

*Adam Daragó, Andrzej Sapota¹, Marzenna Nasiadek, Michał Klimczak,
Elżbieta Bruchajzer, Anna Kilanowicz*

WPŁYW PODPRZEWLEKŁEJ SUPLEMENTACJI CYNKIEM I/LUB SELENEM SAMCÓW SZCZURÓW WISTAR NA HOMEOSTAZĘ TYCH BIOPIERWIASTÓW W NERCIE*

Zakład Toksykologii
Uniwersytetu Medycznego w Łodzi
Kierownik Zakładu: dr hab. *A. Kilanowicz*, prof. UM

¹ Społeczna Akademia Nauk w Łodzi

Celem pracy było sprawdzenie, czy podprzewlekła suplementacja samców szczurów rasy Wistar cynkiem i/lub selenem podawanych razem lub osobno wpływa na homeostazę tych biopierwiastków w nerkach oraz wybrane parametry stresu oksydacyjnego w tym narządzie.

Hasła kluczowe: cynk, selen, suplementacja, nerka, glutation, dialdehyd malonowy, triglicerydy, cholesterol, szczury.

Key words: zinc, selenium, supplementation, kidney, glutathione, malondialdehyde, triglycerides, cholesterol, rats.

Zainteresowanie suplementacją cynkiem i/lub selenem w kontekście ochrony organizmu przed chorobami, w tym także nowotworem gruczołu krokowego (PCa) (szczególnie mężczyzn po 65. roku życia) trwa nieprzerwanie już od kilkudziesięciu lat (1). Wynika to z faktu, iż wiele badań wprost sugeruje, że obniżone poziomy cynku w prostatie mogą odgrywać istotną rolę w etiologii nowotworu prostaty (2). Świadczy o tym pośrednio fakt, że u większości pacjentów z rakiem gruczołu krokowego, stężenia cynku są istotnie niższe w porównaniu z tkanką zdrową (grupa kontrolna) (3). Również wyniki wielu badań epidemiologicznych, zarówno retrospektywnych, jak i prospektywnych (choć należy podkreślić, że nie wszystkie) (4) wskazują, że suplementacja cynkiem ma potencjał terapeutyczny, np. w łagodnym rozroście prostaty (BPH) i raku gruczołu krokowego (PCa) (2).

Podobne wyniki badań opublikowano dla selenu. W różnych doniesieniach opisywano, że wysoki status selenu w diecie przyczynia się do istotnego obniżenia zapadalności na różne nowotwory, w tym także na raka prostaty (5). Zmniejszone ryzyko zachorowania na raka prostaty przedstawiono także w badaniach amerykańskich (NPC), które przeprowadzono w grupie 1312 osób z niskim stężeniem Se we krwi, których przez 4,5 roku suplementowano selenem w formie drożdży sele-

* Praca finansowana z działalności statutowej Uniwersytetu Medycznego w Łodzi (Nr 503/3-045-01/503-31-001)

nowych w wysokiej dawce 200 µg/dzień (6). U mieszkańców Qidong w Chinach – uważanych za populację wysokiego ryzyka zapadalności na pierwotnego raka wątroby – poddanych suplementacji selenem przez 8 lat to ryzyko istotnie się obniżyło (7). Doniesienia te wskazują, że selen, mimo potencjalnej toksyczności, uznaje się za czynnik antykancerogeny. Chemoprotekcyjne właściwości selenu u ludzi jako pierwsi opisali *Shamberger* i *Frost* już w 1969 r. (8). Od tego czasu opisano wiele badań przeprowadzonych *in vivo*, w których udowodniono, że suplementacja tym pierwiastkiem skutecznie chroni zwierzęta doświadczalne przed nowotworami indukowanymi przez kancerogeny chemiczne (9). Wielu badaczy sugeruje, że selen zapobiega złośliwej proliferacji komórek oraz działa jako „przełącznik redoks”, aktywujący lub inaktywujący komórkowe czynniki wzrostu, głównie na drodze utleniania lub redukcji zewnętrznych grup tiolowych (–SH) i mostków disiarczkowych, co zależy m.in. od stężenia wewnątrzkomórkowego zredukowanego glutationu (GSH) i dostępności tlenu (10). Za antyproliferacyjne działanie selenu może także odpowiadać bezpośrednio selenodiglutation, powstający w reakcji zredukowanego glutationu z seleninem (11).

Na potrzebę suplementacji, zarówno selenem, jak i cynkiem (szczególnie u ludzi starszych) wydają się wskazywać także liczne badania przeprowadzone w różnych krajach Europy. Dość jednoznacznie wynika z nich, że u Europejczyków (niezależnie od kraju), często występują niedobory cynku i selenu (12, 13). Dane pochodzące z badania NHANES III wskazują m.in., że u osób dorosłych w wieku 60 lat lub starszych niedobory cynku mogą być znaczące – często poniżej 50% RDA (zalecanego dziennego spożycia) (14). Przyjmuje się, że referencyjne spożycie cynku dla populacji europejskiej (15) dla dorosłych mężczyzn i kobiet wynosi odpowiednio: 9,5 mg/dobę i 7,0 mg/dobę. Z kolei zalecane dzienne spożycie selenu (wg różnych źródeł) powinno wynosić 55–60 µg/dobę dla kobiet i 60–70 µg/dobę dla mężczyzn, stąd optymalna dzienna dawka dla osób dorosłych (a zwłaszcza w podeszłym wieku) została oszacowana na 100 µg/dobę (16).

Przytoczone powyżej badania potwierdzają potrzebę suplementacji pierwiastkami niezbędnymi osób starszych. Należy jednak pamiętać, że wraz z wiekiem starzeniu ulegają także nerki. Starzenie nerek obejmuje zmniejszenie nerkowego przepływu krwi oraz filtracji kłębuszkowej. W konsekwencji zmian w obrębie cewek nerkowych zmniejsza się m. in. zdolność nerek do zagęszczania i rozcieńczania moczu (17). Oznacza to, że z wiekiem będzie m.in. wydłużał się czas potrzebny na wydalanie substancji dostarczanych do organizmu, np. w drodze suplementacji. W przypadku takich pierwiastków jak selen, który odznacza się stosunkowo wąskim indeksem terapeutycznym zawsze istnieje potencjalne ryzyko niekorzystnego wpływu suplementacji na nerki. Przyjmuje się, że bezpieczna dawka Se stosowana w suplementacji wynosi 200 µg/dobę (11).

Ponieważ często zalecana u ludzi suplementacja cynkiem i selenem jest prowadzona łącznie, celem tej pracy jest sprawdzenie, czy podprzewlekle podawanie drogą dożołądkową samcom szczurów rasy Wistar cynku i/lub selenu podawanych razem wpływa na ich homeostazę w nerkach oraz na wybrane parametry stresu oksydacyjnego w tym narządzie. Dodatkowo w pracy dokonano oceny profilu gospodarki lipidowej: oznaczono poziom triglicerydów, cholesterolu i lipoprotein wysokiej gęstości (HDL) w osoczu.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenia przeprowadzono na 180 samcach szczurów Wistar, w wieku 16 tygodni (w dniu rozpoczęcia eksperymentu), o masie ciała 290–320 g. Zwierzęta pochodziły z hodowli Zwierzętarni Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Szczury karmione były paszą standardową „Murigran” i otrzymywały wodę *ad libitum*. Eksperyment prowadzono zgodnie z procedurami i obowiązującym w Polsce prawem (18), po uzyskaniu wcześniej zgody Lokalnej Komisji Etycznej ds. Doświadczeń na Zwierzętach (Uchwała nr 43/LB479/2009). Praca była finansowana przez Narodowe Centrum Nauki w ramach grantu NN 405 6118 38.

Zwierzęta podzielono na 5 grup badawczych i 1 grupę kontrolną, po 30 samców w każdej grupie. Badanym zwierzętom podawano wodne roztwory: glukonianu cynku (Alfa Aesar GmbH & Co KG) i/lub związki selenu (selenin sodu, Sigma-Aldrich Co. lub selenometioninę, Sigma-Aldrich Co.). Podawane dawki dobowe biopierwiastków w poszczególnych grupach wynosiły: (I) 5,0 mg Zn/kg m.c. (w postaci glukonianu cynku), (II) 2,8 µg Se/kg m.c. – w postaci seleninu sodu, (III) 2,8 µg Se/kg m.c. – w postaci selenometioniny. Pozostałe dwie grupy badawcze otrzymywały oba pierwiastki: 5,0 mg Zn/kg m.c. (w postaci glukonianu cynku) i 2,8 µg Se/kg m.c. – w postaci seleninu sodu (grupa IV) oraz 5,0 mg Zn/kg m.c. (w postaci glukonianu cynku) i 2,8 µg Se/kg m.c. – w postaci selenometioniny (grupa V).

Szczury z grup badawczych otrzymywały w/w roztwory codziennie drogą dożołądkową (*intragastrically, i.g.*) za pomocą sondy. Grupie kontrolnej podawano analogicznie *vehiculum* (wodę wodociągową, *i.g.*). Zastosowane dawki selenu u szczurów odpowiadają średnim poziomom zalecanej dawki do suplementacji u ludzi (tj. 200 µg/dobę).

Po 30, 60 i 90 dniach ekspozycji oraz po 3 i 6 miesiącach obserwacji, czyli po 90 i 180 dniach od zakończenia podawania związków, wybrane losowo zwierzęta z grup badanych i z grupy kontrolnej (po 6 zwierząt z każdej grupy) poddawano eutanazji przez skrwawienie punkcją dosercową w lekkiej narkozie CO₂.

Do oznaczeń pobierano krew i nerki. W osoczu krwi oznaczano poziom triglicerydów, cholesterolu i lipoprotein wysokiej gęstości (HDL) za pomocą testów: TRIGS TR-210, CHOL CH201 i HDL CH203 (Randox Laboratories). W nerkach oznaczono stężenie cynku i miedzi metodą absorpcyjnej spektrometrii atomowej w wersji płomieniowej (GBC, Avanta PM). Oznaczenie selenu wykonano zmodyfikowaną metodą wg *Dancha* i *Drożdża* (19) za pomocą spektrofluorymetru (Hitachi, F-4500). Ponadto, w homogenatach nerek oznaczono: stężenie zredukowanego glutationu (GSH) metodą wg *Sedlaka* i *Lindsaya* (20) oraz stężenie dialdehydu malonowego (MDA – wskaźnika peroksydacji lipidów) metodą *Mihara* i *Uchiyama* (21).

W oznaczeniach stężeń biopierwiastków w materiale biologicznym zastosowano wewnętrzną laboratoryjną kontrolę jakości, która była oparta na liofilizowanej wątrobie wołowej – SRM 1577b (National Institute of Standards & Technology, Gaithersburg, USA). Materiał odniesienia zawierał cynk, miedź i selen w stężeniach odpowiednio 127±16, 160±8 i 0,73±0,06 µg/g. Względne odchylenia standardowe uzyskane w oznaczeniach materiałów referencyjnych wynosiły: 0,3% dla cynku, 8,3% dla miedzi i 3,5% dla selenu.

Statystyczne opracowanie wyników przeprowadzono za pomocą programu STATISTICA 10.0 (StatSoft Inc., USA). Istotność różnic ($p \leq 0,05$) dla wybranych parametrów wyliczono stosując test Tukey'a, po sprawdzeniu jednorodności wariancji testem Bartlett'a.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Z uwagi na istotną biologicznie rolę pierwiastków niezbędnych w organizmie, ich poziomy w poszczególnych narządach są bardzo ważne dla utrzymania homeostazy. Należy jednak pamiętać, że suplementacja biopierwiastkami może prowadzić do zachwiania równowagi i wystąpienia interakcji między nimi. Długotrwała suplementacja cynkiem może być m.in. przyczyną zaburzonego wchłaniania miedzi, prowadząc do niedoboru tego pierwiastka – udowodniono bowiem, że miedź i cynk konkurują ze sobą.

W przeprowadzonych badaniach nie zaobserwowano istotnego statystycznie wpływu suplementacji cynkiem i/lub selenem na stężenia miedzi w nerkach (tab. I). Po podawaniu cynku (niezależnie czy samego, czy też łącznie z selenem), istotny wzrost stężenia tego pierwiastka w nerkach stwierdzono jedynie po pierwszym miesiącu podawania. Natomiast efektu takiego nie obserwowano zarówno po 2 i 3 miesiącach suplementacji, jak i w późniejszym okresie 6-miesięcznej obserwacji (tab. I). Z kolei istotny wzrost stężenia selenu zaobserwowano dopiero po 2 i 3 miesiącach podawania tego pierwiastka. Efekt taki stwierdzono u wszystkich grup suplementowanych selenem (zarówno oddzielnie, jak i łącznie z cynkiem). W okresie 6-miesięcznej obserwacji poziomy cynku i selenu nie różniły się w porównaniu do grupy kontrolnej. Nie stwierdzono także znaczących różnic w poziomach selenu w nerkach po podaniu tego pierwiastka zarówno w postaci połączenia organicznego, jak i nieorganicznego. Istnieją jednak dane, z których wynika, że działanie selenu na organizmy żywe może być uzależnione nie tylko od jego ilości/dawki, ale także od postaci chemicznej, w jakiej jest do organizmu dostarczany, co wynika ze zróżnicowanej biodostępności (10).

Wiadomo także, że selen podawany w wysokich dawkach może powodować np. nasilenie stresu oksydacyjnego, natomiast w dawkach terapeutycznych obserwuje się efekt odwrotny. W przedstawionych badaniach, analiza parametrów stresu oksydacyjnego – w tym GSH i MDA – nie wykazała wpływu długotrwałej suplementacji szczurów selenem podawanym oddzielnie lub łącznie z cynkiem na te parametry w nerce (ryc. 1). Dobrana do suplementacji dawka selenu była zatem dawką bezpieczną.

Suplementacja cynkiem może m.in. prowadzić do interakcji z miedzią. Jak wynika z piśmiennictwa, zaburzona proporcja między miedzią a cynkiem w diecie na korzyść miedzi może prowadzić do hipercholesterolemii (22). U ludzi starszych, u których stwierdza się zaburzony stosunek Cu/Zn (wzrost) obserwuje się zwiększenie zapadalności na różne choroby, w tym układu krążenia. Dlatego też w obecnej pracy oprócz poziomów Zn i Se w nerce zmierzono także stężenia Cu. W przeprowadzonym doświadczeniu nie stwierdzono istotnych różnic w stosunkach Cu/Zn w nerce (tab. I).

Tab e l a I. Poziomy cynku, miedzi i seleniu w nerkach szczura po podaniu glukonianu cynku „Zn” i/lub różnych form seleniu (selenianu sodu „Se” lub selenometioniny „SeMet”) po 30, 60 i 90 dniach podawania oraz po 90 i 180 dniach od zakończenia podawania

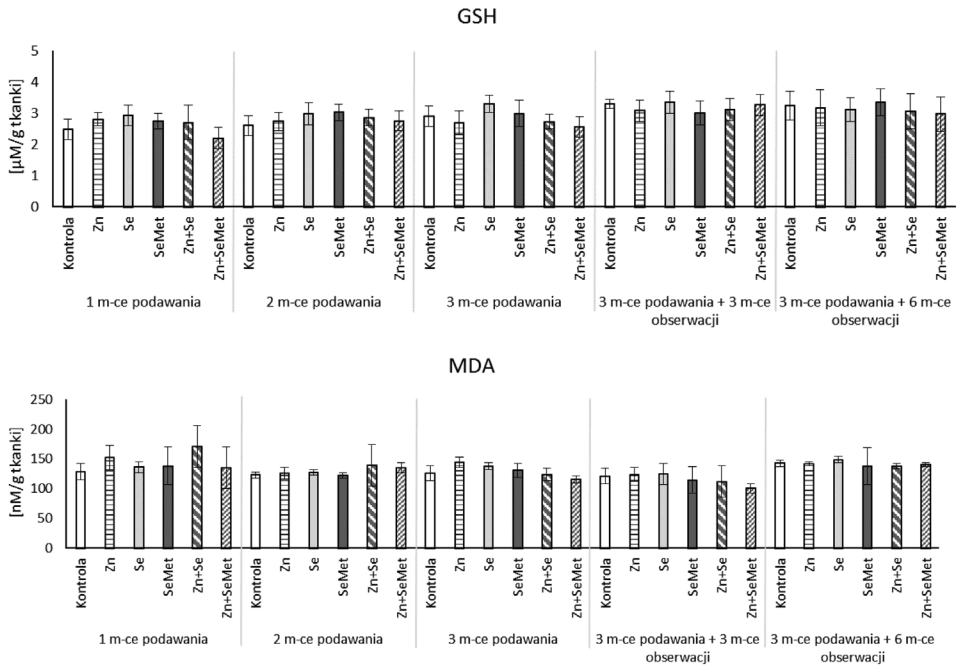
Table I. Zinc, copper and selenium level in kidney of rats following zinc gluconate (Zn) and different form of selenium (sodium selenite (Se) or selenomethionine (SeMet) administration given jointly or separately for 30, 60 and 90 days and then after 90 and 180 days post administration

	Zn	Cu	Se	Cu/Zn
(µg/g mokrej tkanki)				
Okres podawania				
30 dni				
Kontrola	31,18±1,61	15,42±2,99	2,07±0,06	0,49
Zn	35,33±2,10*	15,93±2,99	2,14±0,07	0,45
Se	33,38±3,42	14,10±2,98	2,16±0,10	0,42
SeMet	32,98±3,89	16,31±3,13	2,27±0,24	0,49
Zn+Se	35,99±2,46*	13,49±2,47	2,19±0,13	0,37
Zn+SeMet	35,44±2,94*	15,75±3,49	2,24±0,08	0,44
60 dni				
Kontrola	30,50±2,19	15,43±2,97	2,13±0,06	0,51
Zn	30,27±2,14	17,00±2,82	2,24±0,08	0,56
Se	31,43±3,59	20,22±2,52	2,44±0,16*	0,64
SeMet	25,67±3,79	17,64±1,60	2,59±0,10*	0,69
Zn+Se	25,79±2,34	15,50±6,19	2,53±0,27*	0,60
Zn+SeMet	24,24±2,57	15,89±3,56	2,51±0,24*	0,66
90 dni				
Kontrola	28,62±1,81	17,32±2,89	2,04±0,16	0,57
Zn	26,59±1,53	14,29±2,17	2,18±0,13	0,54
Se	24,09±1,26	14,51±1,63	2,38±0,09*	0,60
SeMet	25,61±2,59	13,89±1,24	2,39±0,03*	0,54
Zn+Se	30,47±2,94	13,48±2,69	2,31±0,09*	0,44
Zn+SeMet	31,00±3,14	12,95±2,77	2,33±0,10*	0,42
Okres obserwacji				
90 dni				
Kontrola	31,83±3,11	18,66±1,22	2,05±0,16	0,59
Zn	30,10±3,96	18,22±2,41	2,00±0,15	0,61
Se	34,09±2,04	18,15±2,04	2,29±0,27	0,53
SeMet	35,86±6,21	19,19±2,10	2,08±0,16	0,54
Zn+Se	34,44±2,65	17,15±2,91	2,25±0,19	0,50
Zn+SeMet	34,94±4,37	16,89±2,81	2,11±0,12	0,48
180 dni				
Kontrola	31,04±4,27	16,53±2,18	2,02±0,11	0,53
Zn	27,15±4,04	15,90±1,82	2,08±0,17	0,59
Se	28,33±3,76	14,50±1,17	2,20±0,10	0,51
SeMet	27,87±4,33	14,24±1,88	2,25±0,18	0,51
Zn+Se	24,63±2,91	14,88±1,15	2,11±0,04	0,60
Zn+SeMet	27,02±2,15	15,46±1,55	2,28±0,26	0,57

* Wynik znamieny względem kontroli, dla przedziału ufności (CI): 95%

Table II. Poziomy triglicerydów, HDL i cholesterolu całkowitego oraz stosunek HDL do cholesterolu całkowitego w osoczu szczura po podaniu glukonianu cynku „Zn” i/lub różnych form selenu (selenianu sodu „Se” lub selenometioniny „SeMet”) po 30, 60 i 90 dniach podawania oraz po 90 i 180 dniach od zakończenia podawania
 Table II. Levels of triglycerides, HDL and total cholesterol, and the ratio of HDL to total cholesterol in rat plasma following zinc gluconate (Zn) and different form of selenium (sodium selenite (Se) or selenomethionine (SeMet)) administration given jointly or separately for 30, 60 and 90 days and then after 90 and 180 days post administration

	Triglicerydy (mmol/dm ³)	HDL (mmol/dm ³)	Cholesterol całkowity (mmol/dm ³)	HDL/Cholesterol całkowity
Okres podawania				
30 dni				
Kontrola	0,73±0,12	1,25±0,26	1,60±0,45	0,78±0,08
Zn	0,98±0,17	0,93±0,08	1,40±0,17	0,67±0,09
Se	1,07±0,29	1,00±0,11	2,05±0,33	0,66±0,05
SeMet	1,12±0,21	1,22±0,11	2,48±0,49	0,64±0,08
Zn+Se	0,86±0,30	1,24±0,15	2,69±0,75	0,59±0,11
Zn+SeMet	0,87±0,35	1,26±0,12	2,46±0,46	0,58±0,09
60 dni				
Kontrola	0,78±0,11	1,40±0,32	1,71±0,50	0,79±0,16
Zn	0,98±0,18	1,05±0,31	1,78±0,23	0,57±0,15
Se	1,07±0,24	0,95±0,17	2,33±0,41	0,50±0,14
SeMet	1,02±0,07	0,94±0,17	2,41±0,52	0,58±0,15
Zn+Se	0,84±0,32	0,99±0,12	2,22±0,43	0,60±0,09
Zn+SeMet	1,16±0,11	0,95±0,18	2,21±0,24	0,58±0,12
90 dni				
Kontrola	0,74±0,11	1,48±0,23	1,99±0,34	0,73±0,11
Zn	1,00±0,34	1,73±0,17	1,62±0,26	0,60±0,06
Se	0,94±0,30	1,78±0,19	2,40±0,24	0,75±0,09
SeMet	0,88±0,34	1,59±0,22	2,54±0,49	0,65±0,10
Zn+Se	0,74±0,32	1,41±0,09	2,71±0,41	0,59±0,09
Zn+SeMet	0,75±0,22	1,31±0,19	2,68±0,52	0,58±0,12
Okres obserwacji				
90 dni				
Kontrola	1,70±0,22	1,30±0,26	1,70±0,17	0,77±0,03
Zn	1,44±0,22	1,21±0,36	1,47±0,70	0,74±0,09
Se	1,59±0,22	0,98±0,18	1,37±0,35	0,61±0,08
SeMet	1,39±0,45	0,99±0,16	1,50±0,30	0,73±0,12
Zn+Se	1,46±0,42	1,09±0,40	1,65±0,58	0,65±0,11
Zn+SeMet	1,37±0,20	0,99±0,13	1,68±0,40	0,65±0,11
180 dni				
Kontrola	1,14±0,24	1,18±0,15	1,37±0,36	0,76±0,10
Zn	1,13±0,29	1,17±0,26	1,80±0,35	0,61±0,11
Se	1,15±0,17	1,12±0,13	1,61±0,31	0,67±0,14
SeMet	1,33±0,22	1,06±0,17	1,67±0,35	0,65±0,11
Zn+Se	1,18±0,27	1,08±0,10	1,44±0,35	0,77±0,14
Zn+SeMet	1,12±0,13	1,36±0,16	1,87±0,41	0,71±0,13



Ryc. 1. Stężenia GSH i MDA w nerkach szczurów po podaniu glukonianu cynku „Zn” i/lub różnych form selenu (selenianu sodu „Se” lub selenometioniny „SeMet”) po 30, 60 i 90 dniach podawania oraz po 90 i 180 dniach od zakończenia podawania.

Fig. 1. Concentrations of GSH and MDA in rats' kidneys following zinc gluconate (Zn) and different form of selenium (sodium selenite (Se) or selenomethionine (SeMet)) administration given jointly or separately for 30, 60 and 90 days and then after 90 and 180 days post administration.

Podprzewlekła suplementacja szczurów cynkiem i/lub selenem nie spowodowała także zaburzeń w parametrach biochemicznych we krwi, które świadczyłyby o hipercholesterolemii (tab. II). Niemniej jednak z danych literaturowych wynika, że podanie szczurom Se i Zn w wyższych dawkach może działać korzystnie na gospodarkę lipidową poprzez obniżenie całkowitego cholesterolu oraz wzrost frakcji HDL (23, 24).

WNIOSKI

Uzyskane wyniki pozwalają stwierdzić, że nawet długotrwała suplementacja szczurów selenem i/lub cynkiem w zastosowanych dawkach (zbliżonych do dziennego zapotrzebowania ludzi na te pierwiastki) nie zaburza ich homeostazy w nerkach.

Zastosowane modele suplementacji nie indukują stresu oksydacyjnego, wyrażonego stężeniem GSH i MDA w nerkach.

Suplementacja szczurów selenem i/lub cynkiem nie spowodowała zaburzeń w gospodarce lipidowej.

A. Daragó, A. Sapota, M. Nasiadek, M. Klimczak,
E. Bruchajzer, A. Kilanowicz

THE INFLUENCE OF SUBCHRONIC ZINC AND/OR SELENIUM SUPPLEMENTATION IN
WISTAR RATS ON HOMEOSTASIS OF THESE BIOELEMENTS IN THE KIDNEY.

Summary

An interest in a protective supplementation with zinc and selenium in cancer diseases (including prostate cancer) and cardiovascular diseases lasts from many years. The purpose of the study was to determine whether subchronic supplementation of male Wistar rats with zinc and/or selenium, administered together or separately, influence on the homeostasis of these elements in kidney and selected oxidative stress parameters in this organ. The results show that the supplementation of zinc and/or selenium lasting up to three months in rats at doses used in this study, which were similar to daily human demand for these elements does not affect the homeostasis of these elements in the kidney as well as does not interfere with selected parameters of renal oxidative stress and does not lead to disturbances in the lipid profile.

PIŚMIENNICTWO

1. *Kolenko V., Teper E., Kutikov A., Uzzo R.*: Zinc and zinc transporters in prostate carcinogenesis. *Nat. Rev. Urol.*, 2013; 10: 219-226. – 2. *Franklin R.B., Costello L.C.*: Zinc as an anti-tumor agent in prostate cancer and in other cancers. *Arch. Biochem. Biophys.*, 2007; 463: 211-217. – 3. *Sapota A., Darago A., Taczalski J., Kilanowicz A.*: Disturbed homeostasis of zinc and other essential elements in the prostate gland dependent on the character of pathological lesions. *Biometals*, 2009; 22: 1041-1049. – 4. *Kristal A.R., Arnold K.B., Schenk J.M., Neuhouser M.L., Weiss N., Goodman P., Antvelink C.M., Penson D.F., Thompson I.M.*: Race/ethnicity, obesity, health related behaviors and the risk of symptomatic benign prostatic hyperplasia: results from the prostate cancer prevention trial. *J. Urol.*, 2007; 177(4): 1395-1400. – 5. *Dennert G., Zwahlen M., Brinkman M., Vinceti M., Zeegers M.P., Horneber M.*: Selenium for preventing cancer. *Cochrane Database Syst. Rev.*, 2011; 11: CD005195. – 6. *Yang L., Pascal M., Wu X.H.*: Review of selenium and prostate cancer prevention. *Asian Pac. J. Cancer Prev.*, 2013; 14(4): 2181-2184. – 7. *Yu S.Y., Zhu Y.J., Li W.G.*: Protective role of selenium against hepatitis B virus and primary liver cancer in Qidong. *Biol. Trace Elem. Res.*, 1997; 56(1): 117-124. – 8. *Shamberger R.J., Frost D.V.*: Possible protective effect of selenium against human cancer. *Can. Med. Assoc. J.*, 1969; 100(14): 682. – 9. *El-Bayoumy K., Sinha R.*: Mechanisms of mammary cancer chemoprevention by organoselenium compounds. *Mutat. Res.*, 2004; 551(1-2): 181-197. – 10. *Misra S., Boylan M., Selvam A., Spallholz J.E., Björnstedt M.*: Redox-active selenium compounds-from toxicity and cell death to cancer treatment. *Nutrients*, 2015; 7(5): 3536-3556.
11. *Fernandes A.P., Gandin V.*: Selenium compounds as therapeutic agents in cancer. *Biochim. Biophys. Acta*, 2015; 1850(8): 1642-1660. – 12. *Kanoni S., Dedoussis G.V., Herbein G., Fulop T., Varin A., Jajte J., Rink L., Monti D., Mariani E., Malavolta M., Giacconi R., Marcellini F., Mocchegiani E.*: Assessment of gene-nutrient interactions on inflammatory status of the elderly with the use of a zinc diet score-ZINCAGE study. *J. Nutr. Biochem.*, 2010; 21(6): 526-531. – 13. *González S., Huerta J.M., Fernández S., Patterson E.M., Lasheras C.*: Food intake and serum selenium concentration in elderly people. *Ann. Nutr. Metab.*, 2006; 50(2): 126-131. – 14. *Dixon L.B., Winkleby M.A., Radimer K.L.*: Dietary intakes and serum nutrients differ between adults from food-insufficient and food-sufficient families: Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994. *J. Nutr.*, 2001; 131: 1232-1246. – 15. European Commission, Scientific Committee on Food. Opinion of the Scientific Committee on Food on the Tolerable Upper Intake Level of Zinc. SCF/CS/NUT/UPPLEV/62 Final 19 March 2003. – 16. *Wąsowicz W., Pytlińska E., Gromadzińska J., Bertrand J., Klos A., Skibniewska K., Daragó A.*: Daily selenium, zinc and copper intake in two populations of healthy individuals in Poland Preliminary study. *Pol. J. Environ. Study*, 2006; 15(2a): 529-532. – 17. *Wieczorowska-Tobis K.*: Zmiany narządowe w procesie starzenia. *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 2008; 118: 63-69. – 18. *Dziennik Ustaw*, Nr 33, poz. 289. Ustawa z dnia 21 stycznia 2005 r. o doświadczeniach na zwierzętach, 2005. – 19. *Danch A., Drozd M.*: A simplified technique of fluorometric selenium assay in biological material. *Diagn. Lab.*, 1996; 32: 529-534. – 20. *Sedlak I., Lindsay R.H.*: Estimation of total protein bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. *Anal. Biochem.*, 1968; 25: 192-205.

21. *Uchiyama M., Mihara M.*: Determination of malonaldehyde precursor in tissues by thiobarbituric acid test. *Anal. Biochem.*, 1978; 86: 271-278. – 22. *Muhammad S.A., Bilbis L.S., Saidu Y., Adamu Y.*: Effect of antioxidant mineral elements supplementation in the treatment of hypertension in albino rats. *Oxid. Med. Cell. Longev.*, 2012; 2012: 134723. – 23. *Myśliwiec, Z., Machoy-Mokrzynska, A., Juzyszyn, Z., Czerny, B., Put, A.*: Effects of selenium on serum lipids and enzyme activities in fluoride-intoxicated rats. *Fluoride*, 2002; 3(35): 168-175. – 24. *Ranasinghe P., Wathurapatha W.S., Ishara M.H., Jayawardana R., Galappathy P., Katulanda P., Constantine G.R.*: Effects of Zinc supplementation on serum lipids: a systematic review and meta-analysis. *Nutr. Metab.*, 2015; 12: 26-42.

Adres: 90-151 Łódź, ul. Muszyńskiego 1