



BIULETYN
Wydziału Farmaceutycznego
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Biul. Wydz. Farm. WUM, 2016, 3, 17-24
<http://biuletynfarmacji.wum.edu.pl/>

SELENOTRIGLICERYDY NADZIEJĄ W ZWALCZANIU NOWOTWORÓW

Anna Flis-Borsuk^{1*}, Lidia Śliwka¹, Zofia Suchocka², Jakub Borsuk¹, Zbigniew Fijałek¹,
Katarzyna Lubelska³, Piotr Suchocki¹

¹Zakład Bioanalizy i Analizy Leków ²Katedra Biochemii i Chemii Klinicznej
Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej
Warszawski Uniwersytet Medyczny, Banacha 1, 02-097 Warszawa

³Zakład Biologii Komórki, Narodowy Instytut Leków, Chelmska 30/34, 00-725 Warszawa

* autorka korespondująca, tel: +48 22 572 0949, e-mail: anna.flis@wum.edu.pl

Otrzymano 19.04.2016, zaakceptowany 2.05.2016, zamieszczony 29.05.2016

STRESZCZENIE

Selol jest mieszaniną seleninotriglicerydów, stanowiących unikalne związki zawierające selen na +4 stopniu utlenienia. Wyniki dotychczasowych badań *in vitro* i *in vivo* przedstawiają przemiany i zależności, kluczowe dla poznania mechanizmu działania Selolu w zdrowiu i chorobie. Po podaniu, początkowo Selol działa prooksydacyjnie i przeciwnowotworowo, natomiast w drugiej fazie ujawnia silne właściwości antyoksydacyjne i naprawcze. Selol stanowi obiecujący środek farmakologiczny o przeciwutleniających, przeciwzapalnych, neuroprotektoryjnych i antymutagennych właściwościach. Obecnie prowadzone są badania przedkliniczne, znajdujące się w końcowej fazie, a także niekomercyjne pilotowe badania kliniczne, przy szczególnym uwzględnieniu wyżej opisanej specyfiki aktywności. Niniejsza praca podsumowuje aktualny stan wiedzy o biochemicznych i molekularnych właściwościach Selolu i przewidywanych przyszłych kierunkach rozwoju w tej dziedzinie badań.

SŁOWA KLUCZOWE: seleninotriglicerydy, selen, potencjał oksydoredukcyjny, antyoksydant, prooksydant

ABSTRACT

SELENITRIGLYCERIDES AND THEIR PROMISE IN CANCER TREATMENT

Selol is a mixture of selenitriglycerides, which are unique selenium compounds at the +4 oxidation state. *In vitro* and *in vivo* studies have shed light on mechanisms essential for the understanding of the biomedical actions of Selol in health and disease. Following administration, Selol has an initial strong pro-oxidative and antineoplastic effect, while in the second phase it exhibits antioxidant and repair properties. Selol is a promising pharmacological agent with antioxidant, anti-inflammatory, neuroprotective and anti-mutagenic properties. Preclinical studies of Selol are currently nearing completion. Non-commercial clinical pilot studies are in progress, and are based on the biological activity profile of Selol. This review summarizes the current knowledge of the biochemical and molecular properties of Selol and outlines future directions in this area of research.

KEYWORDS: selenitriglycerides, selenium, redox potential, antioxidant, prooxidant

Wprowadzenie

Selen jest niezbędnym pierwiastkiem o fundamentalnym znaczeniu dla organizmu ludzkiego [1,2]. Badania nad selenem rozwijają się w szybkim tempie, wyjaśniając jego liczne funkcje w zdrowiu i w profilaktyce raka [3]. Selen został odkryty przez szwedzkiego chemika i naukowca J. J. Berzeliusa w 1817 roku i przez długi czas był uznawany za pierwiastek toksyczny. T. C. Madison, chirurg wojskowy stacjonujący w 1856 roku w Fort Randall w północnej Nebrasce (USA), zaobserwował zaburzenia u zwierząt gospodarskich wywołane przez rośliny, które w nadmiarze magazynowały selen z gleby [4]. Dopiero w XX wieku znaczenie selenu zostało docenione. W 1957 roku K. Schartz i C. M. Foltz zauważyli, że zapobiega on martwicy wątroby u szczurów [5]. Wówczas stało się oczywiste, że selen w wysokich stężeniach jest toksyczny, natomiast w mniejszych dawkach stanowi ważny składnik diety. Branża hodowlana bardzo szybko powiązała niedobór selenu z licznymi zabu-

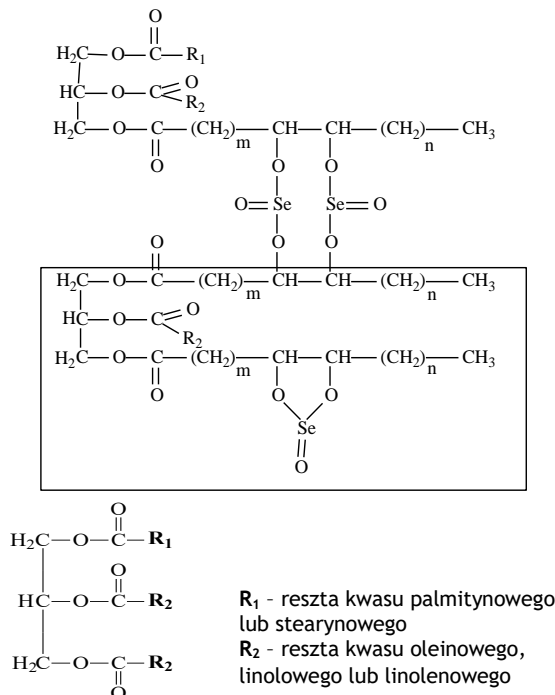
zrzeniami zdrowia u zwierząt, w tym z chorobą białych mięśni, miopatią cieląt, zwyrodnieniem trzustki i skazą wysiękową u ptaków, a także zmniejszeniem męskiej płodności u owiec i bydła. Na wiejskich obszarach centralnych Chin niski poziom selenu w populacji ludzkiej był związany z występowaniem choroby Keshan i kardiomiopatią [6]. Przełomowy okazał się moment odkrycia, że selen wchodzi w skład centrum aktywnego enzymów, tj. peroksydazy glutationowej, reduktazy tioredoksyny i dejodynazy jodotyroninowej [7]. Enzymy te odgrywają ważną rolę antyoksydacyjną w funkcji rozrodczej, przy pracy mięśni oraz w przeciwdziałaniu zmianom w chorobach nowotworowych.

Obecnie selen uznawany jest za niezbędny mikroelement o fundamentalnym znaczeniu dla zdrowia ludzkiego. Korzyści płynące dla zdrowia to zmniejszenie częstości występowania nowotworów [8], ochrona przed chorobami sercowo-naczyniowymi [9], leczenie konkretnych schorzeń mięśni [10], opóźnienie pojawienia się AIDS u pacjentów

zakażonych wirusem HIV [11,12]. Ponadto selen pobudza funkcjonowanie układu odpornościowego i działa przeciw-wirusowo [13].

W środowisku naturalnym selen występuje w formie organicznej i nieorganicznej. Organiczne związki selenu charakteryzują się lepszą biodostępnością i niższą toksycznością w porównaniu do nieorganicznych [14]. Do organicznych związków selenu możemy zaliczyć selenocysteinę i selenometioninę, a do związków nieorganicznych seleniany (+4 i +6). Selen w związkach występuje zazwyczaj na trzech różnych stopniach utlenienia (-2, +4, +6), przy czym związki selenu na +4 stopniu utlenienia cechuje najlepsze powinowactwo do tkanek. Związki selenu +4 charakteryzuje możliwość efektywnego wbudowania tego pierwiastka do centrum aktywnego selenoenzymów oraz tworzenie kompleksów z białkami [7].

Przykładem związku zawierającego selen na +4 stopniu utlenienia jest Selol. Stanowi on nową grupę półsyntetycznych związków - seleninotriglicerydów, będących połączeniem triglicerydów z selenem, uzyskanych poprzez chemiczną modyfikację oleju słonecznikowego za pomocą kwasu selenowego(IV) [15]. Głównymi etapami syntezy Selolu są procesy utleniania triglicerydów do ich hydroksylo-wych pochodnych i estryfikacji kwasem selenowym(IV). Struktura Selolu ustalona została techniką ^1H - i ^{13}C -NMR (Ryc. 1) [16]. Selen wbudowany jest w triglicerydy poprzez pierścienie dioksa-selenolanowe lub tetraoksa-selenekano-wowe. Związki te charakteryzują się różnym stopniem aktywności biologicznej w zależności od stężenia selenu użytego w procesie syntezy. Istnieje możliwość otrzymania Selolu o 1%, 2%, 5%, 7% i 10% zawartości selenu(IV). Dotychczas dowiedziono, że Selol 2% wykazuje właściwości chemoprewencyjne, natomiast Selol 5% i 7% charakteryzują się silniejszą cytotoxycznością w stosunku do komórek nowotworowych.



Ryc. 1. Budowa chemiczna Selolu określona na podstawie widm ^1H i ^{13}C NMR oraz badań MS/MS (w ramce) - ester kwasu oktadeka-9,11-dieno-1-[7-(5-non-3-enylo-2- λ^4 -[1,3,2]-dioksa-seleno-lano-4-ylo-heptanoksylometylo]-2-oktadeka-9,13-dienoyl-oxy-etylowego.

Badania farmakokinetyczne

Badania *in vivo* wykazały, że Selol jest bardzo dobrze wchłaniany po podaniu doustnym, podskórnym i dootrzewnowym. Dowiedziono, że po absorpcji selenu z przewodu pokarmowego następuje wiązanie go przez erythrocyty, albuminy i globuliny osocza, a następnie transport do tkanek. Najwyższe stężenie selenu wykazano po 2 i 2,5 godzinach, odpowiednio od podania doustnego i podskórnego [17]. Lipofilne właściwości Selolu są odpowiedzialne za jego wysoką dystrybucję w całym organizmie. U szczurów po podaniu Selolu o stężeniach 2% i 5% największe zawartości selenu zaobserwowano w nerkach i wątrobie, mniejsze w jądrach, mózgu, śledzionie, płucach, jelicie i sercu. Selol przenika również przez barierę krew-mózg. Selen z Selolu jest magazynowany głównie przez erythrocyty. Wyniki badań wskazują (dane niepublikowane), że jest on przede wszystkim metabolizowany w wątrobie i wydalany przez nerki. Całkowita eliminacja z organizmu następuje w ciągu 24 godzin od podania Selolu.

Toksyczność

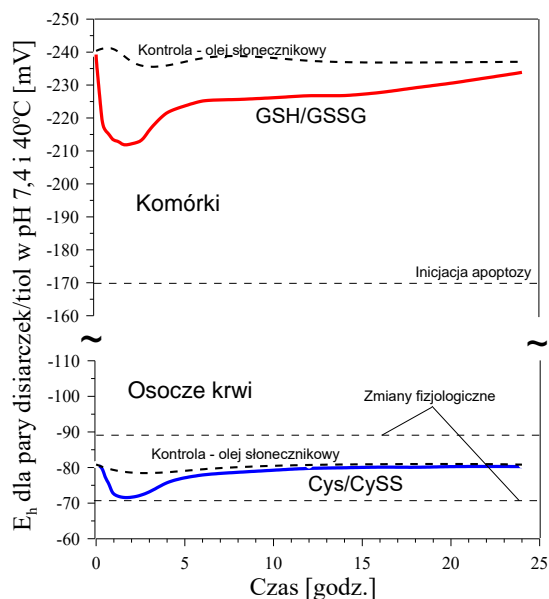
Toksyczność Selolu została zbadana na samcach szczurów Wistar [18]. Zwierzęta trzymano w znormalizowanych warunkach: temperatura pokojowa 22,5-23,0°C, wilgotność względna 50-70%, 12-godzinny cykl dzień/noc, ze swobodnym dostępem do wody i standardową dietą. Grupa doświadczalna otrzymywała Selol 2% w dawce 10-30 mg Se(IV)/kg m. c. doustnie (p.o.), podskórnym (s.c.) i dootrzewnowo (i.p.), a grupa kontrolna taką samą objętość oleju roślinnego. Wykazano, że istnieje związek pomiędzy toksycznością Selolu, a drogą jego podawania. Wyższą toksyczność stwierdzono po doustnym podaniu Selolu 2% w porównaniu z podaniem s.c. i i.p. Po pojedynczym podaniu Selolu 2% p.o. średnia dawka śmiertelna LD_{50} wynosiła 100 mg Se(IV)/kg m. c., a dla Selolu 10% 68 mg Se(IV)/kg m. c. W badaniach porównawczych wykazano, że Selol 2% jest ponad trzydzieści razy mniej toksyczny od selenianu(IV) sodu. LD_{50} dla selenianu(IV) sodu wynosiło 3 mg/kg m. c. W związku z tym Selol może być podawany w znacznie wyższych dawkach niż selenian(IV) sodu, zapewniając nadal niską toksyczność. Po podskórnym i dootrzewnowym podaniu Selolu odpowiednio w dawkach 500 i 100 mg Se(IV)/kg m. c. nie zaobserwowano śmiertelności, ani żadnych innych objawów klinicznych. Jedynym zanotowanym symptomem po podskórnym podaniu Selolu było zahamowanie wzrostu masy ciała. Selol nie powoduje toksyczności kumulatywnej i przewlekłej, ani nietolerancji po podaniu doustnym. Selol nie wykazał żadnego działania mutagennego, co wykazano w teście Ames na szczepach *Salmonella typhimurium*.

Mechanizm działania

Główny mechanizm działania Selolu polega na wytwarzaniu reaktywnych form tlenu. Ich nadmiar powoduje zaburzenia równowagi prooksydacyjno-antyoksydacyjnej i wygenerowanie stresu oksydacyjnego. W komórkach nowotworowych mechanizmy obronne są blokowane przez reaktywne formy tlenu, prawdopodobnie ze względu m. in. na zablokowaną syntezę gamma-glutamylcysteinową. W związku z tym produkcja glutationu jest całkowicie zahamowana i szybko dochodzi do jego zużycia. Powyższe wyniki badań uzyskano dla linii komórkowej ludzkiego nowotworu wątroby HepG2 (dane niepublikowane). Wynikiem tego było zmniejszenie potencjału oksydoredukcyjnego w

osoczu krwi i wzrost w przestrzeni wewnątrzkomórkowej. Potencjał redoks po przekroczeniu wartości -170 mV w komórkach nowotworowych przedstawia ich metabolizm w kierunku apoptozy [20,21]. Dioksygenaza cysteinowa (CDO) sprawuje kontrolę nad prawidłowym stężeniem cysteiny w komórce przez utlenienie jej nadmiaru do kwasu cysteinosulfonowego, a następnie przemianę w hipotaurynę i taurynę [22]. W komórkach nowotworowych następuje zablokowanie tego enzymu, prowadzące do kumulacji cysteiny. M. Brait wraz z zespołem badawczym wykazali [23], że ekspresja genu dioksygenazy cysteinowej 1 (CDO 1) jest ściśle kontrolowana przez metylację miejsca promotora, co może sugerować, że wyciszenie dioksygenazy cysteinowej 1 jest zjawiskiem powszechnie występującym w procesie nowotworowym.

Stres oksydacyjny po podaniu Selolu obejmujący komórki prawidłowe jest szybko kompensowany przez aktywację nieenzymatycznych i enzymatycznych mechanizmów obronnych. Do nieenzymatycznych systemów zaliczamy przede wszystkim tiolę oraz witaminy C i E, natomiast do enzymatycznych: katalazę, dysmutazę ponadtlenkową, reduktazę glutationową i peroksydazę glutationową [24,25]. Wśród tioli na szczególną uwagę zasługuje glutation (GSH), gdyż zakres pełnionych przez niego funkcji w organizmie jest bardzo szeroki. GSH jest najlepszym zmiataczem reaktywnych form tlenu, pomaga w odbudowie innych antyoksydantów, uszkodzonych białek i DNA oraz utrzymuje prawidłowy potencjał oksydoredukcyjny komórek [26]. W eksperymencie *in vivo* na zdrowych myszach rasy Swiss zbadano dynamikę zmian potencjału oksydoredukcyjnego w narządach i osoczu krwi myszy po jednorazowym podaniu Selolu 5% w dawce 17 mg Se(IV)/kg m. c. Analizie poddano wszystkie tiolę: cysteinę (Cys), glutation (GSH), homocysteinę (HCys), cysteinyloglicynę (CysGly) i γ -glutamylcysteinę (γ -GluCys), zaangażowane w neutralizowanie stresu oksydacyjnego. Na Ryc. 2 przedstawiono zmiany potencjału oksydoredukcyjnego w wątrobie i osoczu krwi myszy.



Ryc. 2. Zmiany potencjału oksydoredukcyjnego w wątrobie (GSH/GSSG) i osoczu krwi zdrowych myszy (Cys/CySS) po podaniu 17 mg Se(IV)/kg m.c. w postaci Selolu 5% (wyniki niepublikowane).

Każda zmiana w stężeniu zarówno zredukowanej, jak i utlenionej formy tioli ma odzwierciedlenie w przebiegu potencjału oksydoredukcyjnego (E_h). W warunkach fizjologicznych w osoczu krwi o potencjale E_h decydujący wpływ ma para cysteina/cystyna (Cys/CySS), której potencjał jest równy -80 ± 9 mV, natomiast w komórkach potencjał E_h zależy od stosunku pary glutation zredukowany/glutation utleniony (GSH/GSSG) i wynosi -240 ± 9 mV. Z przedstawionych na Ryc. 2 zmian potencjału oksydoredukcyjnego w osoczu krwi oraz wątrobie zdrowych myszy wynika, że podczas stresu oksydacyjnego, którego maksimum miało miejsce pomiędzy 90 a 120 minutą od podania Selolu, nie zaobserwowano zagrożenia dla życia zdrowych komórek. W osoczu krwi E_h osiągnął wartość -74 mV, czyli jedynie o 8 mV wyższą od stanu homeostazy, mieszcząc się w granicach dopuszczalnych zmian. W komórkach wątroby potencjał oksydoredukcyjny wyniósł -212 mV i również zawierał się w zakresie dopuszczalnych zmian, gdyż był o 42 mV niższy od granicy apoptozy. Przedstawione wyniki są bardzo podobne do uzyskanych wcześniej, podczas badania dynamiki zmian potencjału oksydoredukcyjnego w płucach szczurów po podaniu Selolu 2% [27].

Aktywność biologiczna

Dotychczasowe badania Selolu *in vitro* wykazały jego przeciwnowotworową aktywność. W badaniach na ludzkiej linii komórkowej białaczki HL-60 wrażliwej i wielolekoopornej: HL-60/dokсорubicyna i HL-60/winkrystyna wykazano silne hamowanie wzrostu komórek nowotworowych, skorelowane z oznaczoną wcześniej zawartością selenu [28]. Selol wykazał silniejszą aktywność cytotoksyczną wobec komórek wielolekoopornych przez inhibycyjne działanie wobec glikoproteiny P. W komórkach nowotworowych nadekspresja glikoproteiny P sugeruje brak efektów terapeutycznych w trakcie chemioterapii, co stwarza możliwość zastosowania Selolu jako czynnika chemouwrażliwiającego. Zmiany morfologiczne komórek traktowanych Selolem były charakterystyczne dla procesu autofagii i dotyczyły przede wszystkim komórek opornych. W przypadku komórek HL-60/dokсорubicyna stwierdzono fragmentację nici DNA bez aktywacji kaspaz. Zaobserwowano depolaryzację błony mitochondrialnej, co wskazuje na inicjację wewnętrznego szlaku apoptozy. Dodatkowo zauważono zmiany w dystrybucji i rozproszeniu lizosomów oraz degradację DNA w komórkach przez nukleazy [28].

Selol wpływa również na aktywność enzymów I i II fazy metabolizmu ksenobiotyków. Najważniejszymi enzymami katalizującymi reakcje I fazy metabolizmu są cytochromy CYP450. Biorąc pod uwagę eksperyment na linii komórkowej jelita grubego (Caco-2) wykazano supresorowe działanie Selolu na wątrobową izoformę CYP1A1, co zapewnia lepsze działanie terapeutyczne, dzięki wolniejszym przemianom metabolicznym Selolu [29]. CYP1A1 aktywuje prokancerogeny z grupy wielopierścieniowych węglowodorów aromatycznych za pośrednictwem receptora węglowodorów arylowych (AhR). Aktywne kancerogeny wiążą się kowalencyjnie z DNA tworząc addukty, które powodują mutacje [30]. Jednak aby zmiana genetyczna została utrwalona, uszkodzenie DNA nie może zostać naprawione przed procesem biosyntezy DNA i podziałem komórkowym. Okres ten stwarza wiele możliwości prewencyjnych na poziomie wczesnej interwencji. W związku z tym Selol stanowi potencjalną strategię leczenia chorób nowotworowych. Dodatkowo stwierdzono, że Selol indukuje enzymy II fazy za-

leżnej od szlaku sygnałowego NRF2ARE. Potwierdzono, że podanie Selolu skutkuje produkcją reaktywnych form tlenu, które prowadzą do stresu oksydacyjnego [29]. Komórki uruchamiają natychmiast mechanizmy obronne. Następuje aktywacja enzymów antyoksydacyjnych poprzez uruchomienie szlaku NRF2ARE. Stwierdzona zwiększona aktywność reduktazy NAD(P)H-chinonowej (QR) uzależniona była od stężenia Selolu. Schemat biologicznego działania Selolu przedstawiono na Ryc. 3.

Na linii komórkowej ludzkiego raka szyjki macicy HeLa przeprowadzono badania porównawcze dla Selolu i selenianu(IV) sodu. Wykazano różnice w szybkości działania oraz w stopniu penetracji selenu z nieorganicznej i organicznej formy selenu na +4 stopniu utlenienia. Selol jako mieszanina związków o dużej masie cząsteczkowej wnika do komórki wolniej w porównaniu do selenianu(IV) sodu. Zaobserwowane różnice wynikają z odmiennej budowy, właściwości fizykochemicznych i różnych mechanizmów wchłaniania obu związków [31]. Podobne badania porównawcze wykonano także na liniach komórkowych raka prostaty LNCaP i prawidłowych prostaty BJ i PNT1A [32]. Stwierdzono, że Selol wykazuje bezpieczniejsze i skuteczniejsze działanie w porównaniu do selenianu(IV) sodu.

Przeciwmityotyczne działanie Selolu przedstawiono na komórkach testowych cebuli zwyczajnej (*Allium cepa* L.). Komórki roślinne inkubowane z Selem wykazały zmiany w strukturze chromosomów i kondensacji chromatyny, mające wpływ na kolejne etapy podziału. Przy zastosowaniu wysokich stężeń Selolu zaobserwowano silną kondensację chromatyny w czasie interfazy komórek. Natomiast Selol w niskim stężeniu stymulował podział komórkowy [33].



Ryc. 3. Schematyczne przedstawienie rodzajów aktywności biologicznej Selolu.

Model raka prostaty

Zgodnie z Krajowym Rejestrem Nowotworów rak gruczołu krokowego jest drugim najczęściej występującym nowotworem złośliwym u mężczyzn w Polsce [34]. Częstość występowania raka prostaty wzrasta wraz z wiekiem. Ogromny wpływ na wczesne wykrywanie mają badania skriningowe, w tym oznaczanie poziomu swoistego antygenu sterczowego (PSA). Związki selenu wykazują obiecującą aktywność zapobiegającą rozwojowi raka w modelowych układach badawczych na zwierzętach i w badaniach kli-

nicznych. Ostatnie doniesienia literaturowe wskazują odwrotną korelację pomiędzy zachorowalnością na raka, a spożyciem selenu. Niektóre badania interwencyjne przeprowadzone na niewielkich populacjach potwierdziły tę zależność dla raka prostaty [35].

Biorąc pod uwagę powyższe informacje przeprowadzono eksperyment, w którym badano Selol w chorobie nowotworowej raka prostaty. Badania prowadzono w dwóch układach eksperymentalnych: modelu *in vitro* i *in vivo*. W celu sprawdzenia zmian w ekspresji genów zależnych od stresu oksydacyjnego wykorzystano normalną oraz nowotworową ludzką linię komórkową, odpowiednio PNT1A i LNCaP. Stwierdzono, że komórki linii PNT1A wykazywały większą zdolność do obrony antyoksydacyjnej i wyższą ekspresję genów kodujących białka o aktywności peroksydazy, genów kodujących mitochondrialną dysmutazę ponadtlenukową (SOD2) oraz enzymy kompleksu tioredoksyn-reduktaza tioredoksyny w porównaniu do komórek LNCaP [36]. Po 48 godzinach inkubacji komórek z Selem, odpowiedź komórek LNCaP wykazała znaczące różnice w stosunku do komórek prawidłowych PNT1A. Komórki androgenozależnej linii raka prostaty LNCaP wykazały zwiększoną ekspresję genów kodujących peroksydazę glutationową 2, reduktazę tioredoksyny 1, a osiem genów wykazało obniżenie ekspresji np. syntazy tlenu azotu 2 (NOS2), cyklooksygenazy 1 i 2, białka angiopoetynopodobnego 7 (ANGPTL7). Komórki nowotworowe wykazały niski potencjał obrony antyoksydacyjnej. Zaobserwowano jedynie aktywację reduktazy tioredoksyny 1 i peroksydazy glutationowej 2, co wydaje się być obiecujące dla indukcji apoptozy. W przypadku komórek PNT1A Selol ujawnia zwiększoną ekspresję wielu genów obejmujących osiemnaście genów zaangażowanych w metabolizm reaktywnych form tlenu oraz grupę genów kodujących białka o charakterze antyoksydacyjnym: peroksydazę glutationową 3, peroksydazę glutationową 5 i dysmutazę ponadtlenukową. Stwierdzono, że skuteczność Selolu znacznie wzrasta wraz z wydłużeniem czasu inkubacji. Co ważne, na poziomie genowym po 24 godzinach od podania Selolu komórki nowotworowe nie wykazują właściwości protekcyjnych przed stresem oksydacyjnym [36].

W badaniu *in vivo* na dojrzałych samcach myszy NSG (NODmice NOD.Cg-Prkdc/scidIL2rg) z ksenoprzeszczepem androgenozależnego raka prostaty LNCaP wykazano korelację pomiędzy stężeniem PSA w osoczu krwi myszy, a wielkością guza [37]. Myszy były suplementowane przez 21 dni Selem 5% w dawce 17 mg Se(IV)/kg m. c., co stanowi 10% LD₅₀. Po upływie tego czasu zaobserwowano zaburzenie równowagi redoks w komórkach nowotworowych myszy. W osoczu krwi oraz w guzie zaobserwowano podwyższone stężenie cysteiny i utlenionej formy glutationu. Wówczas zanotowano obniżenie potencjału oksydoredukcyjnego w osoczu krwi. Wynikiem zmniejszenia stężenia wewnątrzkomórkowego glutationu, a wzrostu utlenionej formy glutationu GSSG w komórkach guza jest wzrost potencjału oksydoredukcyjnego blisko wartości determinującej przestawienie metabolizmu komórkowego na szlak apoptozy. To dowodzi prooksydacyjnego działania Selolu 5%. Stosowanie Selolu w dawce 17 mg Se(IV)/kg m. c. w ciągu 3 tygodni spowodowało zmniejszenie masy guza o 17% [37].

Biorąc pod uwagę aktywność enzymów antyoksydacyjnych w komórkach guza, zaobserwowano istotny statystycznie wzrost aktywności peroksydazy glutationowej, enzymów glutationo-zależnych, S-transferazy glutationowej

(GST), całkowitej pojemności antyoksydacyjnej (ORAC) i stężenia selenu w porównaniu z tkanką nowotworową po podaniu placebo. Wzrost ilości białek antyoksydacyjnych i brak zmian w ekspresji genów sugerują wczesną odpowiedź komórkową na poziomie genowym. Zostało to potwierdzone przez wysoką aktywność przeciwutleniającą białka (dane nieopublikowane).

Biosynteza selenoprotein

Po silnym działaniu prooksydacyjnym Selolu, następuje uruchomienie mechanizmów naprawczych. Znaczący zakres efektu farmakologicznego Selolu został przypisany do jego działania antyoksydacyjnego. Wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych następuje w wyniku pobudzenia szlaku NRF2ARE. Czynnikiem transkrypcyjnym NRF2 zawiera 6 domen, co stwarza możliwość związania z elementem odpowiedzi antyoksydacyjnej ARE zlokalizowanym w jądrze komórkowym [38]. Związki selenu na +4 stopniu utlenienia są metabolizowane do selenodiglutationu i selenku, wykazujących silną aktywność przeciwnowotworową. W konsekwencji GSH i inne antyoksydanty redukują selen(IV) do selenu(II), który jest wbudowany do selenobiałek w postaci czynnej biologicznie selenocysteiny (Sec) podczas procesu translacji. Selenocysteina jest kodowana przez nukleotydowy triplet kodujący UGA, zazwyczaj będący kodonem terminalnym [39]. Jednak dzięki obecności sekwencji insercji selenocysteiny (SECIS) zlokalizowanej poniżej kodonu UGA w regionie niepodlegającym translacji 3'-UTR na mRNA selenoprotein, możliwy jest odczyt kodonu dla selenocysteiny [40]. Dodatkowymi czynnikami sprzyjającymi temu procesowi są: czynnik elongacyjny (EFsec), białka wiążące element SECIS: SECIS-wiążące proteinę 2 (SBP2) i białko rybosomalne L30, unikatowe tRNA (Sec-tRNA^{Sec}) [41] oraz nukleolina [42]. Mechanizm ten prowadzi do odwrócenia kierunku obronnego przeciwko szkodliwym wpływom wolnych rodników. Uruchamiane są również procesy mające na celu naprawę uszkodzonych błon komórkowych, białek oraz DNA.

Aktywacja selenoenzymów została potwierdzona w badaniach na zdrowych myszach rasy Swiss po jednorazowym i długoterminowym podawaniu Selolu 5% [43]. W osoczu krwi i erytrocytach zaobserwowano wzrost aktywności selenoenzymów (peroksydazy glutationowej, reduktazy tioredoksyny) w dwóch przedziałach czasowych w porównaniu z kontrolą w ciągu pierwszych godzin po podaniu Selolu (1 i 4 godzina) i kilka godzin przed zakończeniem eksperymentu (od 10 do 20 godziny). Od godziny pierwszej po suplementacji Selolem 5% wykazano wzrost stężenia pozakomórkowej selenoproteiny P (białka zewnątrzkomórkowego, transportującego selen) w osoczu krwi myszy. Wzrost aktywności enzymów antyoksydacyjnych (peroksydazy glutationowej, reduktazy tioredoksyny, S-transferazy glutationowej) zaobserwowano w dwóch przedziałach czasowych, co odpowiada zmianom całkowitej zdolności antyoksydacyjnej osocza (ORAC). Wzrost aktywności enzymów z jednocześnie istotnym statystycznie wzrostem stężenia malonyldialdehydu (MDA) w osoczu krwi zdrowych myszy w przedziałach godzinowych 10-20 i 20-24 eksperymentu [43] wskazuje na właściwości antyoksydacyjne Selolu 5% po jednorazowym podaniu. Ponadto aktywność selenoenzymów badano na owcach wobec których stosowano dietę bogatą w selen w postaci Selolu 5%. W tym eksperymencie również potwierdzono syntezę selenoprotein po podaniu Selolu [44].

Antyoksydacyjne i cytoprotekcyjne działanie Selolu

Stres oksydacyjny, czyli zaburzenie równowagi pomiędzy produkcją reaktywnych form tlenu, a ochroną antyoksydacyjną na korzyść tych pierwszych, odgrywa istotną rolę w patofizjologii chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Parkinsona (PD) i Alzheimer (AD) [45]. Selen może chronić neurony przed stresem oksydacyjnym i zapobiegać ich degeneracji. Nieenzymatyczny układ antyoksydacyjny umożliwia utrzymanie równowagi redoks w komórce. Głównym składnikiem tego układu jest glutation, który wraz z enzymami antyoksydacyjnymi, takimi jak peroksydaza glutationowa i reduktaza glutationowa, chroni komórki przed szkodliwym wpływem stresu oksydacyjnego [46].

W badaniach prowadzonych na hodowli szczurzych komórek *pheochromocytoma* z chromochłonnego guza rdzenia nadnerczy PC12, poddanych działaniu stresu oksydacyjnego wywołanego podaniem nitroprusydku sodu, wykazano znaczący wzrost reaktywnych form tlenu, poprzez modulację ekspresji enzymów antyoksydacyjnych. Natomiast wstępne leczenie Selolem zapobiegało powstawaniu reaktywnych form tlenu indukowanych nitroprusydkiem. Zaobserwowano również 70% wzrost aktywności peroksydazy glutationowej po 4 godzinnej inkubacji z Selolem. Indukowany nitroprusydkiem sodu stres oksydacyjny prowadził do wzrostu ilości martwych komórek PC12 o około 50% na drodze apoptozy i nekrozy. Odnotowano też ujemną korelację pomiędzy postępującą neurodegeneracją a aktywnością selenoenzymów, co może wskazywać, że leczenie selenem ma korzystny wpływ na zaburzenia neurodegeneracyjne (dane nieopublikowane).

Interakcje

Terapia skojarzona jest często stosowana przy leczeniu najbardziej groźnych chorób, w tym nowotworowych, układu krążenia, czy AIDS. Wybór odpowiednich leków o różnych mechanizmach działania jest w tym przypadku kluczowym elementem dla osiągnięcia efektu synergistycznego. Badania *in vitro* z wykorzystaniem linii komórkowej ludzkiego gruczolakoraka jelita grubego HT-29 wykazały, że jednoczesne podawanie Selolu z 5-fluorouracylem powoduje silniejsze działanie cytotoksyczne niż stosowanie monoterapii (dane nieopublikowane). Zastosowanie Selolu z lekami cytostatycznymi stwarza możliwość zmniejszenia występowania działań niepożądanych, wynikających ze stosowania cystostatyków.

Magnetyczne nanocząstki i nanokapsułki z selolem

Systemy dostarczania leków zostały opracowane jako strategia zwiększania potencjału terapeutycznego leków. Pozwala to na efektywne dostarczenie na odpowiednim poziomie środków terapeutycznych do miejsc docelowych przy jednoczesnym wydłużeniu czasu cyrkulacji leku, ze zmniejszeniem skutków ubocznych. Liczne rodzaje nanocząstek zawierających chemioterapeutyki rewolucjonizują kierunki badań ogólnoustrojowego systemu dostarczania leków przeciwnowotworowych, które stanowią alternatywę leczenia miejsc przerzutowych [47,48]. Biorąc pod uwagę, że Selol wykazuje aktywność przeciwnowotworową i cechuje się niską rozpuszczalnością w wodzie, zespół naukowców z Brazylii opracował nowe formy Selolu w postaci nanocząstek i nanokapsulek magnetycznych. W pierwszym eksperymencie stworzono nanocząstki magnetyczne zawierające Selol i zastosowano je w hipertermii [49]. Ponadto po-

twierdzono, że metoda hipertermii magnetycznej z zastosowaniem pola magnetycznego AC jest skuteczniejsza od dotychczas stosowanych sposobów leczenia w przypadku linii komórkowej raka jamy ustnej (OSCC) [50]. Podobne obserwacje zostały zanotowane dla linii komórkowych raka piersi 4T1 i MCF-7, suplementowanych magnetycznymi nanocząstkami zbudowanymi z kopolimeru kwasów mlekowego i glikolowego (PLGA), zawierającymi maghemitowe rdzenie (MNP) i Selol 5% [51]. Innowacyjnym podejściem okazało się wytworzenie stabilnego składu płaszcza dla nanokapsulek, zbudowanego z kopolimeru metylo-winylo-eteru z bezwodnikiem kwasu maleinowego (PVM/MA), zawierającego Selol 5%, nazwanego w skrócie SNP, dzięki wykorzystaniu międzyfazowej metody wytrącania. SNP oraz wolny Selol spowodowały zmniejszenie żywotności komórek gruczolakoraka płuc (A549), natomiast SNP powodowały zwiększenie żywotności komórek prawidłowych w porównaniu z wolnym Seloem. Wynik ten był związany z zatrzymaniem cyklu komórkowego linii komórek A549 w fazie G2/M potwierdzonym kolejnymi eksperymentami wykazującymi obniżenie ekspresji genów CDC25C i CCNB1 [52]. Na linii komórkowej A549 wykazano również, że podanie SNP powoduje generację reaktywnych form tlenu i nadekspresję Bax, CYP1A1, Bcl2 oraz zwiększenie aktywności peroksydazy glutationowej 1. Zastosowanie samego tylko Selolu wywołuje apoptozę i nekrozę jedynie w niewielkim procencie komórek A549.

Podsumowanie i dalsze kierunki badawcze

Perspektywy dotyczące zastosowania Selolu wydają się bardzo szerokie, ponieważ ten preparat stanowi obiecujący potencjalny lek przeciwnowotworowy. Seleninotriglicerydy zawarte w Selolu dzięki obecności w strukturze atomu Se(IV) wykazują działanie chemoprewencyjne w ochronie przed kancerogenezą. Ze względu na swą budowę i obecność atomów Se(IV), seleninotriglicerydy stanowią związki stymulujące produkcję reaktywnych form tlenu. Redukcja Se(IV) do Se(II) inicjuje antyoksydacyjne mechanizmy naprawcze. Stres oksydacyjny wynikający z produkcji RFT prowadzi do uszkodzenia DNA i kumulacji mutacji pogłębiających niestabilność genetyczną w komórkach nowotworowych. Po zastosowaniu Selolu w komórkach prawidłowych zwiększona pula GSH i uruchomione enzymatyczne mechanizmy naprawcze likwidują uszkodzenia DNA, redukują stres oksydacyjny i stan zapalny stymulujący wzrost guza oraz indukują enzymy II fazy metabolizmu ksenobiotyków. Ponadto Selol umożliwia wzmocnienie odpowiedzi immunologicznej, zwiększenie aktywności białka supresorowego p53 nowotworu, inaktywację kinazy białkowej C, zmiany w metylacji DNA, zablokowanie cyklu komórkowego, indukcję apoptozy komórek nowotworowych i hamowanie angiogenezy. Jak wcześniej omówiono, w badaniu na modelu raka prostaty, Selol spowodował zmniejszenie wielkości guza o 17% w ciągu 2 tygodni stosowania. Zespół zajmujący się badaniem histopatologicznym guza odkrył obecność ciałek apoptotycznych w komórkach nowotworowych (dane nieopublikowane).

Oprócz działania przeciwnowotworowego Selol może przyczynić się do zmniejszenia ryzyka wystąpienia chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Parkinsona i Alzheimer. Selol łatwo przenika przez barierę krew-mózg i jest szybko wchłaniany po podaniu doustnym. W przyszłości wydaje się bardzo interesujące sprawdzenie antyoksydacyjnego i cytoprotekcyjnego działania Selolu w modelu *in*

vivo. Ponieważ Selol reguluje stężenie reaktywnych form tlenu, a w komórkach prawidłowych zapobiega zaburzeniom równowagi oksydoredukcyjnej i uszkodzeniom systemu nerwowego, preparat ten jest obecnie badany pod kątem leczenia jeszcze innych chorób neurodegeneracyjnych, jak zespół Aspergera.

Ponadto, ze wstępnych badań wynika, że Selol bardzo skutecznie usuwa z organizmu ssaków metale ciężkie, takie jak ołów, kadm i rtęć, nie powodując objawów ubocznych. Stwarza to na przyszłość praktyczne możliwości zastosowania terapii oczyszczających. Kwestia ta staje się coraz bardziej istotna ze względu na fakt, że metale ciężkie są gromadzone w organizmie już od najmłodszych lat i mogą być przyczyną wielu chorób cywilizacyjnych, jak otowica.

Znajomość mechanizmu działania Selolu pozwoli zrozumieć i przewidzieć możliwość wystąpienia także działań niepożądanych. Istnieje potrzeba prowadzenia dalszych badań nad Seloem, aby w pełni ocenić jego bezpieczeństwo i zastosowanie farmakologiczne.

Konkluzja

Seleninotriglicerydy są związkami aktywnymi biologicznie, wpływającymi na wiele procesów komórkowych. Wiele badań *in vitro* i *in vivo* wykazało silne działanie przeciwnowotworowe Selolu, zwłaszcza wobec ludzkich wielolekoopornych linii komórkowych. Przewagą Selolu nad stosowanym w lecznictwie nieorganicznym preparatem zawierającym selen - selenianem(IV) sodu jest jego niska toksyczność, co umożliwia przyjmowanie wyższych dawek selenu. Odkrycie synergistycznego działania Selolu z lekami cystostatycznymi pozwala zredukować szkodliwe działanie cytostatyków oraz wielokrotnie wzmacnia właściwości lecznicze. Terapia, a także suplementacja Seloem, oparta na odpowiednich regulacjach zdrowotnych, może w istotny sposób poprawić jakość życia.

Indeks skrótów

| | |
|----------|---|
| AD | choroba Alzheimer (ang. <i>Alzheimer's Disease</i>) |
| AhR | receptor węglowodorów arylowych (ang. <i>aryl hydrocarbon receptor</i>) |
| ANGPTL7 | białko angiopoetynopodobne 7 |
| ARE | element odpowiedzi antyoksydacyjnej (ang. <i>antioxidant response element</i>) |
| A549 | komórki gruczolakoraka płuc |
| BJ | prawidłowe ludzkie fibroblasty |
| Caco-2 | ludzkie komórki nabłonka jelit (okrężnicy) |
| CDO | dioksygenaza cysteinowa (ang. <i>cysteine dioxygenase</i>) |
| Cys | cysteina |
| CySS | cystyna |
| CysGly | cysteinylglicyna |
| DNA | kwas deoksyrybonukleinowy |
| EFsec | czynnik elongacyjny |
| γ-GluCys | gamma-glutamylcysteina |
| GSH | glutation (forma zredukowana) |
| GSSG | glutation (forma utleniona) |
| GST | S-transferaza glutationowa |
| HCys | homocysteina |
| HeLa | komórki nowotworu szyjki macicy |
| HepG2 | ludzkie komórki nowotworu wątroby |
| HL-60 | komórki białaczki promielocytarnej |
| HT-29 | komórki gruczolakoraka jelita grubego |

| | |
|------------------|--|
| LD ₅₀ | średnia dawka śmiertelna |
| LNCaP | komórki ludzkiego androgenozależnego raka prostaty |
| MCF-7 | ludzkie komórki raka piersi |
| MDA | malonyldialdehyd |
| NMR | magnetyczny rezonans jądrowy (<i>ang. nuclear magnetic resonance</i>) |
| NOS2 | syntaza tlenu azotu 2 (<i>ang. nitric oxide synthase 2</i>) |
| Nrf2 | czynnik jądrowy 2 |
| ORAC | całkowita pojemność antyoksydacyjna (<i>ang. oxygen radical absorbance capacity</i>) |
| OSCC | komórki raka koleczystokomórkowego jamy ustnej |
| PC12 | komórki chromochłonne guza nadnerczy |
| PD | choroba Parkinsona (<i>ang. Parkinson's Disease</i>) |
| PNT1A | prawidłowe komórki prostaty |
| PSA | antygen gruczołu krokowego (<i>ang. prostate specific antigen</i>) |
| RFT | reaktywne formy tlenu |
| Sec | selenocysteina |
| SECIS | sekwencja insercji selenocysteiny podczas syntezy białek (<i>ang. selenocysteine insertion sequence</i>) |
| tRNA | transportujący tRNA |
| 4T1 | komórki raka piersi |

Bibliografia

- Fairweather-Tait S. J., Bao Y., Broadley M. R., Collings R., Ford D., Hesketh J. E., Hurst R. Selenium in human health and disease. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14(7), 1337-1383.
- Rayman M. P. Selenium and human health. *Lancet*, 2012, 379(9822), 1256-1268.
- Brown K. M., Arthur J. R. Selenium, selenoproteins and human health: a review. *Public Health Nutr*, 2001, 4(2b), 593-599.
- Madison T.C. Sanitary report - Fort Randall. In *Statistical Report on the Sickness and Mortality in the Army of the United States* (Coolidge, R.H., ed.). 36th Congress Senate Exchange Document, 1860, 37-41.
- Schwarz K., Foltz C. M. Factor 3 activity of selenium compounds. *J. Biol. Chem.*, 1958, 233, 245-251.
- Combs G. F., Gray W. P. Food system-based approaches to improving micronutrient nutrition: the case for selenium. *Biofactors*, 2000, 12(1-4), 39-43.
- Lu J., Holmgren A. Selenoproteins. *J Biol Chem*, 2009, 284(2), 723-727.
- Clark L. C., Dalkin B., Krongrad A., Combs G. F., Jr., Turnbull B. W., Slate E. H., Witherington R., Herlong J. H., Janosko E., Carpenter D., Borosso C., Falk S., Rounder J. Decreased incidence of prostate cancer with selenium supplementation: results of a double-blind cancer prevention trial. *Br J Urol*, 1998, 81(5), 730-734.
- Blankenberg S., Rupprecht H. J., Bickel C., Torzewski M., Hafner G., Tiret L., Smieja M., Cambien F., Meyer J., Lackner K. J. Glutathione peroxidase 1 activity and cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*, 2003, 349(17), 1605-1613.
- Rederstorff M., Krol A., Lescure A. Understanding the importance of selenium and selenoproteins in muscle function. *Cell Mol Life Sci*, 2006, 63(1), 52-59.
- Hatfield D. L., Berry M. J., Gladyshev V. N. *Selenium: Its Molecular Biology and Role in Human Health*. Springer Science+Business Media, 2012.
- Baum M. K., Campa A. Role of selenium in HIV/AIDS. In: Hatfield DL, Berry MJ, Gladyshev VN, editors. *Selenium - its molecular biology and role in human health*. New York: Springer, 2006, 299-310.
- Broome C. S., McArdle F., Kyle J. A., Andrews F., Lowe N. M., Hart C. A., Arthur J. R., Jackson M. J. An increase in selenium intake improves immune function and poliovirus handling in adults with marginal selenium status. *Am J Clin Nutr*, 2004, 80(1), 154-162.
- Rayman M. P., Infante H. G., Sargent M. Food-chain selenium and human health: spotlight on speciation. *Br J Nutr*, 2008, 100(2), 238-253.
- Fitak B. A., Grabowski M., Suchocki P. Preparat przeciwnowotworowy i sposób jego wytwarzania. *Pol Patent*, 1999, 1765301994.
- Suchocki P., Jakoniuk D., Fitak B.A. Specific spectrophotometric method with trifluoroacetic acid for the determination of selenium(IV) in selenitetriglycerides. *J Pharm Biomed Anal*, 2003, 32, 1029-1036.
- Jastrzebski Z., Czyzewska-Szafran H., Remiszewska M., Fijalek Z., Fitak B. A., Suchocki P. Pharmacokinetics of selol, a new agent containing selenium, in rats. *Drugs Exp Clin Res*, 1997, 23(1), 7-11.
- Jastrzebski Z., Czyzewska-Szafran H., Fijatek Z., Suchocki P., Fitak B. A. Toxicity studies of a new selenium compound, Selol, in rats. *Drugs Exp Clin Res*, 1995, 21(6), 217-220.
- Rahden-Staron I., Suchocki P., Czeczot H. Evaluation of mutagenic activity of the organo-selenium compound Selol by use of the Salmonella typhimurium mutagenicity assay. *Mutat Res*, 2010, 699(1-2), 44-46.
- Schafer F. Q., Buettner G. R. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. *Free Radic Biol Med*, 2001, 30(11), 1191-1212.
- Hutter D. E., Till B. G., Greene J. J. Redox state changes in density-dependent regulation of proliferation. *Exp Cell Res*, 1997, 232(2), 435-438.
- Stipanuk M. H., Ueki I., Dominy J. E., Jr., Simmons C. R., Hirschberger L. L. Cysteine dioxygenase: a robust system for regulation of cellular cysteine levels. *Amino Acids*, 2009, 37(1), 55-63.
- Brait M., Ling S., Nagpal J. K., Chang X., Park H. L., Lee J., Okamura J., Yamashita K., Sidransky D., Kim M. S. Cysteine dioxygenase 1 is a tumor suppressor gene silenced by promoter methylation in multiple human cancers. *PLoS One*, 2012, 7(9), e44951.
- Sies H. Strategies of antioxidant defense. *Eur. J. Biochem.*, 1993, 215, 213-219.
- Carocho M., Ferreira I. C. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food Chem Toxicol*, 2013, 51, 15-25.
- Lushchak V. I. Glutathione homeostasis and functions: potential targets for medical interventions. *J Amino Acids*, 2012, 2012, 736837.
- Stańczyk M., Jaworska M., Wilk M., Suchocki P., Anuszewska E. The effect of selenium on redox state and thiols changes in lung tissue after Selol, a new organoselenium (IV) compound, administration. *Central European Journal of Immunology*, 2010, 35(3), 115-122.
- Suchocki P., Misiewicz I., Skupinska K., Wacławek K., Fijalek Z., Kasprzycka-Guttman T. The activity of Selol in multidrug-resistant and sensitive human leukemia cells. *Oncol Rep*, 2007, 18(4), 893-899.
- Suchocki P., Misiewicz-Krzeminska I., Skupinska K., Niedzwiecka K., Lubelska K., Fijalek Z., Kasprzycka-Guttman T. Selenitetriglycerides affect CYP1A1 and QR activity by involvement of reactive oxygen species and Nrf2 transcription factor. *Pharmacol Rep*, 2010, 62(2), 352-361.
- Curtis D., Klaassen John B., Watkins III, redakcja wydania I polskiego: Barbara Zielińska-Psujka, Andrzej Sapota. *Podstawy toksykologii*. Casarett & Doull 2014 ISBN: 978-83-7846-058-9, 149-165.
- Dudkiewicz-Wilczyńska J., Książek I., Nowak K., Suchocki P., Flis S., Kiljan M., Anuszewska M. Study of the effect of Selol and sodium selenite on HeLa cells in vitro. *Chemik*, 2011, 65(2), 105-114.
- Książek I., Sitarz K., Anuszewska E., Dudkiewicz-Wilczyńska J., Roslon M., Koronkiewicz M., Suchocki P. TOXICITY STUDIES OF SELOL - AN ORGANIC SELENIUM (IV) COMPOUND- IN VITRO RESEARCH *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* 2014, 6(5), 264-269.

33. Ślusarczyk J., Dudek M., Wierzbicka M., Suchocki P., Kuraś M. Antimitotic effect of Selol and sodium selenate (IV) on Allium test cells. *Caryologia*, 2014, 67(3), 250-259.
34. Wojciechowska U., Didkowska J. Poprawa przeżyć chorych na nowotwory złośliwe w Polsce. Analiza przeżyć pacjentów zdiagnozowanych w latach 2003-2005. *Nowotwory. Journal of Oncology*, 2013, 63(4), 279-285.
35. El-Bayoumy K. The protective role of selenium on genetic damage and on cancer. *Mutat Res*, 2001, 475(1-2), 123-139.
36. Książek I., Sitarz K., Roslon M., Anuszevska E., Suchocki P., Wilczyńska J. D. The influence of Selol on the expression of oxidative stress genes in normal and malignant prostate cells. *Cancer Genomics Proteomics*, 2013, 10(5), 225-232.
37. Flis A., Suchocki P., Królikowska M., Suchocka Z., Remiszewska M., Śliwka L., Książek I., Sitarz K., Sochacka M., Hoser G., Anuszevska E., Wroczynski P., Jastrzębski Z. Selenitetriglycerides—Redox-active agents. *Pharmacological Reports*, 2015, 67(1), 1-8.
38. Nguyen T., Sherratt P. J., Nioi P., Yang C. S., Pickett C. B. Nrf2 controls constitutive and inducible expression of ARE-driven genes through a dynamic pathway involving nucleocytoplasmic shuttling by Keap1. *J Biol Chem*, 2005, 280(37), 32485-32492.
39. Driscoll D. M., Copeland P. R. Mechanism and regulation of selenoprotein synthesis. *Annu Rev Nutr*, 2003, 23, 17-40.
40. Hatfield D. L., Gladyshev V. N. How selenium has altered our understanding of the genetic code. *Mol Cell Biol*, 2002, 22(11), 3565-3576.
41. Lee B. J., Worland P. J., Davis J. N., Stadtman T. C., Hatfield D. L. Identification of a selenocysteyl-tRNA(Ser) in mammalian cells that recognizes the nonsense codon, UGA. *J Biol Chem*, 1989, 264(17), 9724-9727.
42. Miniard A. C., Middleton L. M., Budiman M. E., Gerber C. A., Driscoll D. M. Nucleolin binds to a subset of selenoprotein mRNAs and regulates their expression. *Nucleic Acids Res*, 2010, 38(14), 4807-4820.
43. Sochacka M., Giebulowicz J., Remiszewska M., Suchocki P., Wroczynski P. Effects of Selol 5% supplementation on the activity or concentration of antioxidants and malondialdehyde level in the blood of healthy mice. *Pharmacol Rep*, 2014, 66(2), 301-310.
44. Zagrodzki P., Bik D., Fitak B.A., Suchocki P., Niemczuk K. Selenoenzymes in animal tissues after supplementation with SELOL. *Bulletin of the Veterinary Institute in Putawy*, 2000, 44(2).
45. Barnham K. J., Masters C. L., Bush A. I. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Nat Rev Drug Discov*, 2004, 3(3), 205-214.
46. Martin H. L., Teismann P. Glutathione—a review on its role and significance in Parkinson's disease. *FASEB J*, 2009, 23(10), 3263-3272.
47. Wang A. Z., Langer R., Farokhzad O. C. Nanoparticle delivery of cancer drugs. *Annu Rev Med*, 2012, 63, 185-198.
48. Poste G., Kirsh R. Site-Specific (Targeted) Drug Delivery in Cancer Therapy. *Nat Biotech*, 1983, 1(10), 869-878.
49. Falqueiro A. M., Primo F. L., Morais P. C., Mosiniewicz-Szablewska E., Suchocki P., Tedesco A. C. Selol-loaded magnetic nanocapsules: A new approach for hyperthermia cancer therapy. *Journal of Applied Physics*, 2011, 109(7), 07B306.
50. Falqueiro A. M., Siqueira-Moura M. P., Jardim D. R., Primo F. L., Morais P. C., Mosiniewicz-Szablewska E., Suchocki P., Tedesco A. C. In vitro cytotoxicity of Selol-loaded magnetic nanocapsules against neoplastic cell lines under AC magnetic field activation. *Journal of Applied Physics*, 2012, 111(7), 07B335.
51. Estevanato L. L., Da Silva J. R., Falqueiro A. M., Mosiniewicz-Szablewska E., Suchocki P., Tedesco A. C., Morais P. C., Lacava Z. G. Co-nanoencapsulation of magnetic nanoparticles and selol for breast tumor treatment: in vitro evaluation of cytotoxicity and magnetohyperthermia efficacy. *Int J Nanomedicine*, 2012, 7, 5287-5299.
52. de Souza L. R., Muehlmann L. A., Dos Santos M. S., Ganassin R., Simon-Vazquez R., Joanitti G. A., Mosiniewicz-Szablewska E., Suchocki P., Morais P. C., Gonzalez-Fernandez A., Azevedo R. B., Bao S. N. PVM/MA-shelled selol nanocapsules promote cell cycle arrest in A549 lung adenocarcinoma cells. *J Nanobiotechnology*, 2014, 12, 32.