

DISTRIBUȚIA SELENIULUI ÎN ORGANISM LA BOLNAVII CU CARCINOAME CUTANATE

SORINA SCHIPOR*, ILINCA NICOLAE**, MARILENA CIORTEA**,
C. CIORTEA****, CECILIA THOMESCU**

București

Rezumat

Datele acumulate până în prezent în literatura de specialitate sugerează rolul important al microelementelor, cauzal sau protectiv, în carcinogeneză. În contextul existenței neoplaziei apar modificări ale microelementelor (variații cantitative și tulburări ale interdependenței lor).

Biodistribuția seleniului, în condiții normale și patologice, este analizată în acest studiu ținând cont de procesul dinamic al bolii canceroase. Determinările s-au făcut în ser, celule sangvine, urină, pe fragmente de organe după efectuarea intervențiilor chirurgicale.

Modularea căilor de restabilire a statusului seleniului în organism, identificarea unor compuși care să prevină distrucția indusă de radicalii liberi constituie strategia cercetărilor expuse în această lucrare.

Cuvinte cheie: seleniu, activitate glutatation peroxidazică, carcinoame cutanate.

Summary

Recent data suggests an important role, to produce and/or protect, of oligoelements in carcinogenesis. In neoplasia arise changes in oligoelements (quantitative variations and changes of their interrelations).

In this study, selenium biodistribution, in normal and pathological states, is evaluated considering cancer dynamics. For biochemical determinations were used serum, blood cells, urine, and tissues fragments obtained after surgery.

Modulating pathways to selenium status equilibrium and identification of some chemical compounds that could prevent free radicals induced cell lysis, represent the strategy of research in this study.

Key words: selenium, glutatation peroxidase activity, skin carcinomas.

DermatoVenerol. (Buc.), 53: 147-151

Introducere

Prevenirea leziunilor oxidative constituie un obiectiv major al cercetărilor actuale, deoarece stresul oxidativ este responsabil de numeroase afecțiuni inflamatorii, degenerative și neoplazice care afectează toate organele și țesuturile.

Ca și în cazul celorlalte organe, capacitatea funcțională a pielii se deteriorează în condiții patologice. Eliberarea exagerată a speciilor reactive de oxigen (ROS) și a speciilor reactive de azot (RNS), urmată de modificarea oxidativă a

lipidelor, proteinelor și acizilor nucleici contribuie la pierderea homeostaziei celulare (1, 2, 3)

În mod normal, în keratinocitele și fibroblastele dermice sunt generate constant ROS și RNS, specii care sunt rapid eliminate de antioxidanți neenzimatici (acid ascorbic, acid urocanic, melanoproteine, tocoferol, ubiquinol, glutatation) sau enzimatici (catalaza, superoxid dismutaze, tioredoxin-reductaze, glutatation-peroxidaze, glutatation-reductaze).

Modularea căilor de restabilire a echilibrului redox intracelular, identificarea unor compuși

* Institutul Național de Endocrinologie „C. I. Parhon”, București.

** Spitalul Clinic de Dermato- Venerice „Prof. Dr. Scarlat Longhin”, București.

*** Facultatea de Medicină, U.M.F. „Carol Davila”, București.

**** Institutul Național de Cercetare pentru Fizică și Inginerie Nucleară „Horia Hulubei”, București.

care să prevină distrucția indusă de radicalii liberi, constituie strategia cercetărilor expuse în această lucrare.

Un rol important în contracararea radicalilor liberi revine selenoproteinelor, motiv pentru care prezentăm în continuare activitățile biologice ale acestor proteine și abordările experimentale în contextul bolii neoplazice.(4, 5, 6, 7, 8, 9)

Superfamilia de selenoproteine cuprinde peste 30 de selenoproteine:

- ★ selenoenzime implicate în apărarea antioxidantă și reglarea redox (GPx, TRx reductaze, metionin sulfoxidreductaze) care reprezintă forma activă a seleniului;
- ★ iodotironin deiodinaze – selenoenzime implicate în metabolismul hormonilor tiroidieni;
- ★ proteine ce asigură transportul seleniului la țesuturile periferice – selenoproteina P (SeP) plasmatică.

Funcțiile biologice ale selenoproteinelor (4, 5, 7, 9) sunt:

- acțiunea antioxidantă;
- reglarea statusului redox;
- reglarea metabolismului hormonilor tiroidieni.

Seleniul este implicat, prin intermediul selenoproteinelor (2, 3) în:

- creșterea celulară, apoptoză, semnalizare celulară;
- acțiunea factorilor de creștere;
- fertilitate, funcția endocrina;
- funcția imună, moderarea răspunsului inflamator;
- prevenția cancerului, a bolilor cardiovasculare și a mutațiilor virale;
- dezvoltarea stărilor neurovegetative.

O atenție deosebită este acordată glutatation-peroxidazelor (GPx; EC 1.11.1.9), selenoproteine care catalizează conversia H_2O_2 , la H_2O și O_2 molecular, folosind glutatationul drept cosubstrat. Au fost caracterizate cinci glutatation peroxidaze seleniu-dependente la mamifere (4, 6, 8).

Pentru evaluarea interrelației seleniu – activitate glutatation-peroxidazică – proces neoplazic, obiectivele acestui studiu sunt următoarele:

- determinarea distribuției seleniului în organism în cursul bolii canceroase;

- evaluarea activității peroxidazice în ser, eritrocite și țesut la pacienții cu cancer cutanat, comparativ cu grupul de control;
- analiza statistică a datelor experimentale.

Materiale. Metode

Au fost incluși în studiu 96 bolnavi cu formațiuni cutanate precanceroase (7 cazuri cu boala Bowen, 10 cazuri cu keratoacantom) și maligne (37 cazuri cu carcinom bazocelular (BCC), 42 cazuri cu carcinom spinocelular (SCC)), la care diagnosticul clinic a fost confirmat prin examene paraclinice. În studiu a fost inclus și un grup control constituit din 30 de subiecți.

Studiile experimentale privind conținutul de seleniu din ser, urină și țesuturi s-au făcut prin metode fizice de analiză (INAA, PIXE) în cadrul Institutului National de Cercetare Dezvoltare pentru Fizică și Inginerie Nucleară „Horia Hulubei”, București.

Determinarea activităților glutatation-peroxidazice în ser, lizat eritrocitar și omogenat tisular s-a făcut prin metode spectrofotometrice la Centrul Național Dermatovenerian din cadrul Spitalului Clinic de Dermato-venerice „Prof. Dr. Scarlat Longhin”, București.

Analiza statistică a datelor a fost realizată folosind *Microsoft® Office Excel 2003 Analysis Tool Pack*. Studiul comparativ referitor la concentrațiile seleniului la grupurile luate în studiu a fost realizat folosind testul Mann-Whitney (testul U). Numai valorile $p < 0.05$ au fost considerate semnificative statistic.

Rezultate

În patologia cutanată se cunosc până în prezent puține date privind dinamica seleniului în organism. În acest studiu privind biodistribuția seleniului la bolnavii cu patologie cutanată, s-a constatat că serul bolnavilor cu keratoacantom și maladia Bowen nu conține mai puțin seleniu comparativ cu serul lotului martor (141 ± 2.6 vs. 138 ± 3.7 $\mu\text{g/L}$ ser, $U_c = 1.5$, $p = 0.13$, NS, la pacienții cu keratoacantom, respectiv 139 ± 1.2 vs. 138 ± 3.7 $\mu\text{g/L}$ ser, $U_c = 0.58$, $p > 0.05$, NS, la pacienții cu boala Bowen).

Seleniul din serul bolnavilor cu carcinoame cutanate (BCC și SCC) este semnificativ scăzut față de cel constatat la lotul martor (126 ± 4.5

Μg/L ser vs. 138 ± 3.7 Μg/L ser, $U_c = 4.76$, $p < 0.001$, respectiv 123 ± 6.3 vs. 138 ± 3.7 μg/L ser, $U_c = 5.57$, $p < 0.001$).

Carența de seleniu a fost observată cel mai mult la 3 pacienți cu carcinom spinocelular avansat la care s-a înregistrat și un nivel scăzut al protecției antioxidante. Acest fapt sugerează că deficitul de seleniu se instalează lent la pacienții cu cancer cutanat, înregistrându-se valori foarte scăzute la pacienții cu metastaze (89 ± 1.4 vs. 138 ± 3.7 μg/L ser, $U_c = 17.15$, $p < 0.0001$).

Tabelul 1. Valorile seleniului în ser la bolnavi cu tumori cutanate nonmelanotice comparativ cu valorile lotului martor

Lotul de studiu	Nr. cazuri	Se (μg/L ser)	Valoarea p
Control	30	138 ± 3.7	
Kerato-acantom	10	141 ± 2.6	$p = 0.13$, NS
Bowen	7	139 ± 1.2	$p > 0.05$, NS
BCC	37	126 ± 4.5	$p < 0.001$
SCC	42	109 ± 16.3	$p < 0.001$

Eliminarea seleniului prin urină la bolnavii cu patologie cutanată nu prezintă variații semnificative ($U_c = 0.51$, $p > 0.05$). (tabelul nr. 2)

Tabelul 2. Excreția urinară a Se la pacienți cu tumori cutanate

Lot	Nr. Pacienți	Se (μg/L)
Control	5	43.6 ± 8.3
Tumori nonmelanotice	11	41.1 ± 10.7

Studiile experimentale arată o legătură directă între cantitatea de seleniu din dietă și nivelul urinar al acestuia (10). Eliminarea seleniului prin fecale nu se corelează cu nivelul micronutrientului amintit. Pe baza acestor observații, se poate considera că rinichiul are rolul major în eliminarea excesului de seleniu furnizat din alimente.

În țesuturile tumorale, concentrația seleniului este crescută comparativ cu nivelul acestui microelement în țesutul cutanat normal (tabelul nr. 3). Datele obținute arată că în leziunile precanceroase și tumorile maligne se înregistrează valori crescute ale seleniului comparativ cu țesutul sănătos. Se observă creșteri ale seleniului de 1,94 ori în keratoacantom, de 1,77 ori în boala Bowen, respectiv 2,24 în carcinom bazocelular și 2,97 în carcinom spinocelular, față de țesutul peritumoral neimplicat în transformare.

Tabelul 3. Distribuția Se (μg/g țesut liofilizat) în țesuturi tumorale vs. țesuturi normale

Lotul de studiu	Nr. cazuri	Se (μg/g țesut)	Valoarea p
Control	30	5.41 ± 3.1	
Kerato-acantom	10	10.54 ± 2.1	$p < 0,05$
Boala Bowen	17	9.62 ± 3.7	$p < 0,05$
BCC	37	12.17 ± 4.1	$p < 0.001$
SCC	42	14.87 ± 6.2	$p < 0.001$

Aceste rezultate nu lămuresc interdependența presupusă inițial între dezvoltarea procesului tumoral și cantitatea de seleniu din diferite compartimente ale organismului. Faptul că acest microelement se acumulează în țesutul tumoral reflectă alterarea unor funcții metabolice la acest nivel, diferite ca intensitate de cele din țesutul normal. În acest context, determinarea activității glutatation-peroxidazice oglindește mai fidel rolul seleniului în metabolismul tumoral. Sinteza datelor referitoare la activitățile glutatation peroxidazice din serul pacienților cu tumori cutanate este prezentată în tabelul nr. 4.

Tabelul 4. Activități glutatation peroxidazice determinate în serul bolnavilor cu tumori cutanate comparativ cu lotul martor

Lotul de studiu	Nr. cazuri	GPx (U/L)	Valoarea p
Control	30	$218.6 \pm 12,3$	
Kerato-acantom	10	220.3 ± 16.5	$p > 0.05$, NS
Bowen	7	214.1 ± 10.2	$p > 0.05$, NS
BCC	37	196.2 ± 14.5	$p < 0.0001$
SCC	42	174.9 ± 20.8	$p < 0.0001$

Se constată că în tumorile spino- și bazocelulare activitățile antioxidante sunt reduse.

Analiza statistica a datelor obținute a demonstrat că nu există diferențe semnificative între valorile serice ale parametrilor studiat (activitatea serică a glutatation-peroxidazei, seleniul seric) la pacienții cu keratoacantom și valorile de la lotul de subiecți normali (tabel nr. 4). Nu s-au constatat modificări semnificative ale activității GPx nici la pacienții cu boala Bowen. În schimb, s-au obținut corelații pozitive, semnificative statistic, între activitatea serică a GPx de la pacienții cu carcinom bazocelular versus control, respectiv la pacienții cu carcinom spinocelular versus control.

Monitorizarea pacienților cu carcinom spinocelular a evidențiat valori semnificativ modificate ale seleniului și ale activității glutatation peroxidazice. La pacienții cu carcinom spinocelular nivelul seleniului este semnificativ scăzut, valori constatate și pentru activitatea glutatation-peroxidazică.

Ținând cont de faptul că în eritrocite se găsește o cantitate importantă de seleniu, loc în care sunt prezente și principalele enzime antioxidante, s-a determinat activitatea glutatation peroxidazică în lizatul eritrocitar (tabelul 5). Se observă o scădere accentuată a protecției antioxidante manifestată prin scăderea activității citoprotectoare la pacienții cu carcinoame cutanate comparativ cu pacienții cu stări precanceroase și martori.

Tabelul 5. Activitățile glutatation peroxidazei în hemolizat la pacienți cu carcinoame cutanate vs. control

Grupul de studiu	Nr. cazuri	GPx (U/mg Hb)	Valoarea p
Control	30	183 ± 31.5	
Kerato-acantom	10	186 ± 47.2	p > 0.05, NS
Bowen	7	179 ± 36.1	p > 0.05, NS
BCC	37	131 ± 41.5	p < 0.001
SCC	42	99 ± 38.5	p < 0.001

Activitatea glutatation peroxidazică este slab exprimată în celulele canceroase comparativ cu leziunile precanceroase și țesutul cutanat normal (tabelul 6).

Tabelul 6. Nivelul activității glutatation peroxidazice din țesutul tumoral vs. țesut normal

Grup	Nr. cazuri	GPx (U/g țesut)	Valoarea p
Control	30	16.42 ± 1.20	
Kerato-acantom	10	16.02 ± 1.25	p > 0.05, NS
Bowen	7	15.90 ± 2.14	p > 0.5, NS
BCC	37	10.80 ± 1.55	p < 0.001
SCC	36	9.98 ± 1.83	p < 0.001

Discuții

Reținerea sau redistribuirea seleniului în țesuturi este un proces preferențial. Keratinocitele exprimă deiodinaze, iar tioredoxinreductazele sunt prezente în fibroblaste, keratinocite și melanocite. Depleția de seleniu scade activitatea

deiodinazelor și reduce numărul celulelor Langerhans din piele și afectează imunitatea cutanată și protecția față de UV. Concentrații mici de selenit sau selenometionină protejează keratinocitele și melanocitele de moartea celulară indusă de UVB in vivo. (1, 4, 9, 15, 16)

Seleniul și selenoproteinele au un rol important în evoluția unui proces tumoral (3, 5, 7). Glutatation-peroxidazele catalizează reducerea diferiților hidroperoxizi utilizând capacitățile antioxidante ale tiolilor și ale seleniului. Valori scăzute ale glutatation-peroxidazei modifică statusul redox intracelular și determina acumularea H₂O₂ și a peroxidizilor fosfolipidici. Excesul de apă oxigenată amplifică reacția Fenton și generează radicali hidroxili foarte toxici. Alterarea activității și expresiei selenoproteinelor intracelulare crește riscul de malignizare a leziunilor displazice (10, 11, 12).

Seleniul influențează dezvoltarea cancerului prin reducerea proliferării celulare, inițierea apoptozei, protejarea DNA față de lezarea oxidativă (2, 5). Valori mari ale seleniului seric sunt asociate cu un risc redus de a dezvolta adenocarcinom esofagian la persoanele cu esofag Barrett, cancer esofagian spinocelular, gastric, pulmonar, hepatic, pancreatic. Seleniul seric nu se corelează cu markerii timpurii ai progresiei tumorale, mutațiile 17p(p53)LOH și 9p(p16)LOH. Seleniul acționează în stadiile târzii ale progresiei neoplazice. Alte studii au dovedit eficiența compușilor cu seleniu în inhibiția carcinogenezei colonului, ficatului, glandelor mamare, cancerului de piele (3, 4).

Inducerea apoptozei în celulele transformate este un important mecanism chemopreventiv. Apoptoza poate fi declanșată la concentrații micromolare de seleniu în celulele cu fenotip p53 null. Seleniul inhibă cdk2 (cell cycle protein kinase) și PKC și induce formarea aductelor prin modificarea resturilor de cisteină din proteine și formarea tranzitorie a intermediarilor reactivi ai seleniului (S-Se-S, S-Se, S-S) (2, 3, 6).

Un alt mecanism chemopreventiv facilitat de seleniu este reprezentat de formele reversibile SH/-S-S care afectează proteinele cu activitate redox și factorii de creștere. Există incertitudini legate de rolul selenoproteinelor în acest model de chemoprevenție, concretizate în efectul seleniului asupra sistemului tioredoxina/tioredoxin reductază. (13, 14). Reducerea tiore-

doxinei, inactivarea tioredoxin reductazei și formarea diselenitului induc rezistența celulară la reducere (8, 9).

Concluzii

Cunoașterea distribuției microelementelor în sisteme biologice este folositoare în înțelegerea fiziopatologiei cancerului. O scădere a statusului seleniului pare fi o consecință și nu o cauză a transformării neoplazice. Blocarea antagoniștilor fiziologici ai seleniului și selenoproteinelor ar putea influența eficiența metabolică a seleniului.

Notă: Elaborarea acestei lucrări s-a făcut în cadrul proiectului de cercetare „Noi abordări în studii biomedicale și de mediu, folosind metode atomice și nucleare” (SANBIMED -2- Cex-06-10-78/26.07.2006) din care au fost finanțate cercetările cuprinse în acest studiu.

Intrat în redacție: 29 august 2008

Bibliografie

1. Bhasin G, Kauser H, Athar M. – Free radical generating agents lead to the rapid progression of benign skin tumors to carcinoma in iron-overloaded mice, *Arch Toxicol* 2004, 78(3): 139-46.
2. Howard E. Ganther – Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: complexities with thioredoxin reductase, *Carcinogenesis*, vol. 20, no. 9, pp. 1657-1666, 1999.
3. Klotz L.O., Kroncke K. D. Buchczyk D. P. and Sies H. – Role of Copper, Zinc, Selenium and Tellurium in the Cellular Defense against Oxidative and Nitrosative Stress, *J. Nutr.* 133: 1448S–1451S, 2003.
4. Robinson M., Godfrey P., Thomson C., Rea H., and van Ryzjy A. – Blood selenium and glutathione peroxidase activity in normal subjects and in surgical patients with and without cancer in New Zealand, *Am. J. Clin. Nutr.* 32: 1477-1485, 1979.
5. Burk R., Hill K. and Motley A. – Selenium Metabolism and Function: Evidence for More than One Function for Selenoprotein P, *The American Society for Nutritional Sciences J. Nutr.* 133:1517S-1520S, May 2003.
6. Rudolph R., Vaughan T., Kristal A., Blount P., Levine D., Galipeau P., Prevo L., Sanchez C., Rabinovitch P., Reid B. – Serum Selenium Levels in Relation to Markers of Neoplastic Progression Among Persons With Barrett's Esophagus, *J Natl Cancer Inst* 2003;95:750–7.
7. Saito Y, Takahashi K – Selenium protein P: its structure and functions, *Journal of Health Science*, 46(6): 409-413 (2000).
8. Saito Y., Hayashi T., Tanaka A, Watanabe Y, Suzuki M, Saito E., Takahashi K, Selenium protein P in human plasma as an extracellular phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase, *The Journal of Biological Chemistry*, vol. 274, no. 5, pp. 2866-2871, 1999.
9. Fu Y., Cheng W., Ross D., Lei X. – Cellular glutathione peroxidase protects mice against lethal oxidative stress induced by various doses of diquat, *PSEBM*, 1999, vol. 222, p. 164-169.
10. Gromadzin'ska J., Wasowicz W., Sklodowska M., Bulikowski W., and Rydzyn'ski K. – The Influence of Atmospheric Chromium on Selenium Content and Glutathione Peroxidase Activity in Blood of Tannery Workers, *Environmental Health Perspectives* Volume 104, Number 12, December 1996.
11. Koçyigit, A. Erel O., Gürel M., Seyrek A., Aktepe N., Gür S., Avcı S. – Decreasing Selenium Levels and Glutathione Peroxidase Activity in Patients With Cutaneous Leishmaniasis, *Tr. J. of Medical Sciences* 29 (1999) 291-295.
12. Richardson D. – More roles for selenoprotein P: local selenium storage and recycling protein in the brain, *Biochem. J.* (2005) 386, e5–e7.
13. Beckett G., Arthur J. – Selenium and endocrine systems, *Journal of Endocrinology* (2005) 184, 455–465.
14. Kohrle J., Jakob F., Contempre B., Dumont JE – Selenium, the thyroid, and the endocrine system, *Endocrine Reviews*, 26(7):944-984, 2005.
15. Pence B., Delver E., Dunn D. – Effect of dietary selenium on UVB-induced skin carcinogenesis and epidermal antioxidant status, *J Invest Dermatol*, 102: 759-761, 1994.
16. Rafferty, T., Mckenzie R., Hunter J., Howie A., Arthur J., Nicol F. And Beckett G. – Differential expression of selenoproteins by human skin cells and protection by selenium from UVB-radiation-induced cell death, *Biochem. J.* (1998) 332, 231-236.

Adresa de corespondență:

Dr. Sorina Schipor

E-mail: sorina_schipor@yahoo.com

COSMODERM ediția a XIII-a

Atena, 12-14 decembrie 2008

**Organizatori: ESCAD împreună cu Societatea Elenă
de Dermatologie și Venerologie**

Programul științific al manifestării cuprinde toate subiectele „fierbinți”, noutățile din domeniu și noile metode terapeutice dermato-cosmetice. Obiectivul principal al evenimentului este de a reuși un echilibru între știință și medicina estetica preventivă și cea terapeutică. Invitați din toată Europa vor împărtăși experiența lor în domenii actuale precum: lasere, toxina botulică, fillere, peeling chimic și metode de încetinire a îmbătrânirii pielii.

Pentru mai multe detalii, vă recomandăm să vizitați site-ul oficial al Congresului:

<http://www.cosmoderm2008.gr>