld und Witz, motivierte an der Dissertation zu arbeiten.

Außerdem danke ich meinen lieben Eltern Marlene und Maamar, weil sie mir immer zur Seite stehen.

Meiner Großmutter Lotte, Elias, meiner Familie in Algier, Glasgow und Essen.

Und meinen längsten Freundinnen Vanessa, Sara und Nadine für den Zusammenhalt während, vor und nach der Dissertation.

Antonia Hoeg, Dr. Waldemar Minich und Katrin Huhne für Ihre Hilfe.  
Euphorix (Tim) und Peter fürs Korrekturlesen.  
Und nicht zuletzt meinem Freund Marc.