

Metodološke rešitve za oceno vnosa joda

Methodological solutions for iodine intake assessment

Adrijana Oblak¹, Simona Gaberšček^{2,3}

¹Univerzitetni klinični center Ljubljana, Klinika za nuklearno medicino, Oddelek za klinično radiokemijo in laboratorijsko medicino

²Univerzitetni klinični center Ljubljana, Klinika za nuklearno medicino, Ambulanta za bolezni ščitnice

³Univerza v Ljubljani, Medicinska fakulteta, Katedra za interno medicino

Avtor za korespondenco:

Dr. Adrijana Oblak, spec. med. biokem., EuSpLM, univ. dipl. biokem.

Univerzitetni klinični center Ljubljana, Klinika za nuklearno medicino, Oddelek za klinično radiokemijo in laboratorijsko medicino, Zaloška cesta 7, 1525 Ljubljana

e-pošta: adrijana.oblak@kclj.si

POVZETEK

Jod je esencialen element, ki je potreben za normalno rast in razvoj organizma ter je sestavni del ščitničnih hormonov. Vnos joda s hrano vpliva na pojavnost ščitničnih bolezni. Zato je pomemben zadosten vnos joda, ki ga dosežemo z uživanjem ustrezno jodirane soli. S postopnim jodiranjem soli se je pomembno izboljšala svetovna preskrba z jodom. Ocena vnosa joda je ključen parameter ugotavljanja zadostnosti njegovega vnosa v določeni populaciji, zato ga moramo obdobjno spremljati. Za večino držav je ocena vnosa joda znana, za 59 držav od 194 pa te informacije nimamo; v 19 se soočajo z njegovim pomanjkanjem. Glede na epidemiološke raziskave sodi Slovenija med območja z zadostnim vnosom joda. Priporočena metoda za oceno vnosa joda je meritev koncentracije joda v urinu. Zaradi odsotnosti zanesljivih priporočil glede števila vzorcev in časa odvzema vzorcev urina ter nekaterih dodatnih težav pri meritvah koncentracije joda v urinu je pomembno poiskati nove možnosti za oceno vnosa joda. Izločanje joda v slino in razvoj metod z uporabo Sandell-Kolthoffove reakcije ponujata dodatno možnost meritve koncentracije joda v slini, ki bi lahko nadomestila meritev koncentracije joda v urinu.

Ključne besede: merjenje joda, jod v slini, Sandell-Kolthoffova metoda, ocena vnosa joda

ABSTRACT

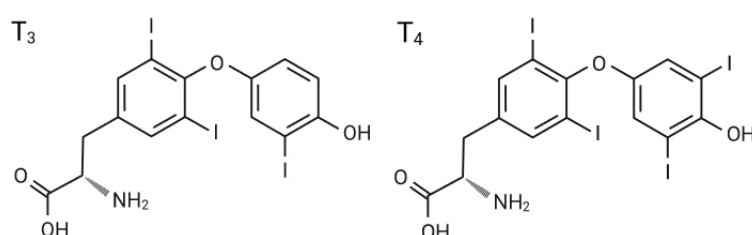
Iodine is an essential nutrient for normal growth and development. It is also a component of thyroid hormones. The prevalence of thyroid disorders is influenced by dietary iodine intake, which makes sufficient intake, particularly through iodized salt, important. The global implementation of salt iodization programs has substantially improved iodine status worldwide. Monitoring iodine status is crucial for evaluating iodine intake sufficiency within a population, so periodic monitoring is important. While iodine intake data is available for most countries, 59 out of 194 countries lack such information, with 19 currently classified as iodine deficient. Based on epidemiological studies, Slovenia is considered iodine sufficient. The recommended method for assessing iodine intake is measuring urinary iodine concentration. However, due to a lack of reliable recommendations regarding sample size and urine sample collection timing, as well as additional issues with urinary iodine concentration measurements, new methods for estimating iodine intake must be found. Excreting iodine into saliva and developing methods that use the Sandell-Kolthoff reaction offer an alternative way to measure salivary iodine concentration, which could replace measuring urinary iodine concentration.

Keywords: iodine measurement, salivary iodine, Sandell-Kolthoff method, iodine intake assessment

UVOD

Jod je esencialen element za sintezo ščitničnih hormonov, ki pri vseh sesalcih vplivajo na metabolizem, uravnavajo telesno temperaturo ter rast in razvoj organizma. V zdravi ščitnici je nastanek ščitničnih hormonov 3, 5, 3' – trijodtironina (T_3) in 3, 5, 3', 5' – tetrajodtironina ali tiroksina (T_4) uravnavan z negativno povratno zanko. Tiotropin

(angl. *thyroid-stimulating hormone*, TSH), ki ga izloča hipofiza, se veže na receptor za TSH v bazolateralni membrani ščitnične celice. Povišana koncentracija ščitničnih hormonov v krvi povzroči, da hipofiza zmanjša izločanje TSH. Obratno se zgodi, ko je nivo ščitničnih hormonov prenizek. Struktura ščitničnih hormonov T_3 in T_4 je predstavljena na Sliki 1. Na molekulo T_3 se vežejo tri molekule joda, na molekulo T_4 pa štiri.

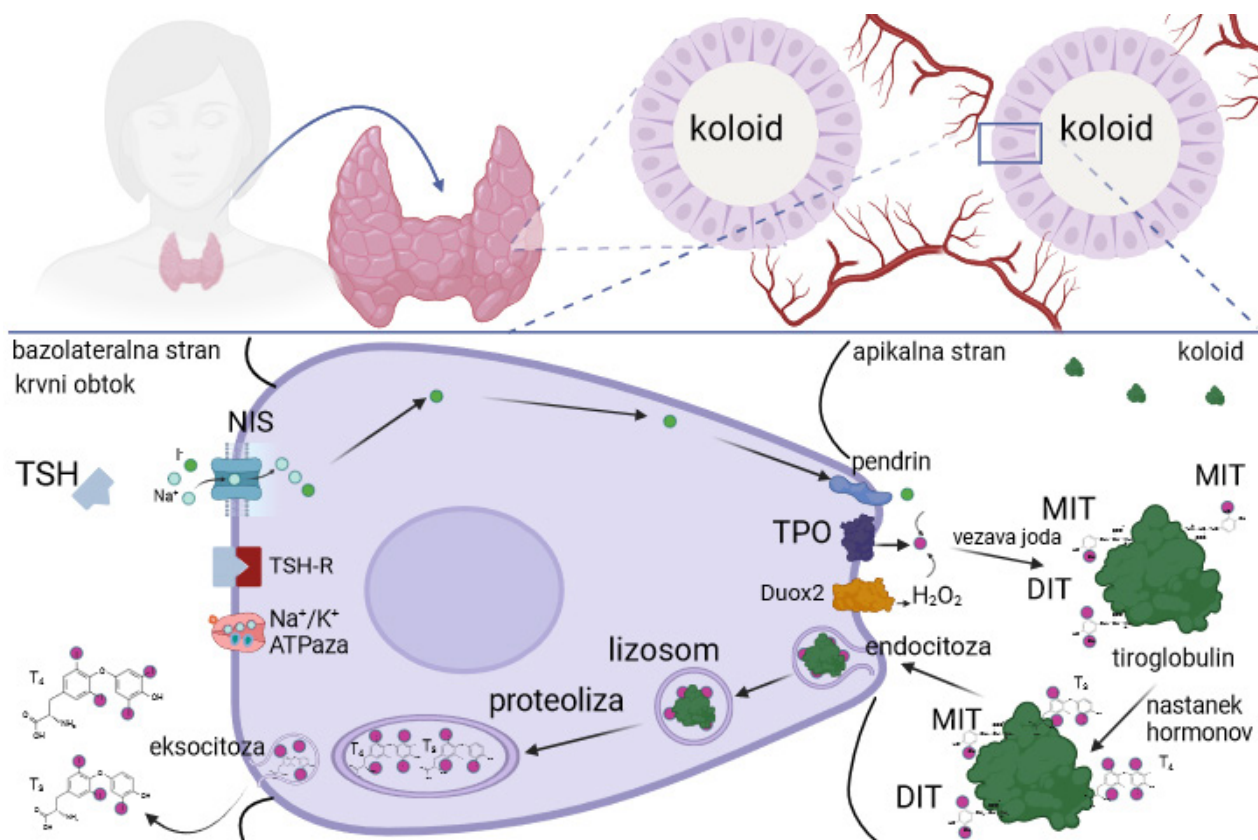


Slika 1: Shematski prikaz ščitničnih hormonov T_3 – trijodtironina in T_4 – tetrajodtironina, tiroksina. Slika je bila pripravljena s spletnim orodjem BioRender.com.

Figure 1: Schematic representation of thyroid hormones T_3 – triiodothyronine and T_4 – tetraiodothyronine, thyroxine. The image was created using the online tool BioRender.com

Za sintezo ščitničnih hormonov je zato jod nujen. Ključna molekula za prenos joda skozi bazolateralno membrano v notranjost celice je Na^+/I^- -simporter (NIS), ki preneša dve molekuli Na^+ v smeri koncentracijskega gradienta, temu sledi ena molekula jodida (I^-) proti koncentracijskemu in električnemu gradientu (Slika 2). Aktivni transport

omogoča Na^+/K^+ ATP-aza, ki prav tako leži v bazolateralni membrani in s porabo energije ohranja transmembranski gradient (1). Jodid nato v bližini apikalne membrane oksidira ščitnična peroksidaza s pomočjo H_2O_2 . Jod se kovalentno veže na tirozinski ostanek na molekuli tiroglobulina, kjer poteka sinteza ščitničnih hormonov (2).



Slika 2: Shematski prikaz tvorbe ščitničnih hormonov. Slika je bila pripravljena s spletnim orodjem BioRender.com. TSH, ščitnico spodbujajoči hormon (angl. *thyroid-stimulating hormone*), tiotropin; TSH-R, receptor za TSH; NIS, Na⁺/I⁻-simporter; ATP, adenozin trifosfat; TPO, ščitnična peroksidaza; MIT, monojodtirozin; DIT, diijodtirozin.

Figure 2: Schematic representation of thyroid hormone production. The image was created using the online tool BioRender.com. TSH, thyroid-stimulating hormone; TSH-R, TSH receptor; NIS, Na⁺/I⁻-symporter; ATP, adenosine triphosphata; TPO, thyroid peroxidase; MIT, monoiodotyrosine; DIT, diiodotyrosine.

Jod vnašamo v telo s hrano v različnih oblikah: vezanega na organske molekule, v obliki jodata ali jodida. Iz organskih molekul se presnovi in sprosti v obliki jodida, jodat se reducira do jodida, jodid pa nato prehaja iz prebavil v kri (3). Približno 10 % se ga nakopiči v zdravi ščitnici, preostali jodid pa se izloči iz telesa z urinom, v manjšem deležu pa tudi z blatom in s potenjem. Jod je tudi v horoidnem pletežu, želodčni sluznici, v mlečnih žlezah v času dojenja in v žlezah slinavkah (4), kot je prikazano na Sliki 3.

Skupno je v telesu 20 mg joda, od tega približno 15 mg v ščitnici (5). Priporočeni dnevni vnos joda za odrasle je 150 µg (6). Ob premajhnem vnosu joda se ga manj izloča z urinom in relativno več nakopiči v ščitnici (7). Čezmeren

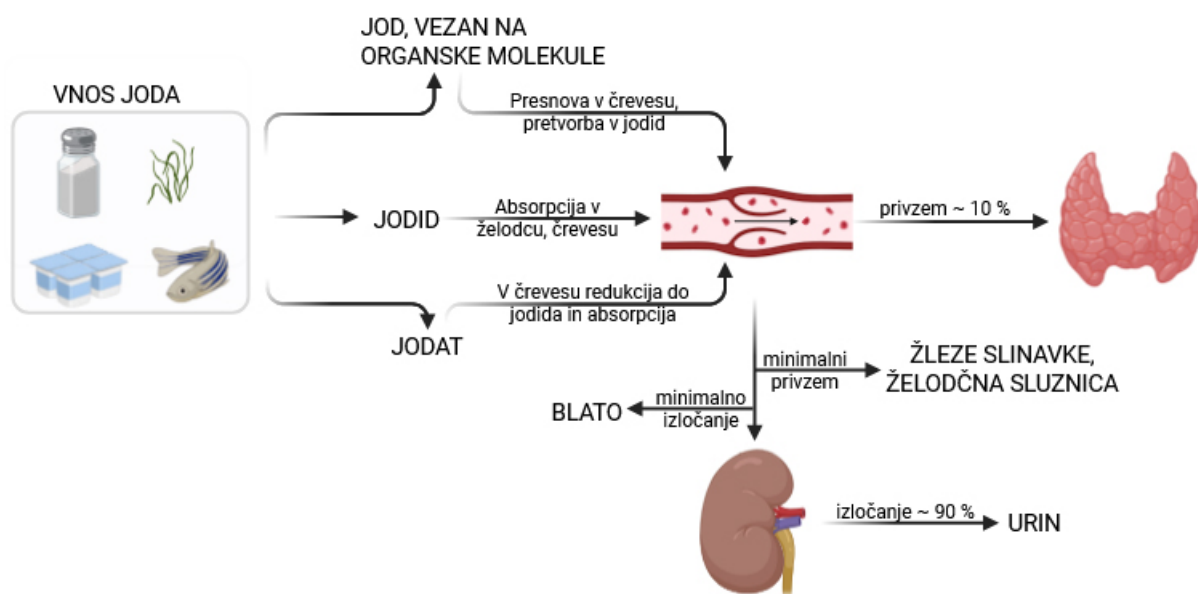
in premajhen vnos joda vplivata na velikost in delovanje ščitnice (4). Čezmeren vnos joda se lahko odrazi kot povečano (hipertiroza) ali zmanjšano delovanje ščitnice (hipotiroza) (8). Viri čezmernega vnosa joda so predvsem zdravilo za zdravljenje motenj srčnega ritma amiodaron, vodotopna rentgenska kontrastna sredstva v radiologiji, redkeje pa prehranski dodatki z jodom, morske alge in lokalni anti-septiki (npr. Betadine) (9). Prehranski dodatki lahko vsebujejo tudi več kot 100 µg joda/tableto, kombinacija različnih preparatov pa lahko povzroči čezmeren vnos joda. Pri večini ljudi čezmeren vnos joda ne povzroči motenj v delovanju ščitnice, saj žleza z mehanizmom avtoregulacije vzdržuje normalno sintezo in izločanje ščitničnih hormonov kljub variabilnemu vnosu joda. Pri čezmernem

vnosu joda se zmanjša število molekul NIS v bazolateralni membrani (molekule NIS preidejo v notranjost celice) in s tem se zmanjša tudi transport jodida v ščitnično celico (10,11). Motnje v delovanju ščitnice zaradi čezmerne vnosa joda so odvisne od različnih dejavnikov, kot so predhodna bolezen ščitnice, vir čezmerne količine joda, količina in trajanje čezmernega vnosa joda, predhodna preskrba z jodom (9,12).

Žleza se premajhnemu vnosu joda prilagodi tako, da poveča privzem jodida v ščitnično celico s povečanjem števila molekul NIS v bazolateralni membrani. Poleg tega tvori relativno več T_3 kot T_4 , izločanje joda z urinom pa se zmanjša (1). Premajhen vnos joda je eden od vzrokov za pojav difuzne golše in drugih ščitničnih bolezni. Drugi vzroki so endogeni (na primer ženski spol), genetski (13) in dejavniki okolja (14). Med slednje štejemo kemikalije, ki motijo endokrini sistem, kot so onesnaževalci okolja (pesticidi, ftalati, bisfenoli A, perklorat). Zaradi struktur-

ne podobnosti ščitničnim hormonom se vključijo v različne stopnje metabolizma in motijo njihovo delovanje (14). Po drugi strani pa s hrano vnašamo t. i. goitrogene, prehranske snovi, katerih presnovki tekmujejo z jodidom za privzem v ščitnico (glikozilat, ki je prisoten v križnicah, ter tiocianat, ki se pretvori iz cianogenega glukozeida) (4). Zvišano serumsko koncentracijo tiocianata kot presnovnega produkta cianida imajo kadilci (15).

Po priporočilih Svetovne zdravstvene organizacije (SZO) je v času nosečnosti in dojenja potreben višji vnos joda kot sicer, okoli 250 μg dnevno (6). Med nosečnostjo se namreč poveča sinteza ščitničnih hormonov za 25 do 50 %, dodatno pa jod prehaja skozi placento v plod, ki ga potrebuje za sintezo ščitničnih hormonov; poveča se tudi izločanje joda z urinom. V času dojenja pa jod prehaja preko materinega mleka v dojenčka, ki ga potrebuje za sintezo hormonov (16).



Slika 3: Shematski prikaz presnove, privzema in izločanja joda iz telesa. Slika je bila pripravljena s spletnim orodjem BioRender.com.

Figure 3: Schematic representation of the metabolism, uptake and excretion of iodine from the body. The image was created with the online tool BioRender.com

ZGODOVINA PRESKRBE Z JODOM

Proučevanje vpliva joda na človeški organizem sega že v čas antike, ko so za zdravljenje golšavosti (povečane ščitnice) uporabljali morskó gobo in morske alge (17). Med letoma 1917 in 1922 sta David Marine in O. P. Kimball pri populaciji šoloobveznih deklet v Ohio, ZDA, potrdila povezavo med nastankom golše in pomanjkanjem joda ter uvedla jodno profilakso (17). Profilaksa se je po 1. svetovni vojni v določenem deležu razmahnila po Evropi (18), tudi v Jugoslaviji. V Jugoslaviji je bilo v obdobju pred uvedbo jodne profilakse golšavih približno 2 milijona prebivalcev, kar je takrat predstavljalo 11 % populacije. Prevalenca bolezni je bila med 10 in 90 %, kretinizem (telesna in duševna nerazvitost zaradi pomanjkljivega delovanja žleze ščitnice) so ugotavljali pri približno 20.000 ljudeh, okrog 24.000 prebivalcev pa je bilo gluhonemih. Golšavost se je pojavljala praktično v celotni državi, izjema so bila le območja okrog Jadranskega morja ter severovzhod Vojvodine (19). V hudo prizadetih regijah so začeli z jodno profilakso med letoma 1930 in 1941 ter nadaljevali po 2. svetovni vojni. Obvezna jodna profilaksa kot najcenejša in najlažja rešitev zagotavljanja ustrezne preskrbe z jodom v populaciji je bila v Jugoslaviji uvedena leta 1953 (20). Uvajali so jo postopno. Sol je bila najprej jodirana s 5 mg joda/kg soli, od leta 1954 pa z 10 mg joda/kg soli. Prehodno so zaznali primere hipertiroze, povzročene z jodom, kar pa je kasneje izzvenelo. Po uvedbi jodne profilakse je prevalenca golšavosti upadla predvsem pri šoloobveznih otrocih (iz 90 % na 20 %) (19). V letu 1991 je raziskava pri slovenskih osnovnošolcih pokazala upad prevalence golšavosti na 12 % (21). Kljub temu so raziskave kazale ponoven porast golšavosti na nekaterih področjih (19). Med letoma 1991 in 1994 je bila v Sloveniji opravljena epidemiološka raziskava pri 1.740 trinajstletnikih, v kateri so merili volumen ščitnice z ultrazvokom (UZ) ter koncentracijo joda v urinu (angl. *urinary iodine concentration*, UIC). Rezultati so pokazali, da je bila pri kar 11 % otrok glede na kriterij SZO še vedno prisotna golša stopnje 2 (vidno in tipno povečana ščitnica). Povprečni izmerjeni volumen ščitnice je bil 7,2 mL, pri 73,7 % otrok pa je bil UIC nižji od 100 µg joda/g kreatinina z mediano 82,9 µg joda/g kreatinina. S tem je bila Slovenija glede na kriterije SZO področje zmerne pomanjkanja joda (22). Zato je leta 1999 Ministrstvo za zdravje izdalo odlok o zvišanju jodiranja soli iz 10 mg na 25 mg kalijevega jodida (KI) na kg soli. Po-

večanje količine joda v soli je uvrstilo Slovenijo med države z zadostno jodno preskrbo, kar so pokazali rezultati epidemiološke raziskave med letoma 2002 in 2003 (23). Pri 676 trinajstletnikih so merili volumen ščitnice in UIC. Volumen ščitnice se je v primerjavi z obdobjem med letoma 1991 in 1994 zmanjšal na 5,8 mL, mediana vrednosti UIC pa je znašala 148 µg/L. Le 22 % otrok je imelo UIC pod 100 µg/L, le 1 % otrok je imel po kriterijih SZO golšo stopnje 2. Izboljšanje preskrbe z jodom je pomembno povezano z delovanjem ščitnice pri zdravih posameznikih ter pri bolnikih z evtirotičnim (normalno delovanje ščitnice) Hashimotovim tiroiditisom, kar je pokazala slovenska retrospektivna raziskava, v katero so vključili podatke medicinske dokumentacije skoraj 25.000 bolnikov med letoma 1995 in 2002 (24).

V Sloveniji je jodiranje soli urejeno s Pravilnikom o kakovosti jedilne soli (Uradni list RS, 89/20) ter s Pravilnikom o jodiranju jedilne soli (Uradni list RS, 47/18), kjer je v 4. členu o obveznosti jodiranja navedeno: »(1) Jedilna sol se jodira s 25 mg kalijevega jodida na 1 kg soli, tako da v 1 kg soli ni manj kot 20 mg in ne več kot 30 mg kalijevega jodida, ali z 32 mg kalijevega jodata na 1 kg soli, tako da v 1 kg soli ni manj kot 26 mg in ne več kot 39 mg kalijevega jodata. (2) Obveznost jodiranja iz prejšnjega odstavka velja tudi za jedilno sol, ki se uporablja za proizvodnjo živil, razen v primerih, ko to iz tehnoloških razlogov ni dopustno oziroma smiselno. (3) Ne glede na prvi in drugi odstavek tega člena nerafinirane morske jedilne soli z zaščitenim geografskim poimenovanjem in solnega cveta ni treba jodirati.« KI je molekula izbora za naše geografsko področje, saj je bolj stabilna, medtem ko se v tropskih območjih, kjer je več vlage in so višje temperature, bolj uporablja kalijev jodat (KIO_3) (17). Poleg KI in KIO_3 pa je za populacije, ki živijo na izjemno oddaljenih lokacijah in nimajo dostopa do soli, možen vnos joda v obliki jodiranega olja (25).

VIRI JODA V NARAVI

Jod je prisoten v naravi in ima svoj t. i. geokemijski cikel, ki je odvisen od oblike joda ter lokacije, kjer se nahaja (26). Najbolj stabilna oblika joda v naravi je jodat (IO_3^-), ki se nahaja v morski vodi. Na površini vode se nato s pomočjo bakterij reducira v jodid (I^-), tega pa nato morske alge ter fitoplankton pretvorijo v plin. Iz atmosfere se skupaj

s padavinami vrača na zemljo. Njegova koncentracija v zemlji je odvisna od različnih parametrov, kot so lokacija, sezona in podnebje. Več ga najdemo v urbanih območjih zaradi izgorevanja olj in premoga (27).

Naravno dostopnega joda je v prsti zelo malo. Jod je vezan na karbonate, kovinske okside ter na organske komponente, nekaj je prosto dostopnega. Jod je v zemeljski skorji razporejen neenakomerno zaradi vrste kamnin, na katere je vezan, lokacije, sezone ter prisotnosti živalskega sveta (26), pa tudi zaradi spiranja prsti kot posledica odmika ledenikov, poplav ter erozije (4). Nekoliko več ga najdemo ob obalah morja in v morju, kamor se steka zaradi spiranja prsti, vendar korelacija med vsebnostjo joda v prsti ter oddaljenostjo od morja ni bila ugotovljena (28). V sedimentu morja najdemo 20–200 µg joda/g, v prsti pa ga je v povprečju 3 µg/g. Koncentracija joda v morski vodi je okrog 60 µg/L, medtem ko ga je v pitni vodi precej manj, 1–10 µg/L. Kljub temu da ga je v vodi malo, pa predstavlja voda pomemben vir joda za živalski in rastlinski svet, v katerem se jod akumulira (27). Najbogatejši naravni viri joda so morske alge in trave, ki rastejo ob koralnih grebenih, ter ribe, ki se z njimi prehranjujejo (29). Vnos joda s prehrano je tako odvisen od geografske lokacije, ki pomembno vpliva na dostopnost joda (4). Motnje zaradi pomanjkanja joda so neposredno povezane z razpoložljivostjo joda v prsti in vodi ter s tem posledično v hrani (27). Na Japonskem je povprečen dnevni vnos joda s hrano 2–3 mg, v nekaterih predelih Afrike, Azije, Latinske Amerike in delih Evrope pa precej nižji, 20–80 µg. V Tabeli 1 je prikazana povprečna vsebnost joda v nekaterih vrstah hrane (30).

Zadostna količina joda se nahaja le v nekaj živilih. Največ joda je v morskih ribah, vendar variira med različnimi vrstami rib, sezonami in geografsko lokacijo (31). Jod prevladuje v morski hrani, ker se tam naravno akumulira. V rastlinah je joda sicer manj, a ga posledično najdemo tudi v mleku in mlečnih proizvodih ter drobovini (32). Glavni vir joda po svetu in tudi v Sloveniji danes predstavlja sol, obogatena z jodom (6). Poznamo dva tipa jedilne soli, kameno in morsko. Nerafinirana morska sol ima v primerjavi s kameno soljo nekaj več joda (33), vendar premalo za dnevne potrebe. Sprememba načina prehranjevanja ter prosti pretok blaga znotraj Evropske unije, ki povzroča pojav nejodiranih soli tudi na slovenskem trgu, povečuje ta možnost uporabe nejodirane soli (33). Kljub ugodnim učinkom ustreznega vnosa joda in izrazitega znižanja pojava golše (34) se v klinični praksi še vedno srečujemo z

zdravstvenimi zapleti ob načrtnem izogibanju jodirani soli (35). Ob uravnoteženi prehrani je na področjih z zadostno jodno preskrbo pomanjkanje joda pri posamezniku redko, lahko pa se pojavi pri specifičnem načinu prehranjevanja. Eden od takšnih načinov je veganski, pri katerem se lahko pojavi pomanjkanje nekaterih vitaminov in mineralov, tudi pomanjkanje joda, če ti posamezniki ne uporabljajo jodirane soli. Tudi prehranjevanje z izključno s presno vegetarijansko hrano lahko povzroči pomanjkanje joda. Presna prehrana vključuje izključno surovo sadje in zelenjavo ter oreščke, zato je vnos joda občutno premajhen (35).

Tabela 1: Povprečna vsebnost joda v nekaterih vrstah hrane.

Table 1: Average iodine content in some types of food.

Vrsta hrane	Povprečna vsebnost joda (območje) (µg/kg)
Sladkovodne ribe	30 (17–40)
Morske ribe	832 (163–3180)
Školjke	798 (308–1300)
Meso	80 (27–97)
Mleko	47 (35–56)
Jajca	93 (/)
Žitna zrna	47 (22–72)
Sadje	18 (10–29)
Stročnice	30 (23–36)
Zelenjava	29 (12–201)

POMANJKANJE JODA

Določen delež svetovne populacije ne uživa zadostne količine joda, s tem pa se večja tveganje za razvoj motenj zaradi pomanjkanja joda (4). Pomanjkanje joda nastopi, ko se izčrpajo zaloge joda v ščitnici, ob hudem pomanjkanju joda se celo zmanjša sinteza ščitničnih hormonov; pojavi se hipotiroza. Ob hudem pomanjkanju joda tudi zdrava ščitnica ne zmore proizvesti ustreznih količin ščitničnih hormonov (36). Pomanjkanje joda poveča tveganje za pojav ščitničnih bolezni, med katerimi sta najpogostejša gol-

ša in avtonomno tkivo v ščitnici, pri hudem pomanjkanju joda pa tudi kretinizem, gluhočnost, spastična diplegija, mentalna zaostalost, pritlikavost, mrtvorjenost, kongenitalne anomalije in povečana perinatalna umrljivost (37). Zato je ustrezen vnos joda nujen.

Jodiranje soli predstavlja eno najuspešnejših zgodb na področju javnega zdravstva. Najnovejši podatki SZO, ki zajemajo epidemiološke raziskave med letoma 2009 in 2025, kažejo, da poznamo preskrbo z jodom za 135 držav, kar predstavlja več kot 90 % svetovne populacije, za 59 držav pa tega podatka še ni (38). Po zadnjih podatkih le še v 19 državah pomanjkanje joda predstavlja zdravstveni problem, kar je v primerjavi z letom 1993, ko je bila problematika prisotna v 126 državah sveta, pomembna izboljšava. V Evropi so preskrbo z jodom nazadnje ocenjevali leta 2017 s projektom EUthyroid, v katerem je sodelovala tudi Slovenija (39). Epidemiološki podatki kažejo, da se z zniževanjem števila držav s pomanjkanjem joda povečuje število držav s povečanim vnosom joda (38), na kar bomo morali biti pozorni v prihodnosti.

PRIPOROČILA

Potrebe po jodu so odvisne od starosti in fiziološkega stanja posameznika (26). Skupine, pri katerih je zadosten vnos joda še zlasti pomemben, so ženske v rodni dobi, nosečnice, doječe matere in otroci. Dnevni vnos joda po priporočilih SZO za posamezne skupine je predstavljen v Tabeli 2 (6).

Tabela 2: Priporočeni dnevni vnos joda za posamezno starostno skupino.

Table 2: Recommended daily intake of iodine for each age group.

Populacija	Priporočeni dnevni vnos joda (µg/dan)
Otroci do 5 let	90
Otroci 6–12 let	120
Mladostniki in odrasli	150
Nosečnice in doječe matere	250

Priporočena varna zgornja meja dnevnega vnosa joda je po smernicah Evropske agencije za varnost hrane (angl. *European Food Safety Authority*, EFSA) 600 µg za odraslo populacijo, nato pa se s starostjo znižuje: 500 µg za starost 14–18 let, 300 µg za starost 7–10 let ter 250 µg za otroke, stare 4–8 let (40). V ZDA so priporočene varne zgornje meje opredeljene višje, in sicer 1.100 µg za odraslo populacijo, 900 µg za starost 14–18 let, 600 µg za starost 7–10 let ter 300 µg za otroke, stare 4–8 let. Meje so postavljene po priporočilih Inštituta za medicino v ZDA (41).

Za oceno ustreznosti vnosa joda v populaciji upošteva SZO poleg volumna ščitnice tudi vrednost UIC. Mediana vrednosti UIC v populaciji je nezadostna pri vrednostih pod 100 µg/L, vrednosti <20 µg/L so opredeljene kot hudo pomanjkanje joda, 20–49 µg/L kot zmerno pomanjkanje ter 50–99 µg/L kot blago pomanjkanje joda. UIC 100–199 µg/L predstavlja zadosten vnos joda, UIC 200–299 µg/L predstavlja tveganje prekomernega vnosa, UIC nad 300 µg/L pa tveganje za nastanek hipertiroze, povzročene z jodom, ali pa za nastanek avtoimunske bolezni ščitnice (6). SZO priporoča v svojih navodilih za oceno ustreznosti vnosa joda merjenje UIC iz enkratnega odvzema vzorca, čeprav ima metoda določene omejitve, poleg tega pa nista opredeljena niti čas odvzema vzorcev niti število vzorcev (6).

Dodatno se je izkazalo, da je postavljena meja UIC 100 µg/L kot merilo zadostnega vnosa joda s strani SZO povezana z nekaterimi dilemami. Znanstveni temelji za postavljeno mejo so šibki, zato je, tudi zaradi problematike vzorčenja, pri oceni vnosa joda v populaciji potrebna previdnost pri interpretaciji izmerjenih vrednosti UIC (39).

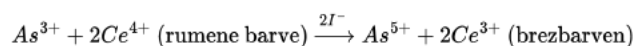
MERJENJE KONCENTRACIJE JODA

Koncentracijo joda lahko merimo v bioloških vzorcih, pa tudi v vzorcih hrane, rastlin in različnih vrst prsti. Predstavljene metode se bodo omejile na meritve v bioloških vzorcih, kot sta urin in slina, možnih metod za merjenje joda v drugih tekočinah in spojinah pa je še veliko (42).

Prvotne metode za merjenje joda so bile enostavne in so omogočale semikvantitativno določitev joda v urinu, ob

tem pa so bolj kot točno UIC nudile informacijo o koncentracijskem območju, v katerem je jod prisoten v vzorcu. Danes se v rutinskem merjenju koncentracije joda uporabljajo kvantitativne metode, ki nudijo bolj točno informacijo UIC kot semikvantitativne. Predvsem sta prisotni dve vrsti metod: spektrofotometrična metoda, ki temelji na Sandell-Kolthoffovi (S-K) reakciji, ter masna spektrometrija z induktivno sklopljeno plazmo (angl. *inductively coupled plasma mass-spectrometry*, ICP-MS) (42).

S-K reakcija je zelo stara metoda za merjenje joda, pri kateri se izkorišča jodid kot katalizator reakcije med arzenovo kislino (H_3AsO_3) in cerijevim amonijevim sulfatom ($(\text{NH}_4)_2\text{Ce}(\text{SO}_4)_4$) v raztopini žveplove kisline, pri čemer koncentracija joda pospeši razbarvanje rumenega cerijevega amonijevega sulfata (CAS) v brezbarven produkt. V njegovi odsotnosti pa je pri sobni temperaturi reakcija izjemno počasna in steče v do štirih dneh. Hitrost reakcije je direktno sorazmerna koncentraciji jodida v raztopini, produkt merimo spektrofotometrično (43):



S-K reakcija lahko poteka v steklenih epruvetah ali na mikrotitrski ploščici (44). Pred začetkom S-K reakcije je treba odstraniti interference z razklopom matriksa ter oksidacijo spojin, saj sicer jod, ki je vezan na organske spojine, ne vstopa v reakcijo. Prav tako lahko organske snovi motijo reakcijo s keliranjem Ce^{4+} ali Ce^{3+} (43); popoln razklop organske snovi je zato nujen (42). Kislinski razklop s perklorovo kislino (HClO_4) zahteva predvsem previdnostne ukrepe zaradi potencialne eksplozivnosti hlapov perklorove kisline, zato je treba reakcijo izvesti v primernem digestoriju. Zelo podobno je pri uporabi klorovodikove kisline (HCl) (45). Uporaba obeh kislin je problematična, saj se jodid, ki bi moral vstopati v reakcijo, veže z vodikom in nastane vodikov jodid (HI), lahko pa nastane tudi elementarni I_2 , kar povzroči izgubo joda in s tem vodi v nižje izmerjeno koncentracijo joda v vzorcu (42). Z uporabo amonijevega peroksidisulfata ($(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$) (AP) se izognemo potencialni eksplozivnosti, prav tako je ta spojina dober oksidirajoči reagent (46), zato ne prihaja do izgub joda. Danes je ta razklop najpogostejši (44). Prednost S-K metode je enostavna izvedba – laboratorijska oprema je v večini laboratorijev že na voljo, zato je metoda zelo poceni. Slabost metode pa je uporaba arzena, ki je citotoksičen, zato je potrebna posebna previdnost pri odstranje-

vanju odpadkov.

Poleg spektrofotometričnih metod, ki so najcenejše in širše dostopne, se za merjenje joda lahko uporablja tudi ICP-MS, ki velja za zlati standard ter omogoča kvalitativno in kvantitativno merjenje elementov (47). Metoda je zelo občutljiva, omogoča meritev nizkih koncentracij, a je draga, zahteva usposobljen kader in je zato manj dostopna (48). Pri tej metodi je možna različna priprava bioloških vzorcev za meritev joda; običajno za merjenje joda uporabljamo redčenje biološkega vzorca (42).

Jod se danes meri predvsem v urinu, kjer skušamo z izmerjeno UIC pri večjem številu zdravih posameznikov vrednotiti vnos joda v populaciji (39). Z občasnimi meritvami UIC v populacijskih raziskavah lahko ugotavljamo morebitne spremembe pri vnosu joda. Za zagotavljanje kontrole kakovosti merjenja UIC so bila izdana ameriška priporočila (angl. *ensuring the quality of iodine procedures* (EQUIP)) s strani Centrov za kontrolo in preventivo bolezni (angl. *Centers for Disease Control and Prevention*, CDC, ZDA) (47). Namen priporočil je bila vzpostavitev primerljivosti metod za merjenje UIC, saj je primerna, natančna in primerljiva metodologija ključna za spremljanje preskrbe z jodom v svetu. Tem priporočilom sledi tudi Slovenija. CDC pripravlja tudi vzorce urina z znano koncentracijo joda, ki so namenjeni ovrednotenju pravilnosti opravljenih meritev s posameznimi metodami in so namenjeni vsem laboratorijem po svetu, ki opravljajo meritve joda v urinu. S sodelovanjem v zunanji shemi kakovosti poleg točnosti meritev preverjamo tudi kakovost pripravljenih raztopin/kemikalij, potrebnih za izvedbo protokola za merjenje UIC po S-K metodi.

Zbiranje in vzorčenje vzorcev za merjenje joda

Ob zadostni preskrbi z jodom se pri posameznikih z zdravno ščitnico kar 90 % joda izloča z urinom (4). Zaradi tega večina epidemioloških raziskav poteka z merjenjem joda v urinu, ki je postal vzorec izbora (6). Merjenje UIC je možno iz enkratnega vzorca urina ali iz 24-urnega zbirnega urina. Izmerjene vrednosti med njima niso primerljive, saj je UIC odvisna tako od vnosa joda kot od vnosa tekočine (49). Na meritve UIC v enkratnih vzorcih urina pomembno vpliva vnos tekočine, ki lahko vzorec urina razredči, zato je lahko UIC, izmerjena v enkratnem vzorcu, podcenjena in ni

primerljiva z UIC, izmerjeno v 24-urnem zbirnem urinu. Za oceno vnosa joda po navodilih SZO na nivoju populacije najpogosteje uporabljamo meritev UIC v enkratnem vzorcu urina (6). Ker pa nanjo vplivajo številni dejavniki, moramo pri posamezniku rezultate vrednotiti zelo previdno. Najboljši podatek o dnevnem vnosu joda omogoča meritev UIC v 24-urnem zbirnem urinu, ki predstavlja zlati standard, saj UIC ni odvisna od hidracije. Vendar je zbiranje 24-urnega urina zahtevno. Pogosto je povezano z nepopolnim zbiranjem, še zlasti pri starejši populaciji (50). Čeprav je urin lahko dosegljiv tip vzorca z neinvazivnim odvzemom, pa je treba izmerjene vrednosti analitov v urinu interpretirati previdno, saj nanje vplivajo različni dejavniki: čas odvzema vzorca, hidracija, diureza, prehrana, vadba, zadrževanje urina in patofiziološki dejavniki, kot je nosečnost, ki jo spremlja fiziološka poliurija (51). Njegova glavna omejitev je predvsem razredčitev vzorcev urina. S tem problemom se že dalj časa ukvarjajo tudi drugi raziskovalci. Alternativni način za oceno vnosa joda v populaciji je razmerje med koncentracijo joda in kreatinina (I/Kr) (52), saj je kreatinin označevalec hidracije in morebitne razredčenosti urina in se pogosto uporablja pri meritvah drugih analitov v urinu (53). Čeprav merjenje koncentracije kreatinina omogoča umerjanje vrednosti joda v enkratnem vzorcu urina, pa ima tudi merjenje kreatinina v urinskih vzorcih slabosti, saj nanj vplivajo spol, starost, rasa, prehrana, ledvična funkcija ter športna aktivnost (54). Nekateri raziskovalci zato predlagajo izračun I/Kr z ekstrapolacijo vrednosti (55). Ta omogoča oceno izločanja joda v dnevu iz meritev, opravljenih v enkratnem vzorcu urina. Pri izračunu/oceni upoštevajo količino dnevnega izločenega kreatinina, ki je značilna za določeno starost in spol. Ta ocena ni popolna, saj v izračun niso zajete vse starostne skupine, so pa izračuni pokazali dober približek med oceno izločanja joda iz meritev UIC iz enkratnih vzorcev urina ter iz 24-urnega zbirnega urina (56).

Zaradi kontinuirane izboljšave in ocene vnosa joda po svetu smo bili tudi v slovenskem prostoru povabljeni k sodelovanju v evropski raziskavi, katere glavni cilj je bil ugotoviti trenutno preskrbljenost z jodom v Evropi v različnih skupinah prebivalstva. Sodelovali smo v evropskem projektu EUthyroid, ki je potekal v letih 2015 do 2018, istočasno pa smo sodelovali tudi v nacionalnem projektu Nutrihealth, ki je potekal v letih 2017 do 2018 (57). V prvem projektu smo pri populaciji prostovoljk v rodni dobi in nosečnic merili UIC v enkratnem vzorcu urina, vendar pa vzorec preiskovank ni bil reprezentativen vzorec prebivalcev Slove-

nije. V drugem projektu pa smo merili UIC v enkratnih vzorcih urina in ugotavljali preskrbljenost prebivalcev Slovenije z jodom na reprezentativnem vzorcu odraslih prebivalcev Slovenije, starih 18–74 let (58). Primerjava rezultatov obeh raziskav je pokazala, da je vrednost UIC pomembno odvisna od časa odvzema urinskega vzorca. V prvem projektu, v katerem čas odvzema urinskega vzorca ni bil predpisan, smo ugotovili relativno nizko UIC. Ti podatki bi nas uvrstili v področje z zmernim pomanjkanjem joda (39). Dodatna analiza podatkov je pokazala, da je bilo kar 26 % vzorcev urina pri ženskah v rodni dobi in 22 % vzorcev urina pri nosečnicah razredčenih, vrednost kreatinina je bila namreč pod predpisano mejo <0,2 g/L. Menili smo, da bi bilo tovrstne vzorce urina smiselno izključiti iz izračuna mediane vrednosti UIC, ko ocenjujemo vnos joda. Pri reprezentativnem vzorcu slovenske populacije pa je imelo le 5 % vzorcev vrednost kreatinina v enkratnem vzorcu urina <0,2 g/L. V tej raziskavi je bila večina (84 %) urinskih vzorcev odvzeta pred 12. uro, pri ženskah v rodni dobi pa je bilo takšnih vzorcev le 62 %, zato so bili ti vzorci bolj razredčeni (58). Ker kljub vsemu predlagane rešitve merjenja UIC ne ponujajo optimalnih rezultatov, je pomembno iskati nove načine za vrednotenje vnosa joda, kot je na primer slina. Zaenkrat namreč še ni soglasja o najprimernejšem načinu ocene vnosa joda pri posamezniku in na nivoju populacije.

Zaradi prisotnosti proteina NIS v žlezah slinavkah, ki omogoča izločanje joda v slino, je bilo v preteklosti opravljenih nekaj raziskav tudi na to temo. Ugotavljali so, da se z večanjem količine sline niža koncentracija joda v slini, presenetljivo pa ne tudi koncentracija elektrolitov Na, Cl in K (59). Prav tako so ugotovili, da sta vnos joda in izločanje joda v slino neposredno povezana (60). Omejitev teh raziskav je metodologija, ki v tistem času ni omogočala neposrednega merjenja koncentracije joda v slini, ampak posredno preko opravljenih meritev UIC, ter majhno število preiskovancev v teh raziskavah. Meritve joda v slini so potekale tudi z uporabo radioaktivnega izotopa joda ¹³²I. Eden izmed ključnih izzivov na področju kliničnega določanja joda je vpeljati laboratorijski pristop, ki bi omogočal meritve koncentracije joda v slini brez uporabe radioaktivnih izotopov, še posebej zato, ker sodobni metodološki pristopi, kot je ICP-MS, omogočajo bolj natančno merjenje vsebnosti analitov v različnih telesnih tekočinah (48). Na področju meritev joda v slini (angl. *salivary iodine concentration*, SLIC) je bilo opravljenih nekaj raziskav. Nekatere raziskave so se osredotočale na primerjavo vred-

nosti SLIC med skupinami kadilcev ter nekadilcev in povezavo kariesa ter parodontoze z vrednostjo SLIC (61–63). V večji raziskavi pri šoloobveznih otrocih na Kitajskem so ugotovili povečevanje količine joda v slini tekom dneva ter korelacijo med izločanjem joda v slino in urin. Ista skupina je želela ugotoviti tudi primeren čas odvzema vzorca sline za opredelitev ocene vnosa joda. Ugotovili so, da je primeren čas odvzema po večerji (po 19. uri) (64). Pri odraslih pa po našem vedenju ni bila opravljena še nobena tovrstna raziskava, zato je bil naš cilj poskusiti opredeliti najustrenejši čas odvzema sline za meritev SLIC.

Med letoma 2021 ter 2024 smo zato pri odraslih prostovoljcih izvedli raziskavo, s katero smo želeli opredeliti oceno vnosa joda, primernost sline za oceno vnosa joda v organizmu ter najti način, kako opredeliti razporeditev joda v telesu z uporabo meritev UIC, SLIC in koncentracije joda v serumu (angl. *serum iodine concentration*, SERI). Uspelo nam je postaviti in vpeljati metodo za merjenje joda v slini s S-K metodo, ki je primerljiva z ICP-MS (65). Gre za prvo postavitev metode v svetu. Dodatno smo želeli opredeliti primeren čas odvzema vzorca za sline za oceno vnosa joda. Rezultati raziskave so objavljeni v doktorski disertaciji, katere raziskavo je odobrila Komisija Republike Slovenije za medicinsko etiko (KME 0120-271/2021/3) (66). Trenutno so rezultati v fazi objave v znanstveni reviji, podatki pa kažejo, da bi bil primeren čas 1–2 uri po prvem ali drugem obroku ter 30 minut po drugem, tretjem ali četrtem obroku. Podobno kot meritev UIC ima tudi meritev SLIC nekaj omejitev. Na odvzem vzorca sline lahko vpliva slaba hidracija (67), zato bi bilo treba najti način vrednotenja merjenih analitov v slini z umerjanjem izmerjenih vrednosti SLIC. Takšen analit bi lahko bil na primer amilaza, ki je v slini prisotna v visokih koncentracijah (68). Po dostopnih podatkih je to prva raziskava, ki primerja izločanje joda v slino pred in po obrokih s koncentracijo joda v 24-urnem zbirnem urinu, ki predstavlja zlati standard. Prednost naše raziskave je tudi ta, da so odvzemi potekali v istem dnevu, tako da smo lahko hkrati spremljali vnos in izločanje joda v različne biološke vzorce. Iz raziskave smo izključili posameznike, ki so vnašali dodatne količine joda s prehranskimi dopolnili ali zdravili, saj bi to lahko vplivalo na meritve joda v različnih matriksih. Naslednji izziv kliničnega določanja joda je natančneje opredeliti vsebnost in razporeditev joda v različnih delih telesa, kar trenutno še ni povsem pojasnjeno. Večina raziskav je starejših in zato omejenih z

metodologijo, ki danes ni več v uporabi in ne vsebuje podatkov o primerljivosti z ICP-MS. V naši raziskavi smo ugotovili, da uporaba parametrov UIC, SLIC in SERI ne omogoča pridobitve informacije o razporeditvi joda v telesu in bo treba najti drug način. Izzivi na tem področju ostajajo, vendar pa bi lahko enostavna metoda za merjenje SLIC z uporabo S-K metode predstavljala osnovo za širši nabor raziskav na tem področju. Dodaten izziv glede vnosa joda pa predstavlja tudi priporočilo SZO o zniževanju dnevnega vnosa soli na 5 g (69), tem ciljem pa z resolucijo o nacionalnem programu prehranske politike sledi tudi Slovenija (Resolucija o nacionalnem programu prehranske politike 2005-2010 (ReNPPP), Uradni list RS 39/2005). Ob tem se pojavlja vprašanje, kako ustrezno poskrbeti za zadosten vnos joda, še zlasti pri tistih skupinah prebivalstva, pri katerih je zniževanje vnosa soli ključno.

ZAKLJUČEK

Zadosten vnos joda je ključen za zdravje ščitnice in našega organizma, zato je pomembno, da ga ustrezno ovrednotimo. Izsledke dosedanjih raziskav bi bilo koristno dopolniti z raziskavami pri večjih skupinah (kadilci, nekadilci, bolniki s parodontozo, s ščitničnimi boleznimi, z različnimi načini prehranjevanja itd.), saj so bile skupine v raziskavah majhne. S tem bi lahko natančneje ovrednotili vnos joda v določenih skupinah in morebitne vplive na meritve joda v slini. Zaključimo lahko, da je možnosti za nadaljnje raziskave še veliko. Z vpeljšano preprosto metodo s S-K reakcijo za merjenje SLIC smo omogočili raziskave na tem področju tudi v laboratorijih, kjer si drage opreme ICP-MS ne morejo privoščiti. Domnevamo, da se bo z razširitvijo nabora metod za merjenje SLIC povečalo število raziskav na tem področju, s tem pa tudi možnosti za odgovore na neodgovorjena vprašanja.

LITERATURA

1. Portulano C, Paroder-Belenitsky M, Carrasco N. The Na⁺/I⁻ Symporter (NIS): Mechanism and medical impact. *Endocr Rev.* 2014;35(1):106–49.
2. Koibuchi N. Molecular mechanisms of thyroid hormone synthesis and secretion. In: *Endocrinology (Switzerland)*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2018;73–81.

3. Nicola JP, Basquin C, Portulano C, Reyna-Neyra A, Paroder M, Carrasco N. The Na⁺/I⁻ symporter mediates active iodide uptake in the intestine. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2009;296(4):C654–62.
4. Zimmermann MB. Iodine deficiency. *Endocr Rev*. 2009;30(4):376–408.
5. Fisher DA, Oddie TH. Thyroid iodine content and turnover in euthyroid subjects: Validity of estimation of thyroid iodine accumulation from short-term clearance studies. *J Clin Endocrinol Metab*. 1969;29(5):721–7.
6. WHO, UNICEF, ICCIDD. Assessment of iodine deficiency disorders and monitoring their elimination. *Clin Nutr*. 2014;28(2):1–108.
7. DeGroot LJ. Kinetic analysis of iodine metabolism. *J Clin Endocrinol Metab*. 1966;26(2):149–73.
8. Farebrother J, Zimmermann MB, Andersson M. Excess iodine intake: sources, assessment, and effects on thyroid function. *Ann N Y Acad Sci*. 2019;1446(1):44–65.
9. Markou K, Georgopoulos N, Kyriazopoulou V, Vagenakis AG. Iodine-induced hypothyroidism. *Thyroid*. 2001;11(5):501–10.
10. Wolff J, Chaikoff IL. Plasma inorganic iodide, a chemical regulator of normal thyroid function. *Endocrinology*. 1948;42(6):468–71.
11. Roti E, Uberti ED. Iodine excess and hyperthyroidism. *Thyroid*. 2001;11(5):493–500.
12. Leung AM, Braverman LE. Consequences of excess iodine. *Nat Rev Endocrinol*. 2014;10(3):136–42.
13. Andersson M, Hunziker S, Fingerhut R, Zimmermann MB, Herter-Aeberli I. Effectiveness of increased salt iodine concentration on iodine status: trend analysis of cross-sectional national studies in Switzerland. *Eur J Nutr*. 2020;59(2):581–93.
14. Gaberšček S, Zaletel K. Epidemiological trends of iodine-related thyroid disorders: an example from Slovenia. *Arh Hig Rada Toksikol*. 2016;67(2):93–8.
15. Willemin ME, Lumen A. Thiocyanate: a review and evaluation of the kinetics and the modes of action for thyroid hormone perturbations. *Crit Rev Toxicol*. 2017;47(7):537–63.
16. Alexander EK, Pearce EN, Brent GA, Brown RS, Chen H, Dosiou C, et al. 2017 Guidelines of the American Thyroid Association for the diagnosis and management of thyroid disease during pregnancy and the postpartum. *Thyroid*. 2017;27(3):315–89.
17. Hetzel B. Iodine deficiency disorders (IDD) and their eradication. *Lancet*. 1983;322(8359):1126–9.
18. Carpenter KJ. David Marine and the problem of goiter. *J Nutr*. 2005;135(4):675–80.
19. Kuzić Z. Endemic goiter and iodine deficiency in Yugoslavia. *J Endocrinol Invest*. 1989;12(6):441–2.
20. Report F. Study-group on endemic goitre; final report. *Bull World Health Organ*. 1953;9(2):293–301.
21. Porenta M, Hojker S, Avčin J, Budihna N. Golšavost v Sloveniji. *Radiol Oncol*. 1993;27:46–50.
22. Zaletel K, Hojker S. Iodine deficiency in Slovenia. In: Tahirović H, Konjodžić F, editors. *Iodine deficiency in the region [in Bosnian]*. Sarajevo Akad Nauk i Umjet Bosne i Hercegovine. 2000;61–9.
23. Zaletel K, Gaberšček S, Pirnat E. Ten-year follow-up of thyroid epidemiology in Slovenia after increase in salt iodization. *Croat Med J*. 2011;52(5):615–21.
24. Novak N, Biček A, Zaletel K, Gaberšček S. Amelioration of iodine supply is notably associated with thyroid function in healthy subjects and in patients with euthyroid hashimoto's thyroiditis. *Zdr Vestn*. 2016;85(10):531–40.
25. Kevany J, Chopra JG. The use of iodized oil in goiter prevention. *Am J Public Heal Nations Heal*. 1970;60(5):919–25.
26. Nedić O. Iodine: Physiological importance and food sources. *eFood*. 2023;4(1):e63.
27. Hou X. Iodine speciation in foodstuffs, tissues, and environmental samples: Iodine species and analytical method. *Compr Handb Iodine Nutr Biochem Pathol Ther Asp*. 2009;139–50.
28. Johnson C. The geochemistry of iodine and its application to environmental strategies for reducing the risks of iodine deficiency disorders. *British Geological Survey Commissioned Report CR/03/057N*. 2003.
29. Küpper FC, Kroneck PMH. Iodine bioinorganic chemistry. In: *Iodine Chemistry and Applications*. Wiley. 2014:555–89.
30. World Health Organization, Food and Agriculture Organization of the United Nations. *Vitamin and mineral requirements in human nutrition*. Geneva: World Health Organization; 2004.
31. Nerhus I, Wik Markhus M, Nilsen BM, Øyen J, Maage A, Ødegård ER, et al. Iodine content of six fish species, Norwegian dairy products and hen's egg. *Food Nutr Res*. 2018;62.
32. Latoch A, Stasiak DM, Siczek P. Edible offal as a valuable source of nutrients in the diet—A review. *Nutrients*. 2024;16(11):1609.
33. Žmitek K, Pravst I. Iodisation of salt in Slovenia: Increased availability of non-iodised salt in the food supply. *Nutrients*. 2016;8(7):434.
34. Zaletel K, Gaberšček S. Hashimoto's thyroiditis: From genes to the disease. *Curr Genomics*. 2011;12(8):576–88.
35. Zaletel K. Huda hipotiroza zaradi pomanjkanja joda ob neslani presni vegetarijski prehrani. *Med Razgl*. 2012;51(2):219–24.
36. Zimmermann MB, Jooste PL, Pandav CS. Iodine-deficiency disorders. *Lancet*. 2008;372(9645):1251–62.
37. Hetzel BS. Iodine deficiency disorders (IDD) and their eradication. *Lancet*. 1983;322(8359):1126–9.
38. Global scorecard of iodine nutrition [Internet]. 2025. [assessed on 2.3.2026] Available from: <https://ign.org/scorecard/>
39. Ittermann T, Albrecht D, Arohonka P, Bilek R, De Castro JJ, Dahl L, et al. Standardized map of iodine status in Europe. *Thyroid*. 2020;30(9):1346–54.
40. European Food Safety Authority Scientific Committee on Food, Scientific Panel on Diabetic Products, Nutrition and Allergies. *Tolerable upper intake levels for vitamins and minerals*. Brussels European Food Safety Authority; 2006.
41. Institute of Medicine (USA) Panel of Micronutrients. *Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium, and zinc*. Washington, DC: National Academies Press; 2001.
42. Shelor CP, Dasgupta PK. Review of analytical methods for the quantification of iodine in complex matrices. *Anal Chim Acta*. 2011;702(1):16–36.

43. Sandell EB, Kolthoff IM. Micro determination of iodine by a catalytic method. *Microchim Acta*. 1937;1(1):9–25.
44. Jooste PL, Strydom E. Methods for determination of iodine in urine and salt. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2010;24(1):77–88.
45. Dunn JT, Crutchfield HE, Gutekunst R, Dunn AD. Two simple methods for measuring iodine in urine. *Thyroid*. 1993;3(2):119–23.
46. Pino S, Fang SL, Braverman LE. Ammonium persulfate: a safe alternative oxidizing reagent for measuring urinary iodine. *Clin Chem*. 1996;42(2):239–43.
47. Makhmudov AA, Caldwell KL. The challenge of iodine deficiency disorder: A decade of CDC's ensuring the quality of urinary iodine procedures. Atlanta: National Center for Environmental Health, CDC; 2012.
48. Wilschefskei SC, Baxter MR. Inductively coupled plasma mass spectrometry: Introduction to analytical aspects. *Clin Biochem Rev*. 2019;40(3):115–33.
49. Perrine CG, Cogswell ME, Swanson CA, Sullivan KM, Chen TC, Carriquiry AL, et al. Comparison of population iodine estimates from 24-hour urine and timed-spot urine samples. *Thyroid*. 2014;24(4):748–57.
50. Miler M SA. Low level adherence to instructions for 24-hour urine collection among hospital outpatients. *Biochem Medica*. 2013;23(3):316–20.
51. Sallsten G, Barregard L. Variability of urinary creatinine in healthy individuals. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(6):1–12.
52. Kim HK, Lee SY, Lee JI, Jang HW, Kim SK, Chung HS, et al. Usefulness of iodine/creatinine ratio from spot-urine samples to evaluate the effectiveness of low-iodine diet preparation for radioiodine therapy. *Clin Endocrinol*. 2010;73(1):114–8.
53. Arndt T. Urine-creatinine concentration as a marker of urine dilution: Reflections using a cohort of 45,000 samples. *Forensic Sci Int*. 2009;186(1–3):48–51.
54. Baxmann AC, Ahmed MS, Marques NC, Menon VB, Pereira AB, Kirsztajn GM, et al. Influence of muscle mass and physical activity on serum and urinary creatinine and serum cystatin C. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008;3(2):348–54.
55. Knudsen N, Christiansen E, Brandt-Christensen M, Nygaard B, Perild H. Age- and sex-adjusted iodine/creatinine ratio. A new standard in epidemiological surveys? Evaluation of three different estimates of iodine excretion based on casual urine samples and comparison to 24 h values. *Eur J Clin Nutr*. 2000;54(4):361–3.
56. Rasmussen LB, Ovesen L, Christiansen E. Day-to-day and within-day variation in urinary iodine excretion. *Eur J Clin Nutr*. 1999;53(5):401–7.
57. Oblak A, Arohonka P, Erlund I, Kuzmanovska S, Zaletel K, Gaberšček S. Validation of a spectrophotometric method for urinary iodine determination on microplate based on Sandell-Kolthoff reaction. *Lab Med*. 2022;53(4):376–80.
58. Oblak A, Hribar M, Hristov H, Gregorič M, Blaznik U, Osredkar J, et al. Interpreting urinary iodine concentration: effects of urine dilution and collection timing. *Eur J Clin Nutr*. 2024;78:1105–1110.
59. Vought RL, London WT. Effect of dietary iodine on serum inorganic and salivary iodine. *Metabolism*. 1965;14(6):699–707.
60. Mason DK, Harden RM, Alexander WD. The influence of flow rate on the salivary iodide concentration in man. *Arch Oral Biol*. 1966;11(2):235–246.
61. Dekker BL, Touw DJ, Van Der Horst-Schrivers ANA, Vos MJ, Links TP, Dijk-Brouwer DAJ, et al. Use of salivary iodine concentrations to estimate the iodine status of adults in clinical practice. *J Nutr*. 2021;151(12):3671–7.
62. Suciu I, Tarmure V, Ionescu E et al. Possible interaction between carious lesions, chronic marginal periodontitis, periapical pathology and salivary iodine level-preliminary results. *Roum Biotechnol Lett*. 2018;23:13297–300.
63. Gulaboglu M, Akgul HM, Akgul N, Cetin M. Urine and saliva iodine levels in patients with dental caries and normal healthy volunteers. *Trace Elem Electrolytes*. 2012;29(1):28–33.
64. Guo W, Dong S, Jin Y, Pan Z, Pearce EN, Wu W, et al. Evaluation of variation of saliva iodine and recommendations for sample size and sampling time: Implications for assessing iodine nutritional status. *Clin Nutr*. 2021;40(5):3559–66.
65. Oblak A, Imperl J, Kolar M, Marolt G, Krhin B, Zaletel K, et al. Introduction of a spectrophotometric method for salivary iodine determination on microplate based on Sandell-Kolthoff reaction. *Radiol Oncol*. 2024;58(3):357–65.
66. Oblak A. Ocena vsebnosti joda v različnih telesnih tekočinah zdravih posameznikov z modificirano Sandell-Kolthoffovo reakcijo. Doktorska disertacija. 2025.
67. Ship JA, Fischer DJ. The relationship between dehydration and parotid salivary gland function in young and older healthy adults. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 1997;52(5):M310–9.
68. Noble RE. Salivary α -amylase and lysozyme levels: A non-invasive technique for measuring parotid vs submandibular/sublingual gland activity. *J Oral Sci*. 2000;42(2):83–6.
69. World health organization. World Health Organization global report on sodium intake reduction. Geneva: World health organization; 2023.