

MOLEKULARNE ASPEKTY AKTYWNOŚCI BIOLOGICZNEJ SELENU

MOLECULAR ASPECTS OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF SELENIUM

Iza KSIĄŻEK

Narodowy Instytut Leków, Zakład Biochemii i Biofarmaceutyków, Warszawa

Streszczenie: Praca przedstawia przegląd piśmiennictwa dotyczącego roli i aktywności biologicznej selenu, ze szczególnym uwzględnieniem zależności występujących pomiędzy podażą selenu w diecie, jego metabolizmem i wpływem czynników genetycznych na poziom ekspresji genów i aktywność selenoproteiny, a także konsekwencji wynikających z zaburzenia zdolności komórek do jego efektywnego wykorzystania. Z dostępnych danych literaturowych wynika, że wiele występujących w genach selenoproteiny (SNP) ma wpływ na zróżnicowanie funkcjonalności ich allelicznych wariantów. Wyniki badań w zakresie poszukiwania dalszych konsekwencji tych zmian pozwalają doszukiwać się ich związku z występowaniem chorób lub podwyższonym ryzykiem na zachorowanie, w połączeniu z innymi SNP oraz czynnikami środowiskowymi. Do chwili obecnej nie są dostępne wyniki badań nad oddziaływaniami żywieniowo- genetycznymi, w globalnym ujęciu metabolizmu selenu (w przypadku wielokrotnych SNP), a wiedza na ten temat ograniczona jest wyłącznie do efektów fizjologicznych wynikających z obecności pojedynczych SNP. Istnieje potrzeba dalszego prowadzenia badań w tym zakresie. Połączenie badań z obszaru transkryptomiki, proteomiki i metabolomiki może pozwolić na odkrycie nowych aspektów aktywności biologicznej tego pierwiastka i dostarczy cennych wskazówek dla indywidualizacji postępowania, w przypadku zwiększonego ryzyka wystąpienia chorób, związanych z niedoborem selenu, lub brakiem funkcjonalności komórkowej dla jego wykorzystania.

Słowa kluczowe: Selen, selenoproteina, SNP, ekspresja genów.

Summary: This review of current literature describes the role and biological activity of selenium, especially the links found between the dietary presence of selenium, its metabolism and the impact of genetic factors on the expression levels and activity of selenoproteins, as well as the consequences of disruptions to the cellular ability to effectively process selenium. Data found in the literature show that many of the SNPs found in selenoprotein genes lead to the different functionality of the resulting allelic variants. Further studies into the additional consequences of these change potentially link these changes to the incidence or increased risk of disease, when combined with other SNPs and environmental factors. Currently there is little data regarding these interactions when considering the

global metabolism of selenium (in cases of multiple SNPs) with only the physiological effects caused by the presence of single SNPs being described. There is a clear need to continue research into this area. Combining transcriptomics, proteomics and metabolomics may result in new aspects of the biological activity of selenium being found, leading to a more informed individual-based approach when dealing with increased risk of disease resulting from selenium deficiency of problems with its cellular metabolism.

Key words: Selenium, selenoproteins, SNP, gene expression.

WSTĘP

Selen jest niemetalem należącym do grupy VI, występującym najczęściej w związkach na czterech stopniach utlenienia (-2, +1, +2 i +6) [34]. Selen w przyrodzie występuje zarówno w formie nieorganicznej, jak i organicznej. Formą selenu najlepiej przyswajalną z gleby przez większość roślin jest selenian (VI), w mniejszym stopniu także selenian (IV) [65]. Selen magazynowany jest w roślinach w formie aminokwasów: selenometioniny i selenocysteiny, se-metyloselenocysteiny, selenocystationiny i selenohomocysteiny. Poziom asymilacji selenu przez rośliny uzależniony jest od zawartości tego pierwiastka w glebie, od pH gleby, potencjału redoks i nawodnienia [38].

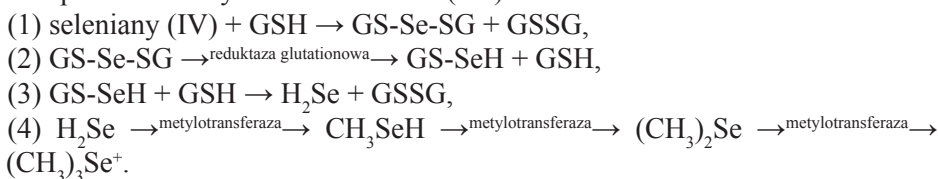
Zazwyczaj związki organiczne selenu są łatwiej absorbowane przez organizmy niż związki nieorganiczne, ponadto związki nieorganiczne selenu, jak np. selenian (IV) sodu cechuje zwiększona toksyczność, w stosunku do związków organicznych [73]. Większe powinowactwo do tkanek wykazują związki selenu na +4 stopniu utlenienia. Mogą one tworzyć kompleksy z białkami i być efektywniej włączane do centrów selenozależnych enzymów [55].

Selenocysteina, dla której istnieje określony kodon transkrypcyjny jest biologicznie czynną postacią selenu w selenobiałkach, podczas gdy selenometionina jest włączana do białek niespecyficznie, zamiast metioniny. Na etapie metionino-tRNA komórka nie jest w stanie rozróżnić metioniny od selenometioniny [88].

Osobniczy poziom selenu zależy m.in. od formy, w jakiej jest on przyjmowany z pokarmem, od składu pożywienia (stężenia białek, tłuszczów oraz zawartości metali ciężkich), od dziennej dawki i od indywidualnych właściwości organizmu, w tym od poziomu metabolizmu i genotypu tj. występowaniu indywidualnych, pojedynczych polimorfizmów nukleotydowych (SNP) w genach związanych z syntezą selenobiałek [35, 60].

Selen wchłonięty do organizmu jest początkowo wiązany przez krwinki czerwone oraz przez albuminy i globuliny osocza i przy ich udziale transportowany do tkanek [65]. Zidentyfikowano dwie główne drogi metabolizmu selenu. Pierwsza to redukcja selenu połączona z jego metylacją. Zaczynając od związków na +6 stopniu utlenienia, seleniany (VI) są redukowane w wątrobie, śledzionie, krwi i osoczu do selenianów

(IV) i / lub dalej do selenków. Seleniany (VI) mogą także ulegać enzymatycznej aktywacji z udziałem ATP do adenozyno-5'-selenofosforanu, który z kolei redukuje się do selenianu (IV) w obecności glutationu. Selenian (IV) reaguje z glutationem (GSH) dając selenodiglutation (GS-Se-SG). Powstały związek pod wpływem enzymu reduktazy glutationowej ulega przemianom do glutationyloselenolu (GS-SeH). Układ tioredoksyna-reduktaza tioredoksyny redukuje zarówno selenian (IV) jak i selenodiglutation do selenku (HSe^-). Selenek wodoru, będąc metabolitem pośrednim w przemianach wszystkich form selenu w komórce, może być wykorzystany do syntezy selenobiałek lub podlegać dalszemu metabolizmowi poprzez metylację [54]. Procesy biometylacji zmierzają w kierunku odtrucia organizmu, ponieważ dimetylowa i trimetylowa forma selenu są mniej toksyczne w porównaniu z pozostałymi związkami selenu. Najlepiej poznanym szlakiem metabolizmu selenu jest stopniowa redukcja selenianu (IV) do selenku H_2Se , a następnie jego metylacja do formy trimetylowej $(\text{CH}_3)_3\text{Se}^+$ [54], co można opisać schematycznie równaniami (1-4):



Druga droga metabolizmu związków selenu polega na bezpośrednim wbudowywaniu lub wiązaniu go przez białka, w których zastępuje on siarkę, głównie w aminokwasach, cysteinie i metioninie [54].

U zwierząt oraz ludzi, poziom selenu w organizmie jest regulowany na drodze metabolizmu. Podstawowym mechanizmem regulacyjnym jest tworzenie w wątrobie trimetyloselenu lub selenocukrów, które są wydalane z moczem. W przypadku wysokiego nadmiaru selenu w diecie, jest on również przekształcany do formy dimetylowej, która jest metabolitem pośrednim, wydzielanym drogą oddechową, ale tylko wtedy, gdy szybkość jej tworzenia przewyższa szybkość dalszej metylacji do jonu trimetyloselenowego [73]. Forma monometylowa selenu jest zazwyczaj wydalana na drodze metabolizmu selenometioniny [54]. Sugeruje się również, że w przypadku wysokich poziomów selenu, może on być wydalany z organizmu wraz z kałem, przy czym mechanizm odpowiedzialny za to, nie jest do końca poznany.

Badania kliniczne i epidemiologiczne wskazują na występowanie związku pomiędzy zawartością selenu w organizmie, a ryzykiem występowania różnego rodzaju schorzeń [71, 70, 82] w tym m.in.: zaburzeń poziomu hormonu tarczycowego [75], chorób nowotworowych [22], choroby tarczycy [83], choroby układu krążenia [14, 37], męskiej bezpłodności [39], zaburzeń w płodności kobiet [72], obniżenia zdolności poznawczych [13, 1], obniżonej odporności i zwiększonej podatności na zakażenia wirusowe [8, 17]. W latach 70' wykazano, że zwiększona częstość występowania, w pewnym rejonie Chin, choroby Keshan i endemicznej kardiomiopatii, miała związek z niedoborem selenu w diecie, połączonym z infekcją wirusową [6, 7].

W związku z powyższym, bardzo ważnym wydaje się być zrozumienie zależności pomiędzy podażą określonego składnika w diecie, a jego wpływem na organizm, na poziomie molekularnym i komórkowym.

Dzięki zdobyczom współczesnej nauki możliwe stało się poszukiwanie odpowiedzi na pytania: w jaki sposób poziom podaży selenu wpływa na ekspresję genów oraz jak genetyczne czynniki wpływają na metabolizm selenu i tym samym na żywieniowe wymagania dla tego mikroelementu, z punktu widzenia optymalnego zdrowia.

SELENOBIAŁKA

Podstawową funkcją fizjologiczną selenu jest jego obecność w wielu selenobiałkach w postaci selenocysteiny. Jako składnik białek, selen pełni w organizmach zwierząt i człowieka wiele funkcji. Jedną z nich jest funkcja antyoksydacyjna. Ochronna rola selenu przed prooksydantami wynika m.in. z obecności tego pierwiastka w centrum aktywnym enzymów antyoksydacyjnych, takich jak: peroksydazy glutationowe (GPx) oraz reduktazy tioredoksyny (TrxRx).

GPx stanowią, obok dysmutazy ponadtlenkowej i katalazy, część enzymatycznego systemu chroniącego komórki przed uszkodzeniami, związanymi z utlenianiem m.in. lipidów, lipoprotein i kwasów nukleinowych [51, 16]. Peroksydaza glutationowa w obecności zredukowanego glutationu (GSH) katalizuje redukcję nadtlenu wodoru (H_2O_2) do wody lub nadtlenu organicznych (ROOH) do odpowiednich alkoholi (ROH) [92]. U człowieka odkryto cztery różne peroksydazy glutationowe. GPx1, występuje prawie we wszystkich komórkach, neutralizuje H_2O_2 oraz nadtlenuki organiczne chroni komórki przed stresem oksydacyjnym. Odpowiedź myszy transgenicznych pozbawionych ekspresji lub z nadekspresją genu GPx1 sugeruje także inną aktywność tego białka, w odniesieniu zarówno do reaktywnych form tlenu i reaktywnych form azotu, jak również w odniesieniu do insulinozależnych procesów wewnątrzkomórkowych [52]. GPx2 – peroksydaza żołądkowo-jelitowa, redukuje nadtlenuki lipidowe powstające podczas trawienia pokarmu w przewodzie pokarmowym. Myszy pozbawione aktywności enzymów GPx1 i GPx2 (knock-out), są bardziej podatne na czynniki utleniające [21]. Trzeci typ – GPx3, jest głównym antyoksydantem w osoczu. Poziom aktywności tego enzymu stanowi główny wskaźnik ogólnej zawartości selenu w organizmie [87]. Z kolei GPx4 to peroksydaza glutationowa nadtlenuków fosfolipidowych, która również ulega ekspresji w większości tkanek. Funkcja GPx4 wiąże się z ochroną komórek przed stresem oksydacyjnym, aktywnością lipooksygenazy i wytwarzaniem nasienia [15, 67].

Reduktaza tioredoksyny jest selenoproteiną, która w komórkach ssaków występuje jako homodimer w formie trzech izoenzymów: cytoplazmatycznej (TrxR1), mitochondrialnej (TrxR2) oraz jako glutationowa reduktaza tioredoksyny (TrxR3)

[80]. Miejscem katalitycznym w cząsteczce białka jest zachowany ewolucyjnie rejon zawierający sekwencję -Cys-Val-Asn-Val-Gly-Cys-. W każdym monomerze TrxRx występuje miejsce z wbudowaną cząsteczką FAD. Podczas reakcji redoks elektrony są transportowane z NADPH poprzez FAD do miejsca aktywnego gdzie zredukowany jest substrat [80]. TrxRx, reprezentują drugą rodzinę selenobiałek, która zapewnia utrzymanie odpowiedniego stanu redoks wewnątrz komórki, biorąc udział w redukcji rybonukleotydów do deoksyrybonukleotydów, oraz w regulacji aktywności czynników transkrypcyjnych [5]. Powyższa aktywność TrxRx realizowana jest w układzie tioredoksyna-reduktaza tioredoksyny. Mutanty pozbawione możliwości odnawiania zredukowanej formy tioredoksyny, nie wykazują aktywnego działania tych białek zarówno w procesie wzrostu komórkowego, jak i hamowaniu apoptozy [80].

Wśród innych ważnych, selenozależnych enzymów należy wymienić także dejodynazę jodotyroninową i selenobiałko P (SEPP).

Selen obok jodu odgrywa istotną rolę w metabolizmie hormonów tarczycy. Pierwiastek ten jest składnikiem 5'-dejodynazy jodotyroninowej, enzymu odpowiedzialnego za przekształcenie nieaktywnej tyroksyny (T_4) w trójjodotyroninę (T_3) będącą głównym, aktywnym biologicznie hormonem tarczycy [16]. Dejodynazy jodotyroninowe są oksydoreduktazami i należą do rodziny selenobiałek, do aktywacji których konieczna jest obecność zredukowanych związków tiolowych (RSH), pełnią kluczową rolę w homeostatycznym systemie kontrolującym stężenie hormonów tarczycy w każdej komórce. Odpowiadają za kontrolę prawidłowego rozwoju, wzrostu, różnicowania i specyficznego metabolizmu komórek. Działają w tyreocytach i we wszystkich komórkach pozatarczycowych, tworząc swoisty wewnątrzkomórkowy system enzymów błonowych, odpowiedzialnych nie tylko za biotransformację (konwersję) prohormonu, tyroksyny (T_4), do aktywnego hormonu T_3 , ale również za specyficzną regulację poziomu T_4 i T_3 w każdej komórce. Synteza dejodynaz jest ściśle kontrolowana przez stężenie T_3 w komórce, a stężenie T_3 przez dejodynazy jodotyroninowe. Wyróżnia się trzy typy dejodynaz jodotyroninowych: dejodynaza typu I, dejodynaza typu II i dejodynaza typu III. Dejodynazy jodotyroninowe katalizują reakcje odjodowania hormonów tarczycy [64, 9].

Selenobiałko P (SEPP) jest zewnątrzkomórkową glikoproteiną zawierającą ok. 10 reszt selenocysteiny. U ludzi całkowita długość łańcucha aminokwasowego wynosi 366 aminokwasów. Z selenobiałkiem P może być związane nawet około 60% Se wykrywanego w osoczu [77]. Jest ono dobrym wskaźnikiem zasobów selenowych organizmu, ponieważ jego poziom zmienia się wraz ze zmianą podaży selenu w diecie [47, 19]. Funkcja SEPP nie jest dobrze poznana. W badaniach z wykorzystaniem myszy transgenicznym pozbawionych genu *SEPP* zaobserwowano, że białko to pełni kluczową rolę w dostarczaniu selenu do pozawątrobowych narządów [57, 18, 74]. Dodatkowo uczestniczy w magazynowaniu tego mikroelementu. Istnieją również dowody, że białko to pełni rolę antyoksydacyjną [78]. Za pośred-

nictwem heparyny SEEP opłaszczą komórki tworząc rodzaj bariery, która chroni je przed zewnątrzkomórkowymi prooksydantami [81]. Głównym miejscem syntezy SEEP jest wątroba [20].

Dzięki przeprowadzonym badaniom stwierdzono istnienie również innych selenobiałek, oznaczonych symbolami: SEPH, SEPL, SEPM, SEPN, SEPS, SEPT i SEPW, w większości także związanych z aktywnością antyoksydacyjną [80, 29, 76].

SYNTEZA SELENOBIAŁEK

Selenocysteina (Sec) jest włączana do aminokwasowej sekwencji selenobiałek podczas translacji i jest kodowana przez kodon UGA w rejonie kodującym mRNA [42]. W większości rodzajów mRNA, kodon UGA jest kodonem terminalnym, zatrzymującym translację, stąd jego odczytanie jako kodonu dla selenocysteiny wymaga obecności specyficznego fragmentu mRNA – 3'UTR (ang. *Untranslated Region*), posiadającego strukturę pętli, nazywaną SECIS (ang. *Selenocysteine Insertion Sequence*). Pętla ta ma za zadanie hamować ruch podjednostek rybosomów, opóźniając translację, co zwiększa wydajność włączania Sec w strukturę powstającego białka.

Do włączenia selenu w strukturę aminokwasu – selenocysteiny, potrzebna jest nie tylko ramka kodonowa UGA i struktura SECIS, ale także specyficzna cząsteczka selenocysteinylo-tRNA (tRNA-Sec). Cząsteczka tRNA-Sec zawiera wysoko-zmodyfikowaną adenozyne w pozycji 37 pętli antykodonowej i metylowaną rybozę w urydynie, w pozycji 34. Selenocysteina jest syntetyzowana bezpośrednio na tRNA z selenu, przy udziale ATP i seryl-tRNA. Synteza tRNA-Sec wymaga zarówno enzymu syntetazy selenofosforanowej do syntezy selenofosforanu z selenu oraz syntetazy selenocysteinowej do konwersji selenofosforanu do tRNA-Sec [90].

Zidentyfikowano dwie syntetazy selenofosforanowe: SPS1 i SPS2, z których tylko jedna – SPS2 jest selenobiałkiem. Badania z wykorzystaniem interferującego RNA oraz badania *in vitro*, wskazują, że tylko SPS2 bierze udział w syntezie selenobiałek [90, 89]. Ponadto wiele specyficznych białek wiążących RNA jest wymaganych do odkodowania UGA i włączenia Sec do łańcucha aminokwasowego białka, w tym m.in. białko 2 (SBP2) wiążące SECIS. SBP2 wraz z 3'UTR przyłącza się do struktury SECIS i jest czynnikiem limitującym syntezę selenobiałek [23].

Powyższe dane jednoznacznie pokazują, że na drodze od selenu znajdującego się w pożywieniu, do powstania funkcjonalnych selenobiałek, znajduje się wiele kluczowych, powiązanych ze sobą etapów, podlegających wewnątrzkomórkowej regulacji. Układ koordynujący syntezę selenobiałek tworzą m.in.: enzym SPS2, selenobiałko SEPP, sekwencja 3'UTR- i białka związane z włączaniem Sec do

łańcucha białkowego. Zatem profil selenobiałek w komórce i ich regulacja będzie zależec nie tylko od podaży selenu w diecie, ale także w dużej mierze od czynników genetycznych m.in. występowania indywidualnych polimorfizmów nukleotydowych (SNP).

WPLYW SELENU NA POZIOM EKSPRESJI GENÓW KODUJĄCYCH SELENOBIAŁKA

Duża część przeprowadzonych doświadczeń pokazuje, że niski poziom selenu w medium hodowlanym, w badaniach *in vitro*, lub w diecie zwierząt i ludzi, wpływa na zmiany w poziomie ekspresji genów kodujących selenobiałka oraz w poziomie aktywności niektórych selenobiałek. Przykładowo, niedobór selenu w diecie szczurów powoduje silny spadek aktywności GPx1 oraz poziomu mRNA tego genu w wątrobie i innych narządach [33]. W wątrobie szczurów, podobny wpływ niskiej podaży selenu, obserwowano również dla innych selenobiałek, m.in. GPx4 i IDI [11], chociaż był on mniej znaczący. Również, w przypadku dwóch izoenzymów reduktazy tioredoksyny, obserwowano spadek ich aktywności, przy czym TrxR1 był bardziej czuły na obniżenie poziomu selenu, niż TrxR2 [25]. W komórkach okrężnicy w hodowli *in vitro*, niedobór selenu powodował istotne obniżenie ekspresji genu *GPx1*, ale nie *GPx2* [63]. Wynika z tego, że efektywność procesu syntezy niektórych selenobiałek jest zależna od poziomu selenu [63, 53].

Wydaje się, że w przypadku eukariota kluczowym elementem determinującym hierarchię syntezy selenobiałek, jest koniec 3'UTR różnych selenobiałkowych mRNA. Częsteczki mRNA charakteryzują się znaczną zmiennością w długości końca 3'UTR i umiejscowienia kodonu UGA, kodującego selenocysteinę. Konsekwencją tego jest różna liczba nukleotydów pomiędzy kodonem UGA i strukturą SECIS [61]. Niektóre doniesienia wskazują, że 3'UTR, może mieć wpływ na poziom odpowiedzi komórkowej na selen. Wykorzystując w pracy gen reporterowy dejodynazy odkryto, że synteza aktywnych enzymów przez transfekowane komórki wątroby była mniej zależna od braku selenu, kiedy gen reporterowy był przyłączony do *GPx4* 3'UTR niż wtedy, gdy był przyłączony do genu *GPx1* 3'UTR [10]. Precyzyjny mechanizm, odpowiadający za powyższą zależność, nie jest dokładnie poznany, ale sugeruje się, że może on być związany ze zdolnością do wiązania się różnych transkryptów do białek, niezbędnych do utworzenia kompleksu wbudowującego Sec do łańcucha aminokwasowego. Potwierdzeniem tej hipotezy mogą być wyniki badań prowadzonych dla hodowli fibroblastów, pochodzącymi od różnych osób, posiadających zmutowany gen *SBP2*, podczas których zaobserwowano różny stopień zahamowania ekspresji genów kodujących selenobiałka. Stwierdzono większe zahamowanie dejodynazy jodotyroninowej niż GPx1 [32]. Wydaje się, że rów-

niez inne czynniki niż 3'UTR, są zaangażowane w regulację syntezy selenobiałek, ponieważ w przypadku TrxR1 i TrxR2, transkrypty reporterowe z dwoma 3'UTR nie prezentowały żadnych różnic w odczycie, chociaż *in vivo*, w sytuacji deficytu selenu, obserwowano zmiany w odpowiedzi tych enzymów [25]. Jedną z przyczyn powyższych obserwacji może być stopień metylacji Um34, podczas dojrzewania tRNA-Sec [62]. Mutacja tRNA-Sec w kodonie 37 hamuje metylację Um34 i u myszy transgenicznych mających tę mutację obserwuje się białko- i tkano-specyficzne obniżenie syntezy selenobiałek [62, 91]. Sugeruje to, że zasięg metylacji Um34 wpływa na zdolność włączania się Sec do niektórych selenobiałek bardziej, niż innych. Gpx1, GPx3 i SelT są bardziej wrażliwe na powyższą mutację niż TrxR1 i GPx4 [62].

WPLYW SELENU NA PROFIL EKSPRESJI GENÓW W KOMÓRKACH

Poznanie fizjologicznych efektów zróżnicowanej podaży selenu, wymaga nie tylko określenia wpływu dawki spożywanego selenu na poziom ekspresji genów selenobiałek, ale także ustalenia wpływu tego pierwiastka na zmiany wtórne, związane z ich funkcjonowaniem. Przy użyciu mikromacierzy DNA możliwe jest śledzenie zarówno globalnych zmian genomowych, jak i poszczególnych specyficznych wzorów ekspresji genów, związanych z określonymi szlakami odpowiedzi na konkretny czynnik.

Wśród niewielu doniesień na temat wpływu selenu na profil ekspresji genów, można znaleźć kilka badań z hodowlami transformowanych linii komórkowych, np. dla linii komórek prostaty poddanych działaniu kwasu selenometyloвого, lub selenometioniny [91]. W badaniach tych stwierdzono, że po inkubacji komórek z kwasem selenometylowym, 951 genów zmieniło poziom swojej ekspresji. Znaczące zmiany odnotowano w grupie genów związanych z regulacją cyklu komórkowego, jak również dla genów związanych z proliferacją komórek, regulacją hormonów androgenowych, włączając receptory androgenowe i genów kodujących enzymy detoksyfikacyjne drugiej fazy. Z kolei, pod wpływem suplementacji komórek prostaty selenometioniną, spora liczba genów zmieniła poziom ekspresji i podobnie jak w przypadku kwasu metyloselenowego, znaczące zmiany miały miejsce w grupie genów związanych z regulacją cyklu komórkowego, indukując zatrzymanie cyklu komórkowego, a także związanych ze ścieżką sygnałową androgenów [91].

W innych badaniach, z wykorzystaniem macierzy genowej, komórki nowotworowe sutka poddano działaniu kwasu metyloselenowego, obserwując istotne zmiany w ekspresji 30 genów, w tym również odpowiedzialnych za kontrolę cyklu komórkowego i regulację apoptozy, oraz dla genów kodujących białka ścieżek sygnałowych [30].

Powyższe wyniki potwierdziły znane z badań *in vitro* obserwacje, dotyczące hamowania wzrostu komórek przez kwas metyloselenowy i selenometioninę, w mikromolarnych stężeniach.

W badaniu ekspresji genów w komórkach pochodzących od szczurów, stwierdzono, że niedobór selenu w diecie prowadził w wątrobie zwierząt do zmian w ekspresji genów kodujących enzymy związane z metabolizmem ksenobiotyków [36]. W innym przypadku, w mięśniach myszy utrzymywanych w warunkach kontrolowanej diety bezselenowej, przez trzy pokolenia, stwierdzono wzrost ekspresji genów kodujących: receptor prostaglandyny E2, receptor beta limfocytów T i czynnik transkrypcyjny Tcf-7 dla limfocytów T, a obniżenie ekspresji dla onkogenu Vav2 [44].

10-miesięczna suplementacja selenem, w postaci selenometioniny, pacjentów z dysplazją przetyku, nie spowodowała żadnych zmian w ekspresji genów w komórkach pochodzących z biopsji przetyku, pomimo zaobserwowania korzystnych efektów zastosowanej chemoprewencji [50].

W badaniu ekspresji genów, w komórkach limfocytów pochodzących od wolontariuszy z terenu Europy, poddanych suplementacji selenem, w stężeniu 100 µg/dzień seleninu sodu, przez 6 tygodni, stwierdzono podniesienie się poziomu selenu w osoczu z 1,15 do 1,38 µmol/l. Poziom SEPP był u nich porównywalny do tego, jaki oznaczono w podobnym badaniu, przeprowadzonym wśród wolontariuszy ze Stanów Zjednoczonych [58]. U osób badanych nie zaobserwowano żadnych istotnych zmian w ekspresji genów, chociaż nieznaczne różnice stwierdzono w ekspresji 250 genów. Wśród tych genów znajdowały się takie, których ekspresja wzrosła, a związane były z regulacją biosyntezy białek.

ZMIENNOŚCI GENETYCZNA SELENOBIAŁEK – – EFEKT BIOLOGICZNY

Selen poprzez selenobiałka pełni ważne funkcje biochemiczne, przez co genetyczna zmienność, w obrębie genów związanych ze zdolnością organizmu do jego efektywnego wykorzystania, będzie się wyrażać poprzez określony fenotyp.

Stwierdzono, że mutacje w dwóch genach związanych z metabolizmem selenu, kodujących białka: SBP2 i selenobiałko N, mają wpływ na wzrost ryzyka pojawiania się różnych chorób. W pierwszym przypadku zaobserwowano, że mutacja w genie kodującym SBP2, powodowała wadliwe włączanie, poprzez SECIS, selenocysteiny do łańcucha aminokwasowego, objawiające się zaburzeniami funkcjonowania tarczycy i niskim poziomem ekspresji genu dejodynazy tyroidowej [22, 32]. W drugim, mutacja w genie kodującym selenobiałko N, prowadziła do wrodzonej dystrofii mięśniowej [2].

Wspomniane powyżej mutacje są związane z niskim poziomem zarówno mRNA jak i białka i prowadzą do zmniejszenia liczby wiązań SBP2 do SECIS. Oba przykłady dotyczą zaburzenia interakcji pomiędzy SBP2-SECIS i są ważne z punktu widzenia syntezy selenobiałek. Jednocześnie powyższe typy wspomnianych mutacji są rzadkie i ich fenotyp jest niezależny od podaży selenu.

Tak jak wszystkie inne geny, geny selenobiałek i innych seleno-pokrewnych związków zawierają SNP, czyli stabilne miejsca polimorficzne dla pojedynczych nukleotydów. Wyniki badań sekwencjonowania DNA pokazują, że w ludzkim genomie znajduje się ogromna liczba takich allelowych wariantów, występujących średnio co 100-300 par zasad. Większość z tych wariantów może nie mieć wpływu na funkcjonalność komórek, ponieważ SNP występują w intronowych fragmentach genów, nie powodując żadnych aminokwasowych zmian, lub zmiany w sekwencji aminokwasów nie mają wpływu na aktywność danego białka.

Zidentyfikowano wiele różnych wariantów w obrębie genów kodujących selenobiałka i składniki selenobiałek [43]. Zmienność ta ma związek z ryzykiem powstania choroby nowotworowej oraz innych chorób [60, 70, 79]. Dlatego, analizując poziom ekspresji genów związanych z selenem, celem planowanych w przyszłości badań powinna być identyfikacja SNP, które pojedynczo lub w powiązaniu z innymi SNP, lub czynnikami żywieniowymi, mają wpływ na metabolizm i funkcjonalność selenobiałek.

SNP w genach kodujących białka mogą wpływać na zmiany w sekwencji aminokwasów i determinować funkcjonalność określonego białka, lub gdy występują w regionach regulatorowych tych genów, mogą zmieniać poziom ich ekspresji.

Poziom ekspresji selenobiałek i ich aktywność może mieć związek z SNP występującymi w: regionie kodującym lub w końcu 3'UTR genów selenobiałek, w regionie kodującym białka zaangażowane w mechanizm inkorporacji Se (np. SBP2, EF-Sec) oraz w tRNA-Sec lub w genach kodujących białka związane z transportem Se.

Konsekwencje, wynikające z pojedynczych zmian nukleotydowych, nie są dla organizmu nieznaczące, a ujawnienie się zauważalnych zmian fizjologicznych jest związane z kombinacją wielu różnych SNP, w obrębie genów kodujących selenobiałka, możliwe, że w połączeniu z podażą selenu w diecie.

Synteza selenobiałek i ich funkcjonalność wynika z połączonego wpływu informacji genetycznej zapisanej w genach, określającej zdolność organizmu do wykorzystania selenu oraz z podażą selenu w diecie. SNP w genach kodujących selenobiałka, mogą potencjalnie wpływać na zapotrzebowanie żywieniowe na selen, wymagane do osiągnięcia określonego poziomu tego pierwiastka, zapewniającego jego funkcjonalność u indywidualnego osobnika. Podaż selenu poniżej poziomu optymalnego, może prowadzić do obniżenia zdolności selenobiałek do ochrony komórek przed stresem oksydacyjnym, a także upośledzać pozostałe ich funkcje.

Wśród doniesień na temat wpływu SNP na białka kodowane przez ich geny, mało jest informacji dotyczących współzależności występowania wielu pojedyn-

czych zmian w jednym genie lub zmian w genach kodujących białka funkcjonalnie ze sobą powiązane. W badaniach dotyczących SNP, w odniesieniu do podaży Se w diecie, metabolizmu Se i ryzyka chorób, w zakresie zdolności komórek do wykorzystania Se w procesach komórkowych, udało się zidentyfikować kilka SNP w regionach regulatorowych.

Zmiana T/C w regionie kodującym GPx1, w populacji skandynawskiej, była jedną z pierwszych tego rodzaju mutacji zidentyfikowanych podczas badań nad utratą heterozygotyczności, wspomaganych zastosowaniem technik bioinformatycznych [40]. Wariant genu z C w kodonie 198, koduje prolinę (Pro) a wariant T powoduje zamianę aminokwasową na leucynę (Leu). Oba warianty zostały również wykryte w populacjach: Afro-Karaibskiej, kaukaskiej i japońskiej [40, 41, 45, 68]. Alternatywna homozygota T występuje z częstotliwością tylko 7-11% u zdrowych mieszkańców Kaukazu i jest wyższa (ok. 15%) w zdrowej populacji Afro-Karaibskiej [41, 45, 68]. Konsekwencją aminokwasowej zmiany, spowodowanej przez opisywane SNP, jest zaburzenie funkcjonowania GPx1. W lizatach otrzymanych z transfekowanych komórek stwierdzono, że wariant białka z wbudowaną Leu posiada niższą aktywność niż białko z Pro. Stwierdzono, że dla wariantu białka z Leu obserwuje się występowanie zależności pomiędzy poziomem selenu w osoczu i aktywnością GPx1 w komórkach krwi [49]. Istnieją także doniesienia wskazujące na występowanie związku SNP, w wariacie z Leu z podatnością na niektóre choroby. Zaobserwowano m.in., że rośnie częstość zachorowania na nowotwory: płuc, piersi i pęcherza moczowego [45, 68, 48]. Powyższe obserwacje dla nowotworu piersi zostały potwierdzone również w innym badaniu [69], chociaż znaleźć można w literaturze także odmienne wyniki [24]. Należy podkreślić, że pojawienie się konkretnej choroby, z powodu SNP, występuje najczęściej w połączeniu z innymi czynnikami, takimi jak inne SNP lub niewłaściwa dieta. Dla przykładu, występowaniu nowotworu pęcherza czy piersi, na skutek obecności allelu Leu, towarzyszyła równoczesna zmiana nukleotydowa w genie kodującym inne białko obrony antyoksydacyjnej tj. w manganowej dysmutazie ponadtlenkowej [48]. Ponadto, wykazano silny związek pomiędzy spożywaniem alkoholu i paleniem tytoniu z ryzykiem wystąpienia nowotworu płuc u Leu – homozygotycznych pacjentów, czego nie obserwowano u pacjentów posiadających inny wariant genu *GPx1* [66].

Stwierdzono obecność również innych SNP w genie *GPx1*, najczęściej w rejonie promotorowym (rs3811699) i w regionach kodujących, w kodonach 75 i 91, powodujących zmiany aminokwasowe, jednakże bez potwierdzenia ich wpływu na funkcjonalność samego enzymu [41].

W przypadku genu *GPx2* nie potwierdzono występowania SNP [41]. Natomiast badanie przeprowadzone wśród 123 osób pozwoliło zidentyfikować 8 silnie powiązanych ze sobą wariantów w regionie promotorowym genu *GPx3*, co pozwoliło na wyodrębnienie dwóch haplotypowych grup [86]. Stwierdzono niższą aktywność tego genu w grupie dzieci i młodzieży, u których wystąpił udar niedokrwienny mózgu.

GPx4 odgrywa główną rolę podczas tworzenia spermy, stąd podjęto badania w zakresie występowania związku pomiędzy zmianami genetycznymi, w obrębie genu kodującego to białko, a żywotnością plemników i/lub niepłodnością [28, 56]. W populacji kaukaskiej wykryto SNP w genie *GPx4*, w regionie 3'UTR, w pozycji 718 (rs713041), a oba warianty alleli występowały z podobną częstotliwością [41, 85]. Inny z wariantów genu *GPx4*, z SNP w pozycji 738, był rzadko występującym w populacji afroamerykańskiej/afrykańskiej [72] i nie był wcześniej wykryty w populacji kaukaskiej [85]. Dla opisanych zmian nie stwierdzono istnienia bezpośrednich zależności występowania SNP z funkcjonalnością GPx4.

W przeciwieństwie do powyższych wniosków, niektóre z przedstawionych prac jednoznacznie wskazują, że rs713041 ma znaczący wpływ na funkcjonalność komórkową. W przypadku homozygot CC i TT stwierdzono, że odróżnia je inny poziom metabolitów 5'lipooksygenazy, oznaczanych w limfocytach [85].

W innym badaniu, z wykorzystaniem genu reporterowego, dwa fragmenty 3'UTR przyłączono do regionu kodującego dejodynazy jodotyroninowej i wprowadzono do komórek Caco-2 na drodze transfekcji [12]. W obu przypadkach, dla odpowiedniej podaży selenu w hodowli komórkowej i w warunkach występowaniu deficytu selenu, wariant genu C charakteryzował się wyższym poziomem aktywności reportera dejodynazy. Z kolei w badaniach *in vitro* kompleksów RNA-białko wiążące, stwierdzono, że zamiana nukleotydu z T na C prowadzi do zmiany białka wiążącego [59], oraz że jest to wynik zmiany struktury RNA w miejscu 3'UTR [12].

Badania przeprowadzone z udziałem pacjentów, podczas prowadzonej suplementacji selenem, pokazały, że T/C zmiana w genie *GPx4* w regionie 3'UTR prowadziła do zmiany w ekspresji genów *GPx4*, *GPx1* i *GPx3* lub zmiany aktywności kodowanych przez nie białek [59]. W badaniach transkryptów, zawierających warianty T/C alleliczne, stwierdzono, że odróżnia je od siebie zdolność do tworzenia kompleksów RNA-białko. C wariant transkryptu z genu *GPx1* był bardziej konkurencyjny niż wariant T [12]. Wyniki badań *in vivo* i *in vitro* potwierdzają, że SNP zmienia pozycję białka GPx4 w hierarchii syntezy selenobiałek. Warto również zauważyć, że w dwóch powiązanych ze sobą tematycznie badaniach stwierdzono występowanie związku pomiędzy obecnością T wariantu, a obniżeniem ryzyka wystąpienia wrzodziejącego zapalenia jelita grubego [84] i nowotworu jelita grubego [12]. Dodatkowo, w Wielkiej Brytanii, w badaniach populacyjnych przeprowadzonych na szeroką skalę, potwierdzono związek pomiędzy genotypem (w tym występowaniem SNP), a podatnością na zachorowanie na nowotwór piersi [26].

Z przedstawionych badań wynika, że dla rs713041, wystąpienie SNP w pozycji 718 w 3'UTR genu *GPx4* ma funkcjonalne konsekwencje i jest związane ze zmianami w ekspresji peroksydazy 1 i 4, a co się z tym wiąże z podatnością na występowanie zmian zapalnych i nowotworowych.

Opisano trzynaście SNP w genie selenobiałka S, a wśród nich jeden (rs34713741), który miał wpływ na zmiany w markerach stanu zapalnego, takich jak TNF- α (ang. *Tumor Necrosis Factor* – czynnik nekrozy nowotworów) i IL-1 β (z ang. *Interleukin-1 beta*) [46]. Powyższy SNP dotyczył zamiany nukleotydu G na A w pozycji 105 w regionie promotorowym genu. W przeprowadzonych badaniach skutków tej zmiany stwierdzono, że ma ona wpływ na modulację odpowiedzi komórek na czynniki stresowe i funkcjonowanie siateczki śródplazmatycznej [46].

Dwa polimorficzne warianty: C/T podstawienie w pozycji 811 (rs5845) i G/A podstawienie w pozycji 1125 (rs5859), zidentyfikowano w genie *Sep15*, w regionie odpowiadającym 3'UTR mRNA [4]. SNP w pozycji 1125 znajdowało się blisko struktury SECIS. Ocena ramki odczytu dla kodonu UGA, z użyciem genu reporterowego pokazała, że połączenie zmian C811 i T1125 wpłynęło na strukturę SECIS, zwiększając jej czułość na poziom selenu. Wskazuje to, że oba SNP mają wpływ na efektywność włączania selenu podczas syntezy białka *Sep15* [4]. Jednakże, w przypadku nowotworowych komórek mezotelialnych, ekspresja genu *Sep15*, dla wariantu A w pozycji 1125, nie była zależna od poziomu selenu [3].

Liczne badania potwierdzają istotną rolę białka SEPP w transporcie selenu. To ważne fizjologicznie białko zawiera wiele sekwencji Sec i ma dwie struktury SECIS w swoim mRNA. Występuje w plazmie, gdzie ma dostęp do aktywnej biologicznie formy selenu. Ewentualne zmiany nukleotydowe, w obrębie genu kodującego białko SEPP, mogą skutkować poważnymi konsekwencjami w efektywności transportu selenu. Funkcjonalnie istotne SNP zidentyfikowano w regionie promotorowym genu *SEPP* [27], który zawiera sekwencję powtórzeń TC. Zmiana nukleotydowa w tym regionie obniżała aktywność podstawowego promotora w konstrukcie genu reporterowego komórek wątroby. Badanie heterozygotyczności transkryptu, techniką HPLC, w warunkach denaturujących, pozwoliło wykryć dwa SNP, w regionie kodującym i 3'UTR genu *SEPP* [58], oba polegające na zamianie G na A. Jeden z nich powoduje zmianę aminokwasową alaniny (Ala) na treoninę (Thr) w kodonie 234 (rs3877899), drugi z nich zlokalizowany jest blisko SECIS wewnątrz 3'UTR, w pozycji 25191 (rs7579). Zmiana Ala na Thr ma miejsce w łańcuchu aminokwasowym białka, w pobliżu regionu bogatego w Sec.

Dane, pochodzące z badań dotyczących stosowania suplementacji selenu u ludzi, pokazują jednoznacznie, że zarówno rs3877899 jak i rs7579 wpływają na ilość biomarkerów, określających poziom selenu w organizmie ludzkim [58]. Ustalono, że wyjściowy poziom selenu w osoczu jest zależny od występowania wspomnianych SNP w białku SEPP oraz od wskaźnika masy ciała (BMI), natomiast wyjściowy poziom białka SEPP w osoczu miał związek z występowaniem SNP w pozycji rs24731, a jego poziom po suplementacji selenem zależał od SNP w rs25191. Oba SNP miały również wpływ na aktywność peroksydazy glutationowej w osoczu i limfocytach.

PODSUMOWANIE

Podaż selenu w diecie jest ważnym czynnikiem wpływającym na stan zdrowia organizmu i jego podatność na różnego rodzaju choroby. Rzeczywiste społeczne ryzyko zdrowotne, związane z niedoborem selenu, nie jest znane, ponieważ spektrum biochemicznych i funkcjonalnych zależności, związanych z nieodpowiednią ilością tego pierwiastka, nie zostało dotychczas w pełni scharakteryzowane. Również ustalenie progu dla dolnej granicy selenu, poniżej której mówić należy o niedoborze jest bardzo trudne.

Niemniej sama wiedza na temat poziomu selenu w diecie nie jest wystarczająca dla przewidywania potencjalnych korzyści zdrowotnych lub skutków ubocznych jego przyjmowania, ponieważ na zdolność wykorzystania selenu przez organizm bardzo istotny wpływ mają czynniki genetyczne.

Z przedstawionych danych wynika, że wiele występujących w genach seleno-białek SNP ma wpływ na zróżnicowanie funkcjonalności ich allelicznych wariantów. Wyniki badań w zakresie poszukiwania dalszych konsekwencji tych zmian pozwalają doszukiwać się ich związku z występowaniem chorób lub podwyższonym ryzykiem na zachorowanie, w połączeniu z innymi SNP oraz czynnikami środowiskowymi [45, 48].

Podczas oceny wpływu różnych wariantów genowych na metabolizm selenu, ważnym jest, aby rozważania tego problemu uwzględniały dwa kluczowe aspekty. Po pierwsze, aby rozważać wpływ genetycznych zmian w genach na metabolizm określonego składnika odżywczego, trzeba wziąć pod uwagę wszystkie metaboliczne zdarzenia, w których dany składnik bierze udział. Stąd, w sytuacji, gdy znane są zasady hierarchii i konkurencyjności w wykorzystaniu selenu do syntezy seleno-białek, należy w prowadzonych badaniach brać pod uwagę, że zmiana w syntezie jednego z białek, spowodowana SNP, może zmieniać syntezę innego białka [11, 63]. Po drugie, ważnym jest, aby rozważania nad zmiennością genetyczną były prowadzone w szerszym ujęciu funkcjonalności komórkowej, ponieważ konsekwencje wynikające z pojedynczego SNP mogą być zwiększone lub zrównoważone równoczesnym występowaniem innych SNP w innych genach. Te zależności, w ujęciu globalnym będą określać fizjologiczne skutki interakcji genetycznych i żywieniowych. Dla przykładu SNP w genie *SBP2* może wpływać na włączanie selenu, ale bez poważniejszych konsekwencji, o ile nie występuje w połączeniu z SNP w miejscu 3'UTR genu *GPx4*; jednocześnie wpływ SNP w genie *GPx1* może zostać zwiększony przez obecność SNP w genie *SEPP*, jako konsekwencja zaburzenia dostarczania selenu do tkanek docelowych [31]. Do chwili obecnej nie są dostępne wyniki badań nad oddziaływaniami żywieniowo-genetycznymi, w globalnym ujęciu metabolizmu selenu (w przypadku wielokrotnych SNP), a wiedza na ten temat ograniczona jest wyłącznie do efektów fizjologicznych wynikających z obecności pojedynczych SNP. W przypadku jednoczesnego rozważania podaży selenu i czyn-

ników genetycznych, zależności, które obserwuje się są bardzo złożone. Prawdopodobnie funkcjonalność SNP zależy m.in. od płci, pochodzenia etnicznego, BMI, stylu życia i czynników żywieniowych. Dla przykładu wpływ dwóch SNP w genie SEPP (Ala234 Thr i 25191 G/A) na poziom selenu w osoczu, był zależny od BMI [58], podczas gdy wpływ SNP w pozycji rs713041 genu *GPx4*, na poziom białka GPx4 w limfocytach, po zaprzestaniu suplementacji selenem, był obserwowany u kobiet, ale nie u mężczyzn [59].

Warto dodać, iż ważny wpływ na obserwowane efekty biologiczne ma również stężenie selenu, którego poziom wewnątrzkomórkowy zależy będzie od opisywanych powyżej uwarunkowań genetycznych.

Rola selenu jako antyoksydanta jest dobrze poznana i udokumentowana w literaturze [31]. Selen we właściwych stężeniach działa jako przełącznik redoks, aktywujący lub inaktywujący komórkowe czynniki wzrostu oraz białka funkcjonalne, na drodze utleniania lub redukcji zewnętrznych grup –SH i mostków disiarczkowych [27]. Jednakże w miarę zwiększania dawki, aktywność selenu z antyoksydacyjnej ulega zmianie na prooksydacyjną. *In vitro* w komórkach związku selenu reagują z tiolami np. takimi jak glutation produkując nadtlutki i inne reaktywne formy tlenu a stan stresu oksydacyjnego prowadzi do apoptozy [27].

Podsumowując, należy podkreślić, że istnieje potrzeba dalszego prowadzenia badań, w poszukiwaniu związków pomiędzy występowaniem pojedynczych i wielokrotnych SNP, w genach związanych z aktywnością selenu, podażą selenu i jego metabolizmem. Połączenie badań z zakresu transkryptomiki, proteomiki i metabolomiki może pozwolić na odkrycie nowych aspektów aktywności biologicznej tego pierwiastka i dostarczy cennych wskazówek dla indywidualizacji postępowania, w przypadku zwiększonego ryzyka wystąpienia chorób, związanych z niedoborem selenu, lub brakiem funkcjonalności komórkowej dla jego wykorzystania.

LITERATURA

- [1] AKBARALY TN, HININGER-FAVIER I, CARRIERE I, ARNAUD J, GOURLET V, ROUSSEL AM, BERR C. Plasma selenium over time and cognitive decline in the elderly. *Epidemiology* 2007; **18**: 52-58.
- [2] ALLAMAND V, RICHARD P, LESCURE A, LEDEUIL C, DESJARDIN D, PETIT N, GARTIOUX C, FERREIRO A, KROL A, PELLEGRINI N, URTIZBEREA JA, GUICHENEY P. A single homozygous point mutation in a 3' untranslated region motif of selenoprotein N mRNA causes SEP1-related myopathy. *EMBO Rep* 2006; **7**: 450-454.
- [3] AL-TAIE OH, SEUFERT J, MORK H, TREIS H, MENTRUP B, THALHEIMER A, STAROSTIK P, ABEL J, SCHEURLEN M, KÖHRLE J, JAKOB F. A complex DNA-repeat structure within the selenoprotein P promoter contains a functionally relevant polymorphism and is genetically unstable under conditions of mismatch repair deficiency. *Eur J Hum Genet* 2002; **10**: 499-504.
- [4] APOSTOLOU S, KLEIN JO, MITSUUCHI Y, SHETLER JN, POULIKAKOS PI, JHANWAR SC, KRUGER WD, TESTA JR. Growth inhibition and induction of apoptosis in mesothelioma cells by selenium and dependence on selenoprotein SEP15 genotype. *Oncogene* 2004; **23**: 5032-5040.

- [5] ARNÉR ES, HOLMGREN A. The tioredoxin system in cancer. *Semin Cancer Biol* 2006; **16**: 420-426.
- [6] BECK MA, ESWORTHY RS, HO YS, CHU FF. Glutathione peroxidase protects mice from viral-induced myocarditis. *FASEB J* 1998; **12**: 1143-1149.
- [7] BECK MA, LEVANDER OA, HANDY J. Selenium deficiency and viral infection. *J Nutr* 2003; **133**: 1463-1467.
- [8] BECK MA, NELSON HK, SHI Q, VAN DAEL P, SCHIFFRIN EJ, BLUM S, BARCLAY D, LEVANDER OA. Selenium deficiency increases the pathology of an influenza virus infection. *FASEB J* 2001; **15**: 1481-1483.
- [9] BECKETT GJ, ARTHUR JR. Selenium and endocrine systems. *J Endocrinol* 2005; **184**: 455-465.
- [10] BERMANO G, ARTHUR JR, HESKETH JE. Role of the 3' untranslated region in the regulation of cytosolic glutathione peroxidase and phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase gene expression by selenium supply. *Biochem J* 2006; **320**: 891-895.
- [11] BERMANO G, NICOL F, DYER JA, SUNDE RA, BECKETT GJ, ARTHUR JR, HESKETH JE. Tissue-specific regulation of selenoenzyme gene expression during selenium deficiency in rats. *Biochem J* 1995; **311**: 425-430.
- [12] BERMANO G, PAGMANDITIS V, HOLLOWAY N, KADRI S, MOWAT NAG, SHIEL RS, ARTHUR JR, MATHERS JC, DALY AK, BROOM J, HESKETH JE. Evidence that a polymorphism within the 3'UTR of glutathione peroxidase 4 is functional and is associated with susceptibility to colorectal cancer. *Genes Nutr* 2007; **2**: 227-232.
- [13] BERR C, BALANSARD B, ARNAUD J, ROUSSEL AM, ALPEROVITCH A. Cognitive decline is associated with systemic oxidative stress: the EVA study. *Etude du Vieillissement Arteriel. J Am Geriatr Soc* 2000; **48**: 1285-1291.
- [14] BLANKENBERG S, RUPPRECHT HJ, BICKEL C, TORZEWSKI M, HAFNER G, TIRET L, SMIEJA M, CAMBIEN F, MEYER J, LACKNER KJ. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2003; **349**: 1605-1613.
- [15] BRIGELIUS-FLOHÉ R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radic Biol Med* 1999; **27**: 951-965.
- [16] BRIGELIUS-FLOHÉ R, MAIORINO M. Glutathione peroxidases. *Biochim Biophys Acta* 2013; **1830**: 3289-3303.
- [17] BROOME CS, MCARDLE F, KYLE JA, ANDREWS F, LOWE NM, HART CA, ARTHUR JR, JACKSON MJ. An increase in selenium intake improves immune function and poliovirus handling in adults with marginal selenium status. *Am J Clin Nutr* 2004; **80**: 154-162.
- [18] BURK RF, HILL KE. Selenoprotein P: an extracellular protein with unique physical characteristics and a role in selenium homeostasis. *Annu Rev Nutr* 2005; **25**: 215-235.
- [19] BURK RF, NORSWORTHY BK, HILL KE, MOTLEY AK, BYRNE DW. Effects of chemical form of selenium on plasma biomarkers in a high-dose human supplementation trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; **15**: 804-810.
- [20] CARLSON BA, NOVOSELOV SV, KUMARASWAMY E, LEE BJ, ANVER MR, GLADYSHEV VN, HATFIELD DL. Specific excision of the seleno-cysteine tRNA [Ser] Sec (Trsp) gene in mouse liver demonstrates an essential role of selenoproteins in liver function. *J Biol Chem* 2004; **279**: 8011-8017.
- [21] CHU FF, ESWORTHY RS, CHU PG, LONGMATE JA, HUYCKE MM, WILCZYNSKI S, DOROSHOW JH. Bacteria-induced intestinal cancer in mice with disrupted GPx1 and GPx2 genes. *Cancer Res* 2004; **64**: 962-968.
- [22] CLARK LC, COMBS GF JR, TURNBULL BW, SLATE EH, CHALKER DK, CHOW J, DAVIS LS, GLOVER RA, GRAHAM GF, GROSS EG, KRONGRAD A, LESHNER JL, JR, PARK HK, SANDERS BBB JR, SMITH CL, TAYLOR JR. Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. A randomized controlled trial. *Nutritional Prevention of Cancer Study Group. JAMA* 1996; **276**: 1957-1963.
- [23] COPELAND PR, STEPANIK VA, DRISCOLL DM. Insight into mammalian selenocysteine insertion: domain structure and ribosome binding properties of Sec insertion sequence binding protein 2. *Mol Cell Biol* 2001; **21**: 1491-1498.

- [24] COX DG, HANKINSON SE, KRAFT P, HUNTER DJ. No association between GPX1 Pro198Leu and breast cancer risk. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; **13**: 1821-1822.
- [25] CROSLY LK, MÉPLAN C, NICOL F, RUNDLÖF AK, ARNÉR ESJ, HESKETH JE, ARTHUR JR. Differential regulation of expression of cytosolic and mitochondrial thioredoxin reductase in rat liver and kidney. *Arch Biochem Biophys* 2007; **459**: 178-188.
- [26] CURRANT JE, JOWETT JBM, ELLIOTT KS, GAO Y, GLUSCHENKO K, WANG J, ABEL AZIM DM, CAI G, MAHANEY MC, COMUZZIE AG, DYER TD, WALDER KR, ZIMMET P, MACCLUER JW, COLLIER GR, KISSEBAH AH, BLANGERO J. Genetic variation in selenoprotein S influences inflammatory response. *Nat Genet* 2005; **37**: 1234-1241.
- [27] DARAGÓ A, CHMIELNICKA J. Znaczenie kadmu, selenu, cynku i miedzi w rozwoju nowotworów gruczołu krokowego. *Nowotwory* 2004; **54**: 384-398.
- [28] DIACONU M, TANGAT Y, BÖHM D, KÜHN H, MICHELMANN HW, SCHREIBER G, HAIDL G, GLANDER HJ, ENGEL W, NAYERNA K. Failure of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase expression in oligoasthenozoospermia and mutations in the PHGPx gene. *Andrologia* 2006; **38**: 152-157.
- [29] DIKIY A, NOVOSELOV SV, FOMENKO DE, SENGUPTA A, CARLSON BA, CERNY RL, GINALSKI K, GRISHIN NV, HATFIELD DL, GLADYSHEV VN. SelT, SelW, SelH and Rdx12: genomics and molecular insights into the functions of selenoproteins of a novel thioredoxin-like family. *Biochemistry* 2007; **46**: 6871-6882.
- [30] DONG Y, GANTHER HE, STEWART C, IP C. Identification of molecular targets associated with selenium-induced growth inhibition in human breast cells using cDNA microarrays. *Cancer Res* 2002; **62**: 708-714.
- [31] DRAKE EN. Cancer chemoprevention: Selenium as a prooxidant, not an antioxidant. *Med Hypotheses* 2006; **67**: 318-322.
- [32] DUMITRESCU AM, LIAO XH, ABDULLAH MSY, LADO-ABEAL J, MAJED FA, MOELLER LC, BORAN G, SCHOMBURG L, WEISS RE, REFETOFF S. Mutations in SECISBP2 result in abnormal thyroid hormone metabolism. *Nat Genet* 2005; **37**: 1247-1252.
- [33] EVENSON JK, WHEELER AD, BLAKE SM, SUNDE RA. Selenoprotein mRNA is expressed in blood at levels comparable to major tissues in rats. *J Nutr* 2004; **134**: 2640-2645.
- [34] Expert Group on Vitamins and Minerals 2003. Risk Assessment Selenium. Part 3; Trace Elements.
- [35] FAIRWEATHER-TAIT SJ, BAO Y, BROADLEY MR, COLLINGS R, FORD D, HESKETH JE, HURST R. Selenium in human health and disease. *Antioxid Redox Sign* 2011; **14**: 1337-1383.
- [36] FISCHER A, PALLAUF J, GOHL K, WEBER SU, PACKER L, RIMBACH G. Effect of selenium and vitamin E deficiency on differential gene expression in rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; **285**: 470-475.
- [37] FLORES-MATEO G, NAVAS-ACIEN A, PASTOR-BARRIUSO R, GUALLAR E. Selenium and coronary heart disease: a meta-analysis. *Am J Clin Nutr* 2006; **84**: 762-773.
- [38] FORDYCE FM. Selenium deficiency and toxicity in the environment. In Selinus O, Alloway B, Centeno JA, Finkelman RB, Fuge R, Lindh U and Smedley P eds. *Essentials of Medical Geology*. London: Elsevier, 2005; 373-415.
- [39] FORESTA C, FLOHÉ L, GAROLLA A, ROVERI A, URSINI F, MAIORINO M. Male fertility is linked to the selenoprotein phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *Biol Reprod* 2002; **67**: 967-971.
- [40] FORSBERG L, DE FAIRE U, MARKLUND SL, ANDERSON PM, STEGMAYR B. Phenotype determination of a common Pro-Leu polymorphism in human glutathione peroxidase 1. *Blood Cells Mol Dis* 2000; **26**: 423-426.
- [41] FOSTER CB, ASWATH K, CHANOCKI SJ, MCKAY HF, PETERS U. Polymorphism analysis of six selenoprotein genes: support for a selective sweep at the glutathione peroxidase 1 locus (3p21) in Asian populations. *BMC Genet* 2006; **7**: 56.
- [42] HATFIELD DL, GLADYSHEV VN. How selenium has altered our understanding of the genetic code. *Mol Cell Biol* 2002; **22**: 3565-3576.
- [43] HESKETH J. Nutrigenomics and selenium: gene expression patterns, physiological targets, and genetics. *Annu Rev Nutr* 2008; **28**: 157-177.

- [44] HOOVEN LA, BUTLER J, REAM LW, WHANGER PD. Microarray analysis of selenium-depleted and selenium-supplemented mice. *Biol Trace Elem Res* 2006; **109**: 173-179.
- [45] HU YJ, DIAMOND AM. Role of glutathione peroxidase 1 in breast cancer: loss of heterozygosity and allelic differences in the response to selenium. *Cancer Res* 2003; **63**: 3347-3351.
- [46] HU YJ, KOROTKOV KV, MEHTA R, HATFIELD DL, ROTIMI CN, LUKE A, PREWITT ET, COOPER RS, STOCK W, VOKES EE, DOLAN EM, GLADYSHEV VN, DIAMOND AM. Distribution and functional consequences of nucleotide polymorphism in the 3'-untranslated region of the human Sep15 gene. *Cancer Res* 2001; **61**: 2307-2310.
- [47] HURST R, ARMAH CN, DAINTY JR, HART DJ, TEUCHER B, GOLDSON AJ, BROADLEY MR, MOTLEY AK, FAIRWEATHER-TAIT SJ. Establishing optimal selenium status: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2010; **91**: 923-931.
- [48] ICHIMURA Y, HABUCHI T, TSUCHIYA N, WANG L, OYAMA C, SATO K, NISHIYAMA H, OGAWA O, KATO T. Increased risk of bladder cancer associated with a glutathione peroxidase 1 codon 198 variant. *J Urol* 2004; **172**: 728-732.
- [49] JABLONSKA E, GROMADZINSKA J, RESZKE E, WASOWICZ W, SOBALA W, SZESZENIA-DABROWSKA N, BOFFETTA P. Association between GPx1 Pro198Leu polymorphism, GPx1 activity and plasma selenium concentration in humans. *Eur J Nutr* 2009; **48**: 383-386.
- [50] JOSHI N, JOHNSON LL, WEI WQ, ABNET CC, DONG ZW, TAYLOR PR, LIMBURG PJ, DAWSEY SM, HAWK ET, QIAO YL, KIRSCH IR. Selenomethionine treatment does not alter gene expression in normal squamous esophageal mucosa in a high-risk Chinese population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; **15**: 1046-47.
- [51] KIELISZEK M, BŁĄZEJAK S. Review selenium: Significance, and outlook for supplementation. *Nutr* 2013; **29**: 713-718.
- [52] LEI XG, CHENG WH, MC CLUNG JP. Metabolic regulation and function of glutathione peroxidase-1. *Annu Rev Nutr* 2007; **27**: 41-61.
- [53] LOW SC, GRUNDRNER-CULEMANN E, HARNEY JW, BERRY MJ. SECIS-SBP2 interactions dictate selenocysteine incorporation efficiency and selenoprotein hierarchy. *EMBO J* 2000; **19**: 6882-6890.
- [54] LU J, BERNDT C, HOLMGREN A. Metabolism of selenium compounds catalysed by the mammalian selenoprotein thioredoxin reductase. *Biochim Biophys Acta* 2009; **1790**: 1513-1519.
- [55] LU J, HOLMGREN A. Selenoproteins. *J Biol Chem* 2009; **284**: 723-727.
- [56] MAIORINO M, BOSELLO V, URSINI F, FORESTA C, GAROLLA A, SCAPIN M, SZTAJER H, FLOHÉ L. Genetic variations of gpx-4 and male infertility in humans. *Biol Reprod* 2003; **68**: 1134-1141.
- [57] MEHDI J, HORNICK JL, ISTASSE L, DUFRASNE I. Selenium in the environment, metabolism and involvement in body functions. *Molecules* 2013; **18**: 3292-3311.
- [58] MÉPLAN C, CROSLEY LK, NICOL F, BECKETT GJ, HOWIE AF, HILL KE, HORGAN G, MATHERS JC, ARTHUR JR, HESKETH JE. Genetic polymorphism in the human selenoprotein P gene determine the response of selenoprotein markers to selenium supplementation in a gender-specific manner (the SELGEN study). *FASEB J* 2007; **21**: 3063-3074.
- [59] MÉPLAN C, CROSLEY LK, NICOL F, HORGAN GW, MATHERS JC, ARTHUR JR, HESKETH JE. Functional effects of a common single nucleotide polymorphism (GPX4c718t) in the glutathione peroxidase 4 gene: interaction with gender. *Am J Clin Nutr* 2008; **87**: 1019-1027.
- [60] MÉPLAN C, NICOL F, BURTLE BT, CROSLEY LK, ARTHUR JR, MATHERS JC, HESKETH JE. Relative abundance of selenoprotein P isoforms in human plasma depends on genotype, Se intake, and cancer status. *Antioxid Redox Signal* 2009; **11**: 2631-2640.
- [61] MÉPLAN C, PAGMANTIDIS V, HESKETH JE. Advances in selenoprotein expression – patterns and individual variations. In Brigelius-Flohe R and Joost HG eds. *Nutritional Genomics, Nutrients, Genes and Genetic Variation in Health and Diseases*. Weinheim: Wiley-VCH, 2006; 132-158.
- [62] MUSTAFA ME, CARLSON BA, EL-SAADANI MA, KRYUKOV GV, SUN QA, HARNEY JW, HILL KE, COMBS GF, FEIGENBAUM L, MANSUR DB, BURK RF, BERRY MJ, DIAMOND AM, LEE BJ, GLADYSHEV VN, HATFIELD DL. Selective inhibition of selenocysteine tRNA maturation and selenoprotein synthesis in trans-

- genic mice expressing isopentenyladenosine-deficient selenocysteine tRNA. *Mol Cell Biol* 2001; **21**: 3840-3852.
- [63] MÜLLER C, WINGLER K, BRIGELIUS-FLOHÉ R. 3'UTRs of glutathione peroxidases differentially affect selenium-dependent mRNA stability and selenocysteine tRNA. *Mol Cell Biol* 2003; **21**: 3840-3852.
- [64] NAUMAN A, PIEKIELKO-WITKOWSKA A, TUROWSKA O, POPLAWSKI P, MASTER A, TAŃSKI Z, LAMPKOWSKA J, WÓJCICKA A, BRÓZDA I, PUZIANOWSKA-KUŹNICKA M. Zaburzenia szlaków sygnałowych hormonu tarczycy – trijodotyroniny – w raku nerki typu jasnomórkowego. *Postępy Nauk Medycznych* 2008; **5**: 268-278.
- [65] PUZIANOWSKA-TARASIEWICZ H, KUŹMICKA L, TARASIEWICZ M. Funckje biologiczne pierwiastków i ich związków. II Selen, seleniany, związki selenoorganiczne. *Pol Merk Lek* 2009; **27**: 249-252.
- [66] RAASCHOU-NIELSEN O, SORENSEN M, HANSEN RD, FREDERIKSEN K, TJONNELEND A, OVERVAD K, VOGEL U. GPX1 Pro198Leu polymorphism, interactions with smoking and alcohol consumption, and risk for lung cancer. *Cancer Lett* 2007; **247**: 293-300.
- [67] RAN Q, LIANG H, GU M, QI W, WALTER CA, ROBERTS LJ, HERMAN B, RICHARDSON A, VAN REMMEN H. Transgenic mice overexpressing glutathione peroxidase 4 are protected against oxidative stress-induced apoptosis. *J Biol Chem* 2004; **279**: 55137-55146.
- [68] RATNASINGHE D, TANGREA JA, ANDERSEN MR, BARRETT MJ, VIRTAMO J, TAYLOR PR, ALBANES D. Glutathione peroxidase codon 198 polymorphism variant increases lung cancer risk. *Cancer Res* 2000; **60**: 6381-6383.
- [69] RAVN-HAREN G, OLSEN A, TJONNELAND A, DRAGSTED LO, NEXO BA, WALLIN H, OVERVAD K, RAASCHOU-NIELSEN O, VOGEL U. Associations between GPX1 Pro198Leu polymorphism, erythrocyte GPX activity, alcohol consumption and breast cancer risk in a prospective cohort study. *Carcinogenesis* 2006; **27**: 820-825.
- [70] RAYMAN MP. Selenium and human health. *Lancet* 2012; **379**: 1256-68.
- [71] RAYMAN MP. The argument for increasing selenium intake. *Proc Nutr Soc* 2002; **61**: 203-215.
- [72] RAYMAN MP, BODE P, REDMAN CW. Low selenium status is associated with the occurrence of the pregnancy disease preeclampsia in women from the United Kingdom. *Am J Obstet Gynecol* 2003; **189**: 1343-1349.
- [73] RAYMAN MP, INFANTE HG, SARGENT M. Food-chain selenium and human health: spotlight on speciation. *Br J Nutr* 2008; **100**: 238-253.
- [74] RENKO K, WERNER M, RENNER-MÜLLER I, COOPER TG, YEUNG CH, HOLLENBACH B, SCHARPF M, KÖHRLE J, SCHOMBURG L, SCHWEIZER U. Hepatic selenoprotein P (Sepp) expression restores selenium transport and prevents infertility and motor-incoordination in Sepp-knockout mice. *Biochem J* 2008; **409**: 741-749.
- [75] SCHOMBURG L, KÖHRLE J. On the importance of selenium and iodine metabolism for thyroid hormone biosynthesis and human health. *Mol Nutr Food Res* 2008; **52**: 1235-1246.
- [76] SHEHEDRINA VA, NOVOSELOV SV, MALINOUSKI MY, GLADYSHEV VN. Identification and characterization of a selenoprotein family containing a diselenide bond in a redox motif. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; **104**: 13919-13924.
- [77] SPECKMANN B, SIES H, STEINBRENNER H. Attenuation of hepatic expression and secretion of selenoprotein P by metformin. *Biochem Biophys Res Commun*, 2009; **387**: 158-163.
- [78] STEINBRENNER H, BILGIC E, ALILI L, SIES H, BRENNISEN P. Selenoprotein P protects endothelial cells from oxidative damage by stimulation of glutathione peroxidase expression and activity. *Free Radic Res* 2006; **40**: 936-943.
- [79] SUTHERLAND A, KIM DH, RELTON C, AHN YO, HESKETH J. Polymorphisms in the selenoprotein S and 15-kDa selenoprotein genes are associated with altered susceptibility to colorectal cancer. *Genes Nutr* 2010; **5**: 215-223.
- [80] SZOKALSKA A. Układ tioredoksyna-reduktaza tioredoksyny jako nowy cel terapii przeciwnowotworowych. *Postępy Biologii Komórki* 2008; **35**: 391-402.

- [81] TAPIERO H, TOWNSEND DM, TEW KD. The antioxidant role of selenium and seleno-compounds. *Biomed Pharmacother* 2003; **57**: 134-144.
- [82] TERRY W, DIAMOND A. Selenium. In Erdman J, Macdonald IA and Zeisel SH eds. *Present Knowledge in Nutrition*. Washington DC: Wiley-Blackwell and ILSI Press, 2012; 568-585.
- [83] TOULIS KA, ANASTASILAKIS AD, TZELLOS TG, GOULIS DG, KOUVELAS D. Selenium supplementation in the treatment of Hashimoto's thyroiditis: a systematic review and a meta-analysis. *Thyroid* 2010; **20**: 1163-73.
- [84] UDLER M, MAIA AT, CEBRIAN A, BROWN C, GREENBERG D, SHAH M, CALDAS C, DUNNING A, EASTON D, PONDER B, PHAROAH P. Common germline genetic variation in antioxidant defense genes and survival after diagnosis of breast cancer. *J Clin Oncol* 2007; **25**: 3015-3023.
- [85] VILLETTE S, KYLE JA, BROWN KM, PICKARD K, MILNE JS, NICOL F, ARTHUR JR, HESKETH JE. A novel single nucleotide polymorphism in the 3' untranslated region of human glutathione peroxidase 4 influences lipooxygenase metabolism. *Blood Cells Mol Dis* 2002; **29**: 174-178.
- [86] VOETSCH B, JIN RC, BIERL C, BENKE KS, KENET G, SIMINI P, OTTAVIANO F, DAMASCENO BP, ANNICHINO-BIZACCHI JM, HANDY DE, LOSCALZO J. Promoter polymorphism in the plasma glutathione peroxidase (GPx-3) gene: a novel risk factor for arterial ischemic stroke among young adults and children. *Stroke* 2007; **38**: 41-49.
- [87] WESTPHAL K, STANGL V, FAHLING M, DREGER H, WELLER A, BAUMANN G, STANGL K, MEINERS S. Human-specific induction of glutathione peroxidase-3 by proteasome inhibition in cardiovascular cells. *Free Radic Biol Med* 2009; **47**: 1652-1660.
- [88] WHANGER PD. Selenocompounds in Plants and Animals and their Biological Significance. *J Am Coll Nutr* 2002; **21**: 223-232.
- [89] XU XM, CARLSON BA, IRONS R, MIX H, ZHONG N, GLADYSHEV VN, HATFIELD DL. Selenophosphate synthetase 2 is essential for selenoprotein biosynthesis. *Biochem J* 2007; **404**: 115-120.
- [90] XU XM, CARLSON BA, MIX H, ZHANG Y, SAIRA K, GLASS RS, BERRY MJ, GLADYSHEV VN, HATFIELD DL. Biosynthesis of selenocysteine on its tRNA in eukaryotes. *PLoS Biol* 2006; **5**: e4.
- [91] ZHAO H, WHITFIELD ML, XU T, BOTSTEIN D, BROOKS JD. Diverse effects of methylseleninic acid on the transcriptional program of human prostate cancer cells. *Mol Biol Cell* 2004; **15**: 506-519.
- [92] ZWOLAK I, ZAPOROWSKA H. The role of selenium and some Se-proteins in human organism. *Ann Univ Mariae Curie-Sklodowska Lublin-Polonia* 2005; **60**: 457-460.

Redaktor prowadzący – Bożena Kamińska-Kaczmarek

Otrzymano: 12.08.14

Przyjęto: 15.10.14

Iza Książek

Narodowy Instytut Leków, Zakład Biochemii i Biofarmaceutyków

ul. Chełmska 30/34, 00-725 Warszawa,

tel.: +48 22 841 21 65x322

e-mail: i.ksiazek@nil.gov.pl