

◇临床研究◇

硒元素及硒蛋白在糖尿病肾病中的表达变化

黄芙萌, 赵 莉, 程丽荣, 陈 钊, 付荣国, 田李芳

(西安交通大学第二附属医院肾病内科, 陕西西安 710004)

摘要:目的 检测糖尿病肾病(DN)患者血浆及全血中硒元素含量,以及高糖条件下人肾小球系膜细胞中硒蛋白的表达变化,探究硒与DN的关系。方法 收集正常对照及DN患者全血及血浆,用原子吸收光谱法检测血浆和全血中的硒元素含量;用30 mmol/L的高糖刺激人肾小球系膜细胞,实时定量PCR检测人类硒蛋白表达谱的变化;非配对 t 检验和Pearson相关分析检验组间差异及指标间的相关关系。结果 DN患者血浆($P<0.0001$)及全血($P<0.001$)中的硒含量与对照组相比均显著降低。患者血浆硒含量与血尿素氮及血肌酐水平呈负相关($r=-0.368$ 、 -0.413),与糖化血红蛋白水平也呈负相关($r=-0.400$)。人肾小球系膜细胞在高糖刺激24 h后硒蛋白Gpx1、TrxR2、TrxR3、Dio2、Dio3、SelK、SelN、SelP、SelR、SelT、SelW、SPS2的表达显著降低,初步筛选出了有表达差异的硒蛋白。结论 DN患者体内存在明显低硒状态,高糖环境下人肾小球系膜细胞一些硒蛋白的表达显著降低,为阐明低硒敏感的硒蛋白在DN发生发展中的作用提供了临床和实验依据。

关键词:糖尿病肾病;硒元素;硒蛋白

中图分类号:R587.2 **文献标志码:**A

DOI:10.7652/jdyxb201804023

Changes of selenium and selenoprotein expressions in diabetic nephropathy

HUANG Fu-meng, ZHAO Li, CHENG Li-rong, CHEN Zhao, FU Rong-guo, TIAN Li-fang

(Department of Nephrology, the Second Affiliated Hospital of
Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China)

ABSTRACT: Objective To explore the relationship between selenium and diabetic nephropathy (DN) by determining the selenium content in the plasma and whole blood of DN patients and the changes of selenoprotein expressions in human mesangial cells stimulated by high glucose. Methods We collected the samples and clinical indicators of DN patients and healthy controls to determine selenium content by atomic absorption spectrometry method. The mRNA in human mesangial cells was isolated after stimulation with 30 mmol/L of glucose for 24 hours by Trizol method to detect the changes of selenoprotein expressions by Real-time PCR. We analyzed the differences between DN patients and healthy controls and the relationship between clinical indicators by unpaired t -test and Pearson correlation analysis, respectively. Results The selenium contents in the plasma ($P<0.0001$) and whole blood ($P<0.001$) were significantly lower in DN patients than in the healthy controls. In addition, plasma selenium contents had a significant negative correlation with renal function and a positive correlation with glycosylated hemoglobin in DN patients. Among the 21 human selenoproteins, the mRNAs of Gpx1, TrxR2, TrxR3, Dio2, Dio3, SelK, SelN, SelP, SelR, SelT, SelW and SPS2 were significantly lower in the high-glucose group than in the normal-glucose group which produced by human mesangial cells after high glucose stimulation for 24 hours. Conclusion There was obvious selenium deficiency in DN patients. Human mesangial cells have a significantly low expression of some selenoproteins in the high glucose environment. These results provide clinical and experimental evidence for illuminating the role of low selenium-sensitive selenoproteins in the occurrence and development of DN.

KEY WORDS: diabetic nephropathy; selenium; selenoprotein

收稿日期:2017-03-06 修回日期:2018-04-25

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81400740)

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81400740)

通信作者:田李芳,博士,主治医师。E-mail: tianlifang0316@sina.com

优先出版: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1399.R.20180620.1054.002.html> (2018-06-20)

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病患者最严重的并发症之一,也是糖尿病患者重要的死亡原因。DN 已经成为全球性公共健康问题,其患病率和病死率高,患者长期治疗会产生巨额的医疗费用。

肾小球系膜细胞(mesangial cells, MCs)是最活跃的固有细胞,其主要作用为维持肾小球微血管床的结构完整性及系膜基质平衡状态。在代谢性肾小球疾病如 DN 中,MCs 是主要受到攻击的目标^[1]。在 DN 诸多发病机制中,氧化应激被认为是重要的共同机制^[2]。糖尿病患者 MCs 产生的活性氧增多,抗氧化物质减少,糖基化终末产物(AGEs)促使脂质过氧化,最终激活关键因子 TGF- β ,使 MCs 凋亡、表型转分化、肥大、增生或产生过多的生长因子、趋化因子及细胞因子等病理性改变,促进了肾小球硬化和 DN 的发生发展。

因此,MCs 在高糖作用下如何对抗氧化应激以延缓 DN 的发生发展成为我们关注的焦点,硒蛋白通过调控氧化应激对 MCs 的作用及机制国内外尚无报道。硒蛋白指组成中含有硒代半胱氨酸(Sec)的蛋白质。人类已发现的硒蛋白基因有 25 种,翻译超过 30 种硒蛋白,发挥着抗氧化、抗炎、调节免疫及产生活性甲状腺素等多种生物学效应。本研究将探究在 DN 患者体内是否存在低硒状态、这种低硒状态与患者哪些临床指标相关、高糖环境时人 MCs 中哪些硒蛋白的表达发生了变化,为阐明低硒敏感的硒蛋白在 MCs 病理变化及 DN 发生发展中的作用提供临床和实验依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂 人肾小球系膜细胞系(HMCs)购自中国科学院上海生科院细胞资源中心。D-葡萄糖购自美国 Millipore 公司,PCR primers 由北京三博志远公司合成,SYBR Green qPCR Mix 及 RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit 购自加拿大 Roche 公司,1640 培养基、胎牛血清及胰蛋白酶购自美国 HyClone 公司,Trizol Reagent 购自美国 Invitrogen 公司,MTT 及 DMSO 购自美国 Sigma 公司。

iQ5 实时定量 PCR 仪(BIO-RAD 公司),6 孔板及 96 孔板(美国 Corning 公司),CO₂ 培养箱(美国 Thermo Scientific 公司),CE2301 微量核酸蛋白定量仪(英国 Cecil 公司),全波长酶标仪(美国 Thermo 公司)。

1.2 方法

1.2.1 研究对象 研究对象为本科室收治的 DN 患者。对象的纳入标准:所选患者条件均符合 DN 的诊断标准,尚未进入血液净化治疗且年龄大于 18 岁的

成年人,排除其他原因导致的肾脏损伤患者,排除正在使用激素或者免疫抑制剂治疗的患者,排除合并其他重要疾病的患者。研究对象中对 DN 的疾病分期未要求,包括处于各期的 DN 患者。正常对照组取自体检中心的健康体检人员。所有研究对象均签署知情同意书并符合伦理学要求。收集所有研究对象的临床资料,包括年龄、性别、血常规、肝功能、肾功能、血脂及糖化血红蛋白水平。

1.2.2 样品处理及硒元素测定 早晨空腹肘部浅静脉抽取血液 3 mL,部分研究对象直接留取全血,余血液在 EDTA 抗凝管内 3 000 r/min 离心 10 min,分离血浆,分装后-20 ℃冰箱保存。样本收集好后送陕西省西安市微量元素研究所,采用 180/80 偏振 zecman 原子吸收光谱仪测定全血和血浆中的硒含量。

1.2.3 细胞活性检测 HMCs 细胞种于 96 孔板中,每孔 6 000 个。在含有 100 mL/L 胎牛血清及 2%青霉素/链霉素的 1640 培养基中,于 37 ℃、50 mL/L CO₂ 孵育箱中培养。待培养 24 h 贴壁后,换为含正常糖(11.1 mmol/L D-葡萄糖)或高糖(30 mmol/L D-葡萄糖)的 1640 培养基刺激分别培养 24、48、72、96 h。将 3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑盐(MTT)溶液(0.5 mg/mL 溶于磷酸盐缓冲液中)加入细胞培养基中,于 37 ℃诱导 4 h。随后,吸出培养基并加入 DMSO 150 μ L 以溶解蓝紫色结晶。使用酶标仪于 490 nm 波长处检测吸光度并通过与对照组比较来计算细胞活力。

1.2.4 实时定量 PCR 检测硒蛋白基因表达 100 mL/L 胎牛血清及 2%青霉素/链霉素的 1640 培养基中培养 HMCs 细胞,用正常糖(11.1 mmol/L D-葡萄糖)和高糖(30 mmol/L D-葡萄糖)分别刺激培养细胞 24 h,洗涤细胞后 Trizol 法提取细胞总 RNA,紫外分光光度计检测 RNA 的纯度及浓度。使用 RevertAid™ First Strand cDNA Synthesis Kit 试剂盒将提取的总 RNA 中的 mRNA 反转录为 cDNA。RT-qPCR 法检测人 23 种硒蛋白的 mRNA 表达水平。室温下建立 PCR 反应体系 10 μ L,包含 0.5 μ g 反转好的 cDNA 为模板。反应程序为:初始变性(95 ℃ 30 s);40 个循环变性(95 ℃ 5 s),退火(60 ℃ 15 s),延伸(72 ℃ 30 s);最后延伸(72 ℃ 30 s)。基因相对表达量使用 2^{- $\Delta\Delta$ C_t}法计算。

1.3 统计学处理 实验结果用 Excel 录入建立数据库,用 GraphPad Prism6 软件进行统计学分析。计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。组间均数比较采用非配对 *t* 检验,相关分析计算采用 Pearson 相关系数(*r*)。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 DN 患者全血及血浆中硒含量显著降低 收集了 17 例正常对照及 37 例 DN 患者的血浆,其中 9 例正常对照及 9 例 DN 患者的全血,分别检测了元素硒的含量。结果显示,与对照组相比,DN 患者血浆中的硒含量显著降低($P<0.0001$),DN 患者全血中的硒含量也显著降低($P<0.001$,图 1)。

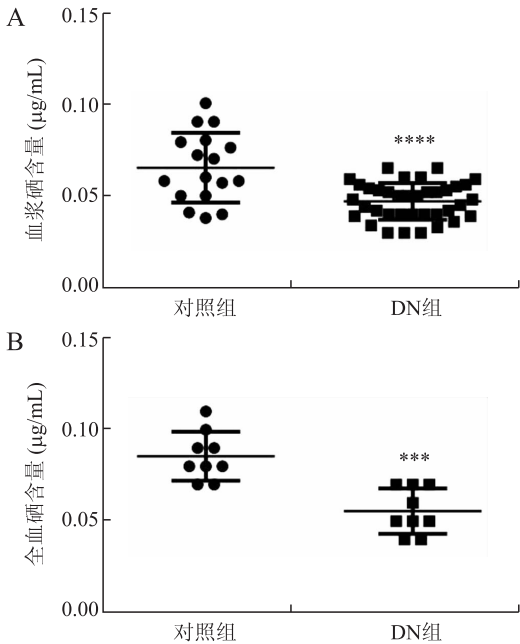


图 1 对照组和 DN 组患者血浆及全血中硒含量的比较
Fig.1 Comparison of selenium contents in the plasma and whole blood between DN patients and healthy controls
原子吸收光谱法检测 17 例正常对照和 37 例 DN 患者血浆硒含量 (A)及 9 例健康对照和 9 例 DN 患者全血的硒含量(B)。与对照组比较,**** $P<0.0001$,*** $P<0.001$ 。

2.2 DN 患者硒含量与血糖水平及肾功能显著相关
正常对照及 DN 患者的临床资料统计分析如表 1 所示,

表 2 DN 患者血浆中硒含量及临床指标间的相关性分析

Tab.2 Correlation between plasma selenium content and clinical indicators									(<i>r</i>)
临床指标	Se	Age	BUN	Scr	TP	Alb	Chol	TG	Hb
年龄	-0.263								
BUN	-0.368**	0.285*							
Scr	-0.413**	0.082	0.749***						
TP	0.091	-0.072	-0.386*	-0.115					
Alb	0.253	-0.140	-0.279	-0.183	0.845***				
Chol	-0.103	-0.053	-0.074	0.047	0.098	0.037			
TG	0.210	-0.036	-0.201	-0.201	0.139	0.076	0.701***		
Hb	0.280	-0.281	-0.467***	0.415**	0.266	0.363*	0.347*	0.333*	
HbA1	-0.400**	0.490**	0.538***	0.453**	-0.211	-0.282	0.050	-0.152	-0.324

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ 。

2.3 高糖刺激 HMCs 细胞硒蛋白表达谱的变化
MTT 法测定高糖刺激下不同时间点细胞的活力,筛选出高糖刺激 HMCs 增殖的最佳时间点。分别给予高糖刺激 1、2、3、4 d 后检测细胞活力,结果显示,高

与对照组相比,DN 患者组年龄大($P<0.01$)、肾功能差($P<0.0001$)、血浆总蛋白($P<0.05$)及白蛋白($P<0.01$)水平低,贫血、糖化血红蛋白水平均显著升高($P<0.0001$),而血脂水平与正常对照组无统计学差异。

表 1 研究对象的基本资料

Tab.1 Basic clinical information of the study subjects			
项目	对照组	糖尿病肾病组	<i>P</i>
例数(男/女)	17(6/11)	37(21/16)	
年龄(岁)	45.50±2.30	58.70±2.50	0.0020
BUN(mmol/L)	3.90±0.18	19.50±1.40	<0.0001
Scr(μmol/L)	67.21±1.80	513.50±46.40	<0.0001
TP(g/L)	72.30±1.30	64.30±1.80	0.0234
Alb(g/L)	44.40±1.00	37.30±1.00	0.0036
Chol(mmol/L)	4.60±0.20	4.70±0.20	0.6570
TG(mmol/L)	1.83±0.30	1.58±0.10	0.4080
Hb(g/L)	130.90±4.78	93.80±3.47	<0.0001
HbA1(%)	4.93±0.13	8.40±0.40	<0.0001

BUN:血尿素氮;Scr:血肌酐;TP:血浆总蛋白;Alb:血浆白蛋白;Chol:胆固醇;TG:三酰甘油;Hb:血红蛋白;HbA1:糖化血红蛋白。

DN 患者血浆中硒含量与临床指标间的相关关系如表 2 所示。患者血浆硒含量水平与血尿素氮及血肌酐水平呈负相关,相关系数分别为-0.368 和-0.413,即 DN 患者中肾功能越差,其血浆硒含量水平越低;血浆硒含量水平与糖化血红蛋白水平呈负相关($r=-0.400$),即 DN 患者血红蛋白水平越高,其血浆硒含量越低。血浆硒含量与血浆总蛋白、白蛋白、血脂水平及血红蛋白间未发现相关性。

其他临床指标间的相关分析还显示:DN 患者的尿素氮及糖化血红蛋白水平与年龄呈正相关,相关系数分别为 0.285 和 0.490。患者尿素氮水平与血红蛋白水平呈负相关($r=-0.467$),与糖化血红蛋白水平呈正相关($r=0.538$)。

糖刺激 1 d 后细胞活力已明显升高(图 2),随着时间的延长细胞活力并未再出现明显升高。因此,我们选择高糖刺激 24 h 来观察硒蛋白表达谱的变化。

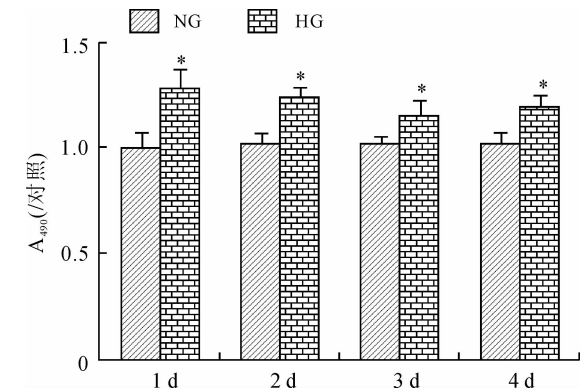


图2 高糖刺激 HMCs 细胞的增殖情况

Fig. 2 Proliferation of HMCs stimulated by high glucose

HMCs 在正常糖(11.1 mmol/L)或高糖(30 mmol/L)条件下分别培养 1、2、3、4 d。MTT 法检测细胞活性($n=6$),与对照组比较,* $P<0.05$ 。

NG:正常糖浓度(11.1 mmol/L);HG:高糖浓度(30 mmol/L)。

表3 人硒蛋白 PCR 引物信息

Tab. 3 PCR primer sequences of human selenoproteins

基因	上游引物	下游引物
Gpx1	5'-ACATCGAGCCTGACATCGAA-3'	5'-TCTGGCAGAGACTGGGATCA-3'
Gpx4	5'-AGTTTTCCGCCAAGGACATC-3'	5'-TGCTTCCCGAACTGGTTACA-3'
Dio2	5'-GGAAGATCGATGTGCAGCAG-3'	5'-GCCGGA CTCTTGAAGGTTG-3'
Dio3	5'-CAGCACATCCTCGACTACGC-3'	5'-TGCTGTGGGATGATGTAGGG-3'
TrxR1	5'-GGGTCCAAATGCTGGAGAAG-3'	5'-GCAGTCTTGGAACAGCATC-3'
TrxR2	5'-CCCCGACACTCAGAAGATCC-3'	5'-ATACTCCAGCGGGGTGAAGA-3'
TrxR3	5'-TCTGGCCTCTTGAATGGACA-3'	5'-GGGGTGAATTCCAATGGTGT-3'
SPS2	5'-CGGTGGAGTTGCCACTGTAG-3'	5'-TAGGCCAGCTCCACCTCTTC-3'
Sel15	5'-CCTGATTGCAGAGGATGCTG-3'	5'-AGGGTCTGAACACGACAT-3'
SelH	5'-CCGCTGTAGGAGCAGAGCTT-3'	5'-GCCAGCTTCTCTCGCTTCTC-3'
SelI	5'-TGGGAGTTGAGGCCTGGTAT-3'	5'-GACCAAAGGATCCACGCTGT-3'
SelK	5'-AAGTGTTGACAGCCGGAGT-3'	5'-CTAGGGCCACGCAGATGATT-3'
SelM	5'-TGACAGCTGAACCGCTAAA-3'	5'-TCCTGCACTAGCGATTGAT-3'
SelN	5'-AGCCAAGGCTGAGAACAAGC-3'	5'-GGGACGAGTTCTCCTGGTTG-3'
SelO	5'-ACGTTGTGTTGCGTGTAGC-3'	5'-GCATTTCTCTGCACGCTGTC-3'
SelP	5'-CTCCTCCAGGCCTTCATCAC-3'	5'-GACAATGGCAGCATCAGCTC-3'
SelR	5'-CCGCCTTTCAGTGGGATCTA-3'	5'-GACAACCTCTGTGCGAGCTG-3'
SelS	5'-AAGAAGCCCCAGGAGGAAGA-3'	5'-CCCTTGGTCAAGAAGCAACC-3'
SelT	5'-AGGCGGGTGTGTTGAGGAGTA-3'	5'-TATTTTCTTGGCCCCACTGC-3'
SelV	5'-GCGGACTTCAACCTCAGTCC-3'	5'-GGGGACCAGAGTGGGAATCT-3'
SelW	5'-GTCGTTTATTGTGGCGCTTG-3'	5'-CGTAGCCATCGCCTTCTTC-3'

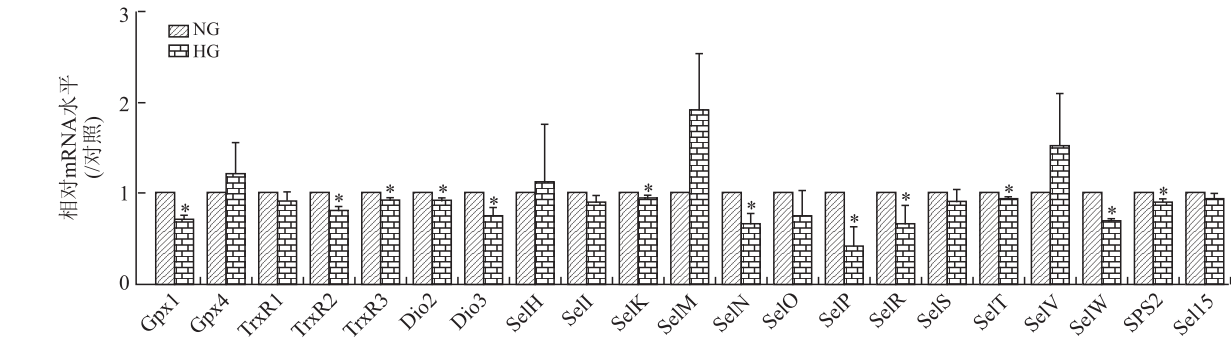


图3 高糖刺激下人肾小球系膜细胞中硒蛋白的表达变化

Fig. 3 Changes of selenoprotein expressions in HMCs stimulated by high glucose

HMCs 在正常糖或高糖条件下培养 24 h。提取细胞总 RNA,通过实时定量 PCR 法检测硒蛋白 mRNA 相对表达水平($n=3$),相对于对照组,* $P<0.05$ 。NG:正常糖浓度(11.1 mmol/L);HG:高糖浓度(30 mmol/L)。

实时定量 PCR 反应所使用的 21 种硒蛋白引物如表 3 所示。检测 HMCs 所表达的 21 种硒蛋白在高糖条件下的 mRNA 水平表达变化,结果显示,与正常糖组相比,高糖组 Gpx1、TrxR2、TrxR3、Dio2、Dio3、SelK、SelN、SelP、SelR、SelT、SelW、SPS2 的表达均显著性减低($P<0.05$),初步筛选出了有表达差异的硒蛋白(图 3)。

3 讨 论

硒与肾脏疾病的关系密不可分^[3],在急性肾损伤或慢性肾脏病患者中,血浆中的低硒状态被一系列研究所证实,尤其是在透析患者中^[4-8]。本研究结果显示,DN 患者血浆及全血中的硒含量与正常对照相比有显著性下降,且肾功能越差,糖化血红蛋白水平越高,其体内硒含量越低。在肾脏疾病中,这种硒缺乏

状态可能是通过调节氧化应激、免疫功能及甲状腺激素合成等途径参与肾脏疾病的发生发展^[9-10]。在一些动物模型的补硒实验中,也多次验证了硒对肾脏的氧化应激损伤和细胞凋亡有保护作用^[10-12]。

然而,硒是人类健康的一把双刃剑^[13]。一系列研究表明,过度补硒会降低细胞间氧化应激水平,干扰胰岛素的合成及分泌,造成实验动物糖和脂质代谢紊乱^[14]。与安慰剂组相比,给2型糖尿病患者补硒会增加其空腹血糖、糖化血红蛋白、高密度脂蛋白水平^[15]。本研究中血浆硒含量与糖化血红蛋白呈显著负相关,说明患者体内是明显的低硒状态。如何科学地利用好硒及硒蛋白而避免其不必要的副作用,这要求我们深入地研究硒及硒蛋白的代谢机制。

本研究结果显示,在高糖刺激下,人MCs中Gpx1、TrxR2、TrxR3、Dio2、Dio3、SelK、SelN、SelP、SelR、SelT、SelW、SPS2的表达显著性减低。硒缺乏时,机体倾向于仅表达必需硒蛋白^[16],不是所有组织都能平等地得到有限的硒元素,例如甲状腺和大脑会优先得到硒蛋白的补充,这就是所谓硒蛋白表达的等级制度^[17]。硒元素在体内发挥作用的载体是硒代半胱氨酸(Sec),Sec由密码子UGA介导的翻译参入,参与构成硒蛋白的活性中心,复杂的Sec插入过程是硒蛋白体内合成的关键,其中任何因素变化将导致硒蛋白不同剪接体的形成^[16],即含有Sec的有硒酶活性的全长硒蛋白、Sec缺失的无硒酶活性的截短硒蛋白。那么在DN患者体内,这些对硒元素敏感变化的硒蛋白会对MCs产生什么样的作用,是否加速了DN的进展,是否通过其截短体来实现促MCs病理变化的作用,从而加速了DN的进展,在高糖刺激的人MCs细胞中,补硒或者补充哪一种硒蛋白能延缓DN的进展,这都需要进一步研究。

参考文献:

- [1] ABOUD HE. Mesangial cell biology[J]. *Exp Cell Res*, 2012, 318(9):979-985.
- [2] TAVAFI M. Diabetic nephropathy and antioxidants[J]. *J Nephrol*, 2013, 2(1):20-27.
- [3] IGLESIAS P, SELGAS R, ROMERO S, et al. Selenium and kidney disease[J]. *J Nephrol*, 2013, 26(2):266-272.
- [4] WIESEN P, VAN OVERMEIRE L, DELANAYE P, et al. Nutrition disorders during acute renal failure and renal replacement therapy[J]. *J Parenter Enteral Nutr*, 2011, 35(2):217-222.
- [5] IGLESIAS P, OLEA T, VEGA-CABRERA C, et al. Thyroid function tests in acute kidney injury[J]. *J Nephrol*, 2012, 26(1):164-172.
- [6] ZACHARA BA, GROMADZINSKA J, WASOWICZ W, et al. Red blood cell and plasma glutathione peroxidase activities and selenium concentration in patients with chronic kidney disease: A review[J]. *Acta Biochim Pol*, 2006, 53(4):663-677.
- [7] MARTI DEL MORAL L, AGIL A, NAVARRO-ALARCON M, et al. Altered serum selenium and uric acid levels and dyslipidemia in hemodialysis patients could be associated with enhanced cardiovascular risk[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2011, 144(1-3):496-503.
- [8] FUJISHIMA Y, OHSAWA M, ITAI K, et al. Serum selenium levels in hemodialysis patients are significantly lower than those in healthy controls[J]. *Blood Purif*, 2011, 32(1):43-47.
- [9] SHRIMALI RK, IRONS RD, CARLSON BA, et al. Selenoproteins mediate T cell immunity through an antioxidant mechanism[J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(29):20181-20185.
- [10] WANG Y, WU Y, LUO K, et al. The protective effects of selenium on cadmium-induced oxidative stress and apoptosis via mitochondria pathway in mice kidney[J]. *Food Chem Toxicol*, 2013, 58:61-67.
- [11] SHANU A, GROEBLER L, KIM HB, et al. Selenium inhibits renal oxidation and inflammation but not acute kidney injury in an animal model of rhabdomyolysis[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2013, 18(7):756-769.
- [12] JOSHI D, MITTAL DK, SHUKLA S, et al. N-acetyl cysteine and selenium protects mercuricchloride induced oxidative stress and antioxidant defense system in liver and kidney of rats: A histopathological approach[J]. *J Trace Elem Med Biol*, 2014, 28(2):218-226.
- [13] RAYMAN MP. Selenium and human health[J]. *Lancet*, 2012, 379(9822):1256-1268.
- [14] PEPPER MP, VATAMANIUK MZ, YAN X, et al. Impacts of dietary selenium deficiency on metabolic phenotypes of diet-restricted Gpx1-overexpressing mice[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2011, 14(3):383-390.
- [15] FAGHIHI T, RADFAR M, BARMAL M, et al. A randomized, placebo-controlled trial of selenium supplementation in patients with type 2 diabetes: Effects on glucose homeostasis, oxidative stress, and lipid profile[J]. *Am J Ther*, 2014, 21(6):491-495.
- [16] HATFIELD DL, TSUJI PA, CARLSON BA, et al. Selenium and selenocysteine: Roles in cancer, health, and development[J]. *Trends Biochem Sci*, 2014, 39(3):112-120.
- [17] SCHOMBURG L, SCHWEIZER U. Hierarchical regulation of selenoprotein expression and sex-specific effects of selenium[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1790(11):1453-1462.

(编辑 卓选鹏)