

Halina M. Żbikowska

SELEN W ORGANIZMACH ŻYWYCH I. TOKSYCZNOŚĆ SELENU I DZIAŁANIE ANTYNOWOTWOROWE

Selen jest pierwiastkiem śladowym dostarczany do organizmu w stosunkowo ograniczonej ilości. W pracy przedstawiono metabolizm organicznych i nieorganicznych związków selenu oraz ich znaczenie zarówno w działaniu toksycznym selenu, jak i antynowotworowym.

WSTĘP

Selen (Se) jest niemetalem należącym do IV grupy głównego układu okresowego i pod względem właściwości chemicznych wykazuje bliskie pokrewieństwo z siarką. Pogląd o wyłącznie toksycznym wpływie selenu na organizmy żywe utrzymywał się aż do roku 1957, kiedy to Schwartz i Foltz po raz pierwszy zwrócili uwagę na jego niezbędną rolę w żywieniu [43]. Od tego czasu selen jest zaliczany do pierwiastków śladowych o istotnym znaczeniu zarówno dla zwierząt, jak i człowieka. Fizjologiczną rolę selenu ustalono wraz z odkryciem, że jest on integralnym składnikiem peroksydazy glutationowej [15, 38]. Od tej pory wiedza na temat znaczenia tego pierwiastka w biologicznych układach znacznie się poszerzyła. Poznano szereg selenobiałek oraz częściowo ich funkcję. Selen pełni rolę komórkowego antyoksydanta [10], wykazuje działanie ochronne przed toksycznością metali ciężkich [49, 2], m. in. cisplatyny [4], a także posiada właściwości antynowotworowe [48, 20, 19, 28, 44] i antymutagenne [42]. Zwraca się uwagę na korzystne działanie selenu w schorzeniach artretycznych [1] i chorobach układu krążenia [29, 25, 9]. Selen wzmacnia też funkcjonowanie układu odpornościowego [23, 46], działa przeciwwirusowo [54] i łagodzi przebieg choroby u pacjentów zarażonych wirusem HIV [40].

Selen, podobnie jak i inne pierwiastki śladowe, w wysokich dawkach jest bardzo toksyczny zarówno dla zwierząt, jak i człowieka. Hamuje proliferację komórek, replikację DNA i syntezę białek [34, 44, 30], ponadto

może być też czynnikiem mutagennym [3, 27]. Nadmiar selenu (seleninu) może również prowadzić do stresu oksydacyjnego i wzmożenia peroksydacji lipidów [14]. Nadmierne dawki selenu powodują tworzenie kompleksów z metalami, szczególnie z cynkiem, które odkładane w niektórych komórkach w mózgu i przednim płacie przysadki mogą prowadzić do dysfunkcji tych organów [18]. Obecność takich precypitatów wykazano histochemicznie [18].

Badania epidemiologiczne prowadzone w krajach skandynawskich wskazują na istotną rolę określonej podaży selenu na stan zdrowia populacji. Ustalona niezbędna dawka selenu wynosi 70 μg /dzień dla mężczyzn i 55 μg /dzień dla kobiet [35]. Taka ilość jest konieczna do uzupełnienia ilości selenu wydalanego dziennie przez zdrowy organizm w normalnych warunkach życia. Fizjologiczne wymagania nie odzwierciedlają jednak rzeczywistego zapotrzebowania podczas patogenicznego i stresowego działania czynników środowiska. Sprawę dodatkowo komplikuje nierównomierne rozmieszczenie selenu na kuli ziemskiej, toteż jego pobieranie i poziom we krwi różni się w różnych populacjach ludzi nawet o dwa rzędy wielkości [52].

Działanie selenu na organizm jest uzależnione nie tylko od jego ilości, ale również od formy, w jakiej jest dostarczany [30]. Doniesienia na temat toksyczności różnych chemicznych form selenu są kontrowersyjne. Początkowe badania sugerowały, że naturalnie występujące w roślinach formy selenu są bardziej toksyczne niż jego nieorganiczne związki – selenin i selenian [36]. Późniejsze dane z kolei podają, że selenometionina jest mniej toksyczna niż formy nieorganiczne [33]. Celem niniejszej publikacji jest przedstawienie współczesnych poglądów na temat molekularnych mechanizmów toksyczności różnych związków selenu i ich działania antynowotworowego.

TOKSYCZNOŚĆ SELENU U ZWIERZĄT I LUDZI

Ostre zatrucie selenem u zwierząt domowych zdarza się na niektórych obszarach (południowa Dakota i stan Wyoming w USA, zachodnia Kanada, Australia, Irlandia, Izrael) charakteryzujących się bardzo wysokim stężeniem tego pierwiastka w glebie. Przyczyną zatrucia jest spożycie rosnących tam traw i roślin zielonych, które zawierają toksyczne dla zwierząt ilości selenu. Istnieją rośliny, tzw. akumulatory selenu, które mają zdolność gromadzenia tego pierwiastka w wyjątkowo dużych ilościach (100–200 razy więcej niż inne rośliny rosnące na tym samym obszarze). Należą do nich pewne gatunki z rodzaju: *Astragalus* (wyka), *Stanleya*, *Haplopappus*, *Xylorrhiza* oraz *Oenopsis* [47, 17].

Ostre zatrucia selenem objawiają się nagłą dusznością, częstoskurczem, biegunką, krańcowym wyczerpaniem, a nawet śmiercią [47]. Chronicznej

selenozie poddawane są zwierzęta laboratoryjne. Zdarzają się też przypadki błędnego dawkowania selenu przy wzbogacaniu pasz w ten pierwiastek. Typowym objawem zatrucia jest *alkali and blind staggers diseases*. Zwierzęta tracą sierść, obserwuje się deformacje i gubienie racic oraz zmiany w głównych narządach wewnętrznych.

Zatrucie selenem u ludzi zdarza się raczej rzadko. Objawy ostrej selenozy są podobne do zatrucia obserwowanego u zwierząt. W Chinach w latach 1961–1964 doszło do ostrego zatrucia i śmierci ponad stu osób z powodu bardzo wysokiej zawartości selenu w glebie. Dzielne spożycie selenu na tym obszarze dochodziło do 5 mg [53]. W niektórych gałęziach przemysłu, np. elektronicznym, fotograficznym, przy produkcji kolorowego szkła pracownicy są zawodowo narażeni na działanie związków selenu [13]. Również rozprzestrzeniająca się w ostatnim dziesięcioleciu moda na wzbogacanie żywności w selen, szczególnie na terenach o niskiej jego zawartości oraz profilaktyczne i lecznicze podawanie selenu, stwarzają niebezpieczeństwo przedawkowania. Czosnek, podobnie jak cebula są warzywami kumulującymi duże ilości selenu. Ich spożycie gwarantuje dostarczenie organizmowi selenu w przyswajalnej i bezpiecznej formie. Biorąc pod uwagę niewielki margines bezpieczeństwa pomiędzy niedoborem a toksycznością, należy zwrócić szczególną uwagę na formę i ilość dostarczanego do organizmu selenu. Maksymalne, jeszcze bezpieczne stężenie selenu u zwierząt jest zaledwie 20–30 razy wyższe od minimalnego zapotrzebowania na ten pierwiastek [17].

Wrażliwość poszczególnych organizmów na toksyczne działanie selenu znacznie się różni. Działanie tego pierwiastka zależy też od ilości podawanego selenu oraz jego formy [5]. Chemiczna forma spożywanego selenu wpływa nie tylko na jego poziom we krwi i innych tkankach, ale również na sposób wiązania z białkami tkanek. Po podaniu szczurom seleninu, dominującą formą Se w tkankach była selenocysteina, natomiast podanie selenometioniny powodowało, że ok. 70% selenu w mięśniach, a ok. 30% w wątrobie występowało w formie selenometioniny [8]. Zarówno podanie doustne selenu w postaci seleninu, jak i dożylne prowadziło do tych samych szlaków metabolicznych selenu [6]. Kontynuując badania dotyczące włączania różnych form selenu do białek Behne i wsp. [7] wykazali, że po podaniu przeciętnej dawki selenu cały pierwiastek był obecny w specyficznych selenobiałkach, a chemiczna forma spożywanego selenu nie miała wpływu na ten proces. Przy dawce 10-krotnie wyższej oprócz specyficznych selenobiałek obserwowano również zjawisko niespecyficznego włączania selenu do innych białek. W przypadku podawania selenometioniny pewna jej część była bezpośrednio wbudowana do białek w sposób niespecyficzny w miejscu metioniny [7].

MOLEKULARNY MECHANIZM TOKSYCZNOŚCI SELENU

Selen podawany w dużych stężeniach może być jednym z najbardziej toksycznych pierwiastków. Toksyczność selenu od lat budzi kontrowersje. Przyczyny toksyczności jak i mechanizm toksycznego działania związków selenu na komórkę czy organizm nie są do końca poznane.

Już w latach czterdziestych zwrócono uwagę na interakcję seleninu z tiolami [37]. Reakcje te zachodzące spontanicznie według równania:

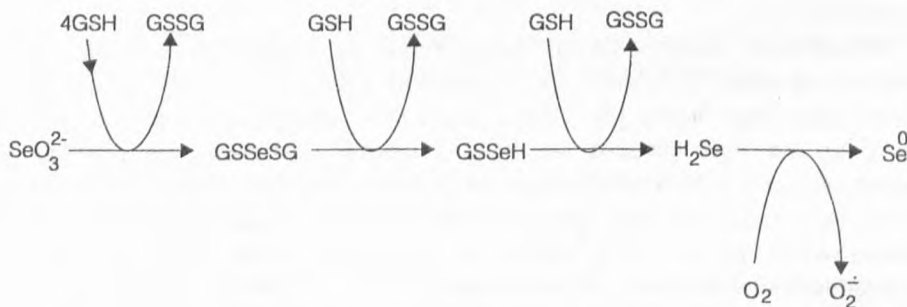


były badane przez Ganthera [16], który toksyczność selenu przypisywał reakcji z grupami $-\text{SH}$ białek i tworzeniu selenotrisulfidów ($\text{RS}-\text{Se}-\text{SR}$) analogicznie do selenodiglutationu ($\text{GS}-\text{Se}-\text{SG}$).

Dużym postępem w wyjaśnieniu mechanizmu toksyczności selenu było odkrycie Seko i wsp. (1989), że reakcji seleninu z GSH towarzyszy tworzenie rodnika ponadtlenkowego [41] (schemat 1).

Schemat 1

Tworzenie rodnika ponadtlenkowego w reakcji GSH z seleninem



Dalsze badania wykazały, że nie tylko glutation, ale również inne tiole (merkaptotetanol, L-cysteina) reagują z seleninem. W reakcję ze zredukowanym glutationem, której towarzyszy generowanie rodnika ponadtlenkowego, wchodzi również dwutlenek selenu, selenocystyna, selenocystamina, podczas gdy selenian i selenometionina nie reagują z GSH [50]. Najczęściej badane nieorganiczne związki selenu zestawione są w tab. 1.

Chociaż dane dotyczące toksyczności poszczególnych selenozwiązków nie są jednoznaczne, to jednak znaczenie interakcji z tiolami i tworzenie rodników w mechanizmie toksyczności selenu są niezaprzeczalne [51, 45]. Za toksyczność selenu mogą być odpowiedzialne związki pośrednie, jakie

Tabela 1

Powszechnie występujące nieorganiczne związki selenu

SeO ₂	<i>selenium dioxide</i>	dwutlenek selenu
Na ₂ SeO ₃	<i>sodium selenite</i>	selenin sodowy
Na ₂ SeO ₄	<i>sodium selenate</i>	selenian sodowy
Na ₂ Se	<i>sodium selenide</i>	selenek sodowy
(CH ₃) ₂ Se	<i>dimethylselenide</i>	dimetyloselenek
(CH ₃) ₃ Se	<i>trimethylselenide</i>	trimetyloselenek

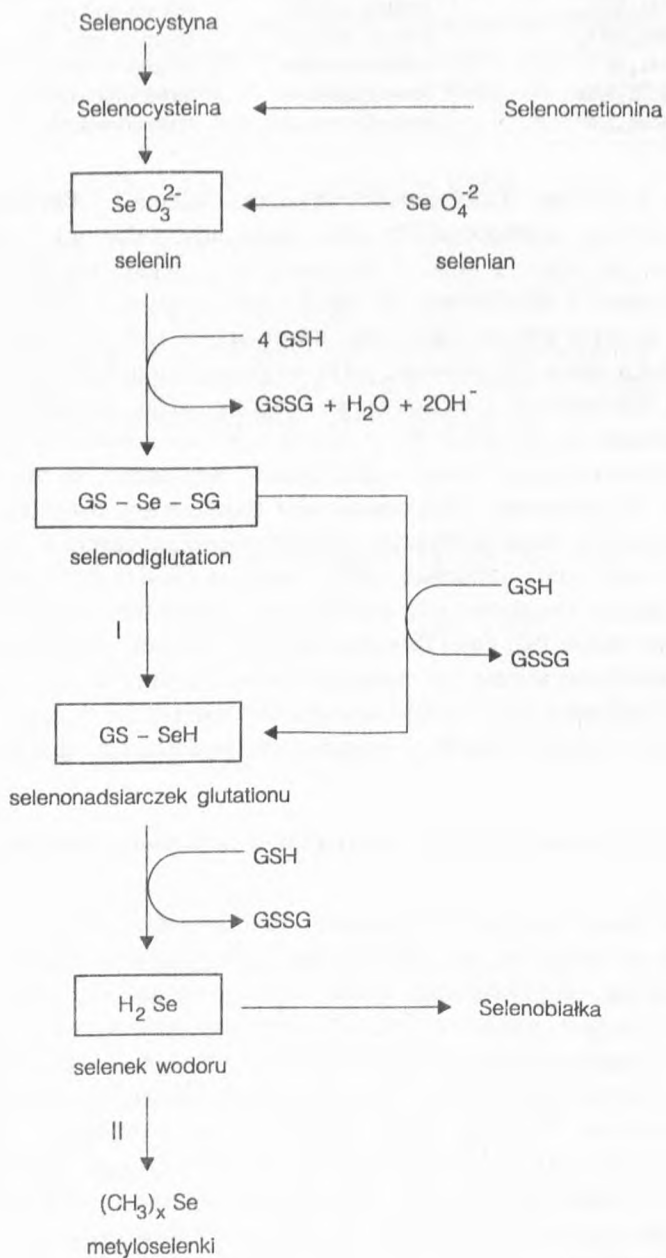
powstają w komórce. Toksyczność wykazują selenin i dwutlenek selenu, tworzące z tiolami selenotrisulfidy oraz diselenidy, takie jak: selenocystyna i selenocystamina, które z kolei w obecności tioli ulegają redukcji do selenoli (RSeH). Selenian i selenoetery (R–Se–R) nie reagują z GSH, nie tworzą rodników i *in vitro* nie są toksyczne, natomiast *in vivo* ich toksyczność jest prawie lub taka sama jak seleninu, gdyż najprawdopodobniej są redukowane do seleninu lub selenoli i wchodzi we wspólny szlak metabolizmu selenu. Selen po dostaniu się do komórki w formie seleninu wchodzi w połączenie ze związkami zawierającymi grupy –SH, przede wszystkim ze zredukowanym glutationem. W obecności GSH selenin jest redukowany do selenodiglutationu, który następnie ulega przekształceniu do selenonadsiarczku, bądź nieenzymatycznie w obecności nadmiaru GSH, bądź na drodze enzymatycznej przy udziale reduktazy glutationowej. Końcowym produktem reakcji jest selenek wodoru, który może być dalej metylowany przy udziale metylotransferazy do nietoksycznych form selenu lub transportowany do tkanek i włączany w selenoproteiny [4] (schemat 2). Dimetyloselenek jest związkiem lotnym usuwanym z organizmów ssaków. Trimetyloselenek jest wydalany z moczem.

CYTOTOKSYCZNOŚĆ I DZIAŁANIE ANTYNOWOTWOROWE

Badania epidemiologiczne wykazały, że częstość występowania szeregu nowotworów u ludzi, m. in.: raka sutka, jelita, odbytu, prostaty czy płuc jest uzależniona od niedoboru selenu spożywanego w diecie oraz jego obniżonego stężenia we krwi [39, 12]. Selen w różnych formach hamuje także wzrost komórek nowotworowych indukowanych bądź transplantowanych zarówno *in vitro*, jak i *in vivo* [21, 22]. Cytotoksyczność związków selenu jest zróżnicowana. Badając wpływ różnych związków selenu na komórki nowotworowe Milner [32] uszeregował je w następującej kolejności – od najbardziej do najmniej skutecznie działającego związku: selenodiglutation > selenin > selenocystyna > selenian > selenek > dimetyloselenek > selenometionina. Jakkolwiek nie wszyscy badacze potwierdzają dokładnie taką kolej-

Schemat 2

Metabolizm nieorganicznych i organicznych związków selenu wg [4] i [45] zmodyfikowany.
I-reduktaza glutationowa, II-metylotransferazy



ność [44], potwierdza się jednak pewna prawidłowość. Najbardziej cytotoksyczne są związki selenu o dużej aktywności katalitycznej [45].

Wrażliwość poszczególnych komórek nowotworowych na toksyczne działanie związków selenu również nie jest jednakowa, co może być wynikiem różnej ich zdolności do detoksykacji selenu zachodzącej przy udziale zredukowanego glutationu [28].

Chociaż dokładny mechanizm cytotoksyczności selenu nie jest znany, przypuszczalnie kluczową rolę w tym procesie odgrywa interakcja związków selenu z GSH. Glutation wzmacnia cytotoksyczne działanie seleninu [28, 11]. Tworzenie metabolitów pośrednich z glutationem, przede wszystkim selenodiglutationu i selenonadsiarczku, może być bezpośrednio odpowiedzialne za antynowotworowe działanie selenu [44]. Selenodiglutation (GS-Se-SG) jest biologicznie najbardziej aktywny. Udowodniono jego cytostatyczną aktywność w stosunku do komórek nowotworowych różnych typów [26].

Za cytotoksyczne właściwości związków selenu mogą być również odpowiedzialne aktywne formy tlenu (rodnik ponadtlenkowy, hydroksylowy oraz H_2O_2), tworzące się na skutek ich interakcji ze zredukowanym glutationem [24, 51].

Większość danych dotyczących próby wyjaśnienia mechanizmu antynowotworowej aktywności selenu pochodzi z badań hodowli komórkowych. Zaobserwowano, że selen w stężeniu 2–5 μM hamuje syntezę makrocząsteczek i wzrost komórek [33]. Ciekawą hipotezę postawił Lu i wsp. (1993) badając wpływ seleninu na integralność DNA oraz proliferację komórek leukemicznych myszy L1210 [30]. Traktowanie komórek seleninem powodowało pęknięcia w jednej z nici DNA oraz aktywację endonukleaz, co w konsekwencji prowadziło do pęknięć w obu niciach, fragmentacji DNA i śmierci komórki przez apoptozę. Tak więc indukowana selenem apoptoza może leżeć u podstaw jego aktywności antynowotworowej [30].

Przytoczone tu hipotezy wzajemnie się nie wykluczają, a raczej sugerują, że działanie związków selenu na komórki nowotworowe jest procesem złożonym. Możliwość zastosowania selenu w leczeniu nowotworów budzi nadzieje, ale też wymaga dokładniejszego poznania mechanizmu jego działania na organizm człowieka.

LITERATURA

- [1] Aaseth J., Thomassen Y., Alexander J., Munthe E. (1981), [w:] *Selenium in Biology and Medicine*, eds J. E. Spallholz, J. E. Martin, H. E. Ganther, AVI Publ., Westport. C.T., 418–421.
- [2] Babich H., Devanas M. A., Stotzky G. (1985), *Environ. Res.*, **37**, 253–286.
- [3] Balansky R. M. (1991), *Mutation Res.*, **263**, 231–236.

- [4] Baldew G. K., Mal J. G. J., Kanter F. J. J., Von Baar B., De Goeij J. H. (1991), *Biochem. Pharmacol.*, **30**, 439-443.
- [5] Batist G., Kathi A. G., Klecher R. W. Jr., Mayers C. E. (1986), *Cancer Res.*, **46**, 5482-5485.
- [6] Behne D., Hilmert H., Scheid S., Gessner H., Elger W. (1988), *Biochim. Biophys. Acta*, **966**, 12-21.
- [7] Behne D., Kyriakopoulos A., Scheid S., Gessner H. (1991), *J. Nutr.*, **121**, 806-814.
- [8] Belstein M. A., Whanger P. D. (1988), *J. Inorg. Biochem.*, **33**, 31-46.
- [9] Bukkens S. G., de Vos N., Kok F. J., Schouten E. G., de Bruijn A. M., Hofman A. (1990), *J. Am. Coll. Nutr.*, **9**, 128.
- [10] Burk R. F. (1983), *Annu. Rev. Nutr.*, **3**, 53-70.
- [11] Caffrey P. B., Frenkel G. D. (1992), *Cancer Res.*, **52**, 4812-4816.
- [12] Clark L. C., Cantor K. P., Allaway W. H. (1991), *Arch. Environ. Health*, **46**, 37-42.
- [13] Danielsson B. R. G., Danielsson M., Khayat A., Wide M. (1990), *Toxicology*, **63**, 123-136.
- [14] Dougherty J. J., Hoekstra W. G. (1982), *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **169**, 209-215.
- [15] Flohe L., Gunzler W. A., Schock H. H. (1973), *FEBS Lett.*, **32**, 13210.
- [16] Ganther H. E. (1968), *Biochemistry*, **7**, 2898-2905.
- [17] Giessen-Nielsen G., Gupta U. C. (1984), *Advances in Agronomy*, **37**, 397-460.
- [18] Gronbaek H., Thorlacius-Using O. (1990), *Virchows Archiv. B Cell Pathol.*, **59**, 291-296.
- [19] Hockman G. (1988), *Int. J. Biochem.*, **20**, 123-132.
- [20] Ip C. (1986), *J. Am. Coll. Toxicol.*, **5**, 7-2020.
- [21] Ip C. (1986), *J. Am. Coll. Toxicol.*, **5**, 7-21-27.
- [22] Ip C., Ganther H. E. (1990), *Cancer Res.*, **50**, 1206-1211.
- [23] Kiremidjian-Schumacher L., Stotzky G. (1987), *Environm. Res.*, **42**, 277-303.
- [24] Kitahara J., Seko Y., Imura N. (1993), *Arch. Toxicol.*, **67**, 497-501.
- [25] Korpela H., Kumpulainen J., Jussila E., Kemila S., Kaariainen M., Kariainen T., Sotaniemi E. A. (1989), *Res. Comm. Chem. Pathol. Pharm.*, **65**, 249-252.
- [26] Kralich F. A., Parrish W. B., Willett D. N. (1989), United States Patent, Patent No 5, **104**, 852.
- [27] Kramer G., Ames B. (1988), *Mutation Res.*, **201**, 169-180.
- [28] Kuchan M. J., Milner J. A. (1992), *Cancer Res.*, **52**, 1091-1095.
- [29] Levander O. A. (1982), [w:] *Biochemical and Nutritional Aspects of Trace Elements*, ed. R. Alan, Liss., Inc., New York, 345.
- [30] Lu J., Kaack M., Jiang Ch., Wilson A. C., Thompson H. J. (1994), *Biochem. Pharmacol.*, **47**, 1531-1535.
- [31] McAdam P. A., Levander O. A. (1987), *Nutr. Res.*, **7**, 601-610.
- [32] Milner J. A. (1985), *Fed. Proceed.*, **44**, 2568-2572.
- [33] Morrison D. G., Berdan R. C., Pauly D. F., Turner D. S., Obosh C. J., Medina D. (1988), *Anticancer Res.*, **8**, 51-63.
- [34] Nano J. J., Czerucka D., Menguy F., Rampal P. (1989), *Biol. Trace Elem. Res.*, **20**, 31-43.
- [35] NCR (National Research Council) *Recommended daily allowances*, 10th edn., National Academy Press, Washington DC, 1989.
- [36] Olson O. E. (1986), *J. Am. Coll. Toxicol.*, **5**, 45-70.
- [37] Painter E. P. (1941), *Chem. Reviews*, **28**, 179-213.

- [38] Rotruck J. T., Pope A. L., Ganther H. E., Swanson A. B., Hafeman D. G., Hoekstra W. G. (1973), *Science*, **179**, 588–590.
- [39] Schrauzer G. N. (1976), *Bioinorg. Chem.*, **5**, 275–281.
- [40] Schrauzer G. N., Sacher J. (1994), *Chem.-Biol. Interact.*, **91**, 199–205.
- [41] Seko Y., Saito Y., Kitahara J., Imura N. (1989), [w:] *Selenium in Biology and Medicine*, ed. A. Wendel, Springer, Berlin–Heidelberg–New York, 70–73.
- [42] Shamberger R. (1985), *Mutation Res.*, **154**, 29–48.
- [43] Schwartz K., Foltz C. M. (1957), *J. Amer. Chem. Soc.*, **79**, 3292.
- [44] Siwek B., Bahbouth E., Serra M. A., Sabbioni E., de Pauw-Gillet M. C., Bassler R. (1994), *Arch. Toxicol.*, **68**, 246–254.
- [45] Spallholz J. E. (1994), *Free Rad. Biol. Med.*, **17**, 45–64.
- [46] Turner R. J., Finch J. M. (1991), *Proc. Nutr. Soc.*, **50**, 275–285.
- [47] Van Vleet J. F., Ferrans V. J. (1986), [w:] *Nutritional Diseases: Research Directions in Comparative Pathobiology*, Alan R. Liss, Inc., 359–396.
- [48] Verni L. N. (1984), *Biochem. Biophys. Acta*, **738**, 203–217.
- [49] Whanger P. D. (1981), [w:] *Selenium in Biology and Medicine*, eds J. E. Spallholz, J. L. Martin, H. E. Ganther, AVI Publ., Westport, C. T., 230–255.
- [50] Yan L., Spallholz J. E. (1991), *FASEB J.*, **5**, 581.
- [51] Yan L., Spallholz J. E. (1993), *Biochem. Pharmacol.*, **45**, 429–437.
- [52] Yang G. Q., Qian P. C., Zhu L. Z. (1987), [w:] *Selenium in Biology and Medicine*, eds G. F. Combs, J. E. Levander, O. A. Spallholz, J. E. Oldfield, Part B, Avi Book, Van Nostrand-Reinhold Company, New York, 589–607.
- [53] Yang G., Wang S., Zhou R., Sun S. (1983), *Am. J. Clin. Nutr.*, **37**, 872–881.
- [54] Yu S., Li W. G., Zhu Y. J., Yu W. P., Hou C. (1989), *Biol. Trace Elem. Res.*, **20**, 15–22.

Wpłynęło do Redakcji Folia
28.06.1995 r.

Katedra Biochemii Ogólnej
Uniwersytet Łódzki

Halina M. Żbikowska

THE ROLE OF SELENIUM IN ORGANISMS

I. TOXICITY OF SELENIUM AND CARCINOSTATIC ACTIVITY

Selenium is an essential trace element supplied to the organism in a relatively narrow range of concentration. Metabolism of inorganic and organic selenium compounds in animals, their role in selenium toxicity and selenium carcinostatic activity are presented.