

Selenobiałka u ssaków

DANUTA E. BIK

Zakład Chorób Bydła i Owiec Państwowego Instytutu Weterynaryjnego, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy

Bik D. E.

Mammalian selenoproteins

Summary

Selenium toxicity had been known many years before its essentiality for animals was established in 1957. Selenium functions within mammalian systems primarily in the form of selenoproteins. Selenoproteins contain selenium as selenocysteine and perform a variety of physiological roles. Eleven selenoproteins have been identified: cellular or classical glutathione peroxidase; phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase; plasma glutathione peroxidase; gastrointestinal glutathione peroxidase; types I, II, and III iodothyronine deiodinase; selenoprotein P; selenoprotein W; thioredoxin reductase; and selenophosphate synthetase. Glutathione peroxidases catalyze the reduction of peroxides that can cause cellular damage. Iodothyronine deiodinases constitute a class of enzymes that catalyze the activation and inactivation of the thyroid hormone. Selenoprotein P serves a redox function as an extracellular antioxidant. Selenoprotein W may play a role in oxidant defense and be involved with muscle metabolism. Thioredoxin reductase is involved in many cellular functions such as protein foldings, redox control of transcription factors and cellular detoxification reactions. Selenophosphate synthetase is an enzyme required for the incorporation of selenocysteine into selenoproteins.

Keywords: Se-peroxidases, deiodinases, selenoproteins P and W, thioredoxin reductase, selenophosphate synthetase

Selen został odkryty przez J. J. Berzeliusa w 1817 roku i pierwiastek ten uznawany był przez 140 lat za jeden z najbardziej toksycznych dla ludzi i zwierząt. Dopiero w 1957 r. wykazano, że podawanie szczurom drożdży szczepu *Torula*, zawierających niewielką ilość soli selenu, zapobiegało martwiczemu zwyrodnieniu wątroby (29). Niedługo potem, potwierdzono korzystne oddziaływanie selenu w zapobieganiu skazie wysiękowej u kurcząt, pokarmowej dystrofii mięśniowej u jagniąt i cieląt (tzw. choroba białych mięśni), chorobie morwowego serca u prosiąt (14, 15, 25). Kiedy więc selen uznano za niezbędny dla życia zwierząt, zainteresowanie tym pierwiastkiem znacznie wzrosło. W połowie lat 70-tych okazało się, że selen jest również istotnym pierwiastkiem dla ludzi (33). Jakkolwiek liczne badania, prowadzone nad metabolizmem selenu, pozwalają dość precyzyjnie określić wiele jego funkcji w organizmie ludzi i zwierząt, to jednak nie wszystkie jeszcze zostały dostatecznie poznane.

Najwcześniej odkrytą biologiczną rolą selenu jest jego udział w centrum aktywnym peroksydazy glutationowej (GSH-Px), kluczowym enzymie tkanek i płynów ustrojowych, spełniającym w organizmie funkcję jednego z najistotniejszych przeciwutleniaczy (16). Tak, jak w przypadku GSH-Px, również w innych selenobiałkach pierwiastek ten związany jest w cząsteczce selenocysteiny (SeCys). Selenocysteina, uznana stosunkowo niedawno za 21 aminokwas, pośredniczy w procesie syntezy białek w rybosomach, a jej specyficz-

na inkorporacja sterowana jest przez kodon UGA (30). Wprawdzie najbardziej biodostępną formę selenu stanowi selenometionina (SeMet), ale jako aminokwas bardzo reaktywny pozostaje zmagazynowana w nieaktywnej postaci przez albuminy osocza (27). To właśnie SeCys stanowi grupę prostetyczną licznych selenobiałek, spośród których dokładnie poznano i opisano jedenaście (20): cztery peroksydazy glutationowe, zawierające Se, trzy dejodazy jodotyroninowe, selenobiałko P, selenobiałko W, reduktazę tioredoksynową i syntetazę selenofosforową.

Komórkowa, czyli klasyczna peroksydaza glutationowa (cGSH-Px, EC 1.11.1.9) została najwcześniej rozpoznana jako selenoenzym (16). Składa się ona z 4 podjednostek, a każda z nich zawiera w centrum aktywnym atom selenu, związany w cząsteczce selenocysteiny. Komórkowa peroksydaza glutationowa występuje w cytosolu i mitochondriach, głównie erytrocytów i komórek wątrobowych, spełniając prawdopodobnie funkcję buforu selenowego dla innych selenoenzymów i równocześnie kontrolując homeostazę stężeń selenu w całym organizmie (3). cGSH-Px może redukować uprzednio zestryfikowane wodorotlenki lipidowe błony komórkowej i błon organelowych.

Peroksydaza glutationowa nadtlenu fosfolipidów (phGSH-Px, EC 1.11.1.12), w odróżnieniu od pozostałych peroksydaz, jest monomerem – zawiera więc jeden atom selenu w jednej cząsteczce selenocysteiny. PhGSH-Px, wbudowana w błony komórkowe różnych

Tab. 1. Poznane i opisane selenobiałka, występujące w organizmach ludzi i zwierząt

| Nazwa selenobiałka | Występowanie | Funkcja |
|---|---|--|
| Komórkowa peroksydaza Glutationowa cGSH-Px | wszystkie tkanki | antyoksydant wewnątrzkomórkowy |
| Peroksydaza glutationowa Nadtlenków lipidów phGSH-Px | wszystkie tkanki | antyoksydant błon komórkowych |
| Peroksydaza glutationowa plazmy plGSH-Px | osocze, mleko, ciecz wodnista oka | antyoksydant zewnątrzkomórkowy |
| Peroksydaza glutationowa Żołądkowo-jelitowa giGSH-Px | układ pokarmowy | antyoksydant wewnątrzkomórkowy |
| Dejodaza jodotyroninowa typ I | wszystkie tkanki | katabolizm tyroksyny, głównie do aktywnej trijodotyroniny. |
| Dejodaza jodotyroninowa typ II | mózg, przysadka mózgowa, brunatna tkanka tłuszczowa | międzykonwersja hormonów tarczycy |
| Dejodaza jodotyroninowa typ III | centralny układ nerwowy, łożysko i inne tkanki | konwersja tyroksyny do nieaktywnej formy – rT ₃ |
| Selenobiałko P | głównie osocze krwi | antyoksydant zewnątrzkomórkowy |
| Selenobiałko W | mózg, mięśnie, jądra | związane funkcjonalnie z glutationem |
| Reduktaza tioredoksynowa TR | wszystkie tkanki | antyoksydant, detoksykator katalizator redox |
| Syntetaza selenofosforowa | wszystkie tkanki | wbudowywanie selenocysteiny do selenobiałek |

tkanek i narządów, chroni ich integralność, redukując nadtlenki lipidowe (3, 6). Najnowsze badania (31) wykazały, że w jądrach białko to spełnia szczególną rolę, zmieniając swoje właściwości fizyczne i funkcje biologiczne podczas dojrzewania nasienia. W spermatacytach peroksydaza glutationowa nadtlenków fosfolipidów jest formą rozpuszczalną, natomiast w środkowej części dojrzałego plemnika stanowi strukturalne białko jego kapsuły. Zawartość selenu w jądrach podwyższa się znacznie w okresie dojrzałości płciowej, a podczas niedoboru selenu w organizmie podaż tego pierwiastka do jąder jest priorytetowa. Ponadto, phGSH-Px wykazuje większą odporność na niedobór w organizmie, a także szybciej powraca do normalnej aktywności ze stanu deficytu selenu aniżeli cGSH-Px.

Peroksydaza glutationowa plazmy (plGSH-Px, EC 1.11.1.11) jest glikoproteiną zewnątrzkomórkową i ma budowę podobną do cGSH-Px (3). Występuje w osoczu krwi, nerkach, mleku kobiecym oraz cieczy wodnistej oka, ale może być również syntetyzowana w wątrobie, łożysku, sercu, mózgu, płucach, mięśniach szkieletowych, trzustce. Peroksydaza ta jest bardziej efektywnym antyutleniaczem niż cGSH-Px i praktycznie redukuje całą pulę wodorotlenków osocza. Prawdopodobnie nerki są szczególnym miejscem aktywności plGSH-Px, ponieważ tam powstaje dużo wolnych rodników i innych szkodliwych produktów stresu oksydacyjnego (3).

Peroksydaza glutationowa żołądkowo-jelitowa (giGSH-Px, EC 1.11.1.10) występuje we frakcji cytosolowej komórek nabłonka przewodu pokarmowego (3). Ma podobną budowę do cGSH-Px i jest także tetramerem, ale wykazuje większą reaktywność wobec

wodoronadtlenków organicznych niż wobec nadtlenków wodoru. Peroksydaza glutationowa żołądkowo-jelitowa została zlokalizowana w układzie pokarmowym gryzoni oraz u ludzi w żołądku, wątrobie, jelicie cienkim i okrężnicy (13).

Dejodaza jodotyroninowa typu I (ID-I; 5'-monodejodaza) jest dimerem i, jak pozostałe dejodazy, zawiera selenocysteinę w centrum aktywnym. Ekspresja ID-I ma miejsce w mikrosomach prawie wszystkich narządów wewnętrznych i tkanek: wątroby, nerek, tarczycy, przysadki mózgowej, łożyska, gruczołu mlekowego, serca, mięśni szkieletowych, płuc, trzustki, śledziony, jelita i skóry (2, 23). Enzym ten katalizuje reakcje odjodowania prohormonu tyroksyny (T₄) do aktywnej biologicznie trijodotyroniny (T₃) i nieaktywnego rewersu trijodotyroniny (rT₃), a także T₃ i rT₃ do dijodotyroniny (11). Fizjologiczna rola ID-I polega na regulacji poziomu trijodotyroniny we krwi, a aktywność tej dejodazy uzależniona jest zarówno od ogólnego stanu selenu w organizmie, jak i różnic tkankowych.

Dejodaza jodotyroninowa typu II (ID-II) jest również selenobiałkiem (12), chociaż jeszcze do niedawna uważano, że nie zawiera selenocysteiny w miejscu aktywnym (28). U szczurów enzym ten występuje w mózgu, przysadce mózgowej, brunatnej tkance tłuszczowej i łożysku, a u ludzi także w gruczole tarczowym, mięśniu sercowym i mięśniach szkieletowych oraz w skórze (3, 20, 23). ID-II jest niezbędna do międzykonwersji biologicznie aktywnych i nieaktywnych form hormonów tarczycy wewnątrz specyficznych tkanek. W warunkach prawidłowej czynności gruczołu tarczowego, lokalna produkcja trijodotyroniny z tyroksyny przy udziale ID-II wynosi nawet 80% w mózgu

oraz około 50% w przysadce mózgowej i brunatnej tkance tłuszczowej (24). Enzym ten spełnia więc szczególnie ważną funkcję regulacyjną w metabolizmie hormonów tarczycy w tkankach pozatarczycowych, a zwłaszcza centralnym systemie nerwowym, do których obwodowa T_3 nie ma łatwego dostępu (12).

Dejodaza jodotyroninowa typu III (ID-III) jest enzymem, którego ekspresja ID-III zachodzi w mikrosomach centralnego układu nerwowego, łożyska i wielu innych tkanek. Przekształca ona tyroksynę do metabolicznie nieaktywnego rewersu trijodotyroniny (rT_3), blokując w ten sposób wytwarzanie biologicznie aktywnej trijodotyroniny, a równocześnie chroniąc tkanki płodu przed zbyt wysokimi poziomami tyroksyny i trijodotyroniny (24). Enzym ten powoduje również odjodowanie T_3 do dijodotyroniny (T_2). Aktywność dejodazy typu III jest znacznie podwyższona w niektórych tkankach płodów, np. w wątrobie, mięśniach, mózgu i centralnym układzie nerwowym, natomiast u osobników dorosłych – w mózgu, skórze i łożysku (24). Utrzymywanie w mózgu i tkankach endokrynych optymalnej aktywności ID-III, ale także ID-I, nawet w warunkach ostrego deficytu selenu, świadczy o ważności tych enzymów dla prawidłowego metabolizmu hormonów tarczycy (5). Aktywność dejodazy jodotyroninowej typu III przejawiają również komórki nowotworowe: wątroby, tylnego płata przysadki, skóry, okrężnicy (23).

Selenobiałko P jest glikoproteiną, izolowaną z osocza człowieka, bydła i szczurów oraz innych ssaków (26). Ekspresja tego białka zachodzi w różnych tkankach. Wykazano, że selenobiałko P jest związane ze śródbłonkiem komórek wątroby, nerek i mózgu (10). Wydzielane jest do plazmy przez wątrobę, a do wnętrza śródmiąższowych przestrzeni – przez komórki praktycznie wszystkich tkanek. Selenobiałko P jest przeciwutleniaczem zewnątrzkomórkowym, zawierającym aż 10 reszt selenocysteiny i przypuszczalnie w większym stopniu, niż peroksydaza glutationowa, ochrania błony komórkowe przed uszkodzeniem peroksydacyjnym (9, 10). Badania Read i wsp. (26) wykazały, że w plazmie człowieka selenobiałko P jest liczniejszym (zawiera około 60% selenu osocznego) i ważniejszym od klasycznej GSH-Px. To właśnie selenobiałko P odgrywa główną rolę w metabolizmie selenu ustrojowego, a jego koncentracja jest wskaźnikiem stanu selenu w organizmie. Kasik i Rice (22) przypuszczają, że selenobiałko P może odgrywać istotną rolę w przezłożyskowym transporcie selenu do płodu w końcowym okresie ciąży. Ponadto, wykazuje ono dużą zdolność do wiązania metali przejściowych, które normalnie mogłyby inicjować aktywność wolnych rodników tlenowych (9).

Selenobiałko W występuje w cytosolu i związane jest funkcjonalnie z glutationem, co wskazuje na jego funkcję w układzie oksydacyjno-redukcyjnym, ale także w systemie ochronnym komórki przed wolnymi rodnikami (7, 11). Selenobiałko W wyizolowano z

mięśni szczura (32) oraz z mięśni szkieletowych człowieka, owcy, małpy i myszy (18). Występuje ono również w sercu, mózgu, jądrach i śledzionie oraz w niewielkich ilościach w innych tkankach. Na poziom selenobiałka W znaczący wpływ ma koncentracja selenu w organizmie, a niedobór tego pierwiastka jest przyczyną pokarmowej dystrofii mięśniowej (15, 25) oraz degeneracji mięśnia sercowego (34). Białko to występuje sumarycznie w największych ilościach w mięśniach, w porównaniu do innych tkanek, co sugerowałoby jego istotną rolę w tej właśnie tkance (6, 7).

Reduktaza tioredoksynowa (TR, EC 1.6.4.5.) to flavoenzym, składający się z dwóch podjednostek, na końcu których znajduje się selenocysteina, stanowiąca dodatkowe centrum redukcyjne. Enzym ten jest w 54% identyczny z reduktazą nie zawierającą selenu oraz w 37% z ludzką GSH-Px (17). TR jest z jednej strony niezbędna jako katalizator do regulacji utleniania i redukcji określonych białek, z drugiej strony jest ważnym elementem w komórkowym systemie antyoksydacyjnym (3, 8, 21). Enzym ten bierze udział w wielu komórkowych funkcjach, a w tyreocytach spełnia rolę bardziej efektywnego, niż GSH-Px, przeciwutleniacza, redukującego nadtlenuk wodoru oraz wodorotlenki fosfolipidów (23). Badania Hill i wsp. (19) wykazały, że aktywność TR w wątrobie i nerkach jest wrażliwa na podaż selenu z pokarmem, natomiast w mózgu jest stosunkowo stabilna i prawie nie zmienia się przy niedoborze tego pierwiastka.

Syntetaza selenofosforanowa jest enzymem potrzebnym do wbudowania selenocysteiny do selenobiałek według specyficznego kodu genetycznego. Proces inkorporacji selenu w postaci selenocysteiny zachodzi podczas translacji, a kodonem odpowiedzialnym za wbudowanie swoistego aminokwasu jest UGA (1). Syntetaza selenofosforanowa katalizuje reakcję, podczas której powstaje fosforan monoselenu, pełniący rolę donoru selenu w reakcjach biologicznych (30). Wprawdzie u człowieka zidentyfikowano dwie formy tego enzymu, ale tylko jedna z nich jest selenobiałkiem (20).

Opisane selenobiałka spełniają wielorakie i różnorodne funkcje fizjologiczne w licznych szlakach metabolicznych, potwierdzając niezbędność selenu w organizmach ssaków. Jakkolwiek dotychczas zidentyfikowano i dokładnie opisano jedenaście białek, których funkcje związane są ściśle z obecnością selenu w ich aktywnych centrach, to jednak według Behne i wsp. (6) istnieje co najmniej 25 selenobiałek, a niektóre z nich mogą odgrywać ważne funkcje, szczególnie w mózgu, organach endokrynych i rozrodczych. Arthur i wsp. (3) wskazują natomiast, że działanie około 50, a nawet 100 enzymów i białek jest ograniczone lub ustaje zupełnie przy niedoborze selenu.

Piśmiennictwo

1. Amberg R., Mizutani T., Wu X. Q., Gross H. J.: Selenocysteine synthesis in mammalia: an identity switch from tRNA^{Sec} to tRNA^{Sec}. J. Mol. Biol. 1996, 263, 8-19.

2. Arthur J. R., Nicol F., Beckett G. J.: Hepatic iodothyronine 5'-deiodinase. The role of selenium. *Biochem. J.* 1990, 272, 537-540.
3. Arthur J. R., Bermano G., Mitchell J. H., Hesketh J. E.: Regulation of selenoprotein gene expression and thyroid hormone metabolism. *Biochem. Soc. Trans.* 1996, 24, 384-388.
4. Arthur J. R., Beckett G. J., Mitchell J. H.: The interactions between selenium and iodine deficiencies in man and animals. *Nutr. Res. Rev.* 1999, 12, 55-73.
5. Beckett G. J., MacDougall D. A., Nicol F., Arthur J. R.: Inhibition of type I and type II iodothyronine deiodinase activity in rat liver, kidney and brain produced by selenium deficiency. *Biochem. J.* 1989, 259, 887-892.
6. Behne D., Weiss-Nowak Ch., Kalcklößch M., Westphal Ch., Gessner H., Kyriakopoulos A.: Studies on the distribution and characteristics of new mammalian selenium-containing proteins. *Analyst* 1995, 120, 823-825.
7. Beilstein M. A., Vendeland S. C., Barofsky E., Jensen O. N., Whanger P. D.: Selenoprotein W of rat muscle binds glutathione and an unknown small molecular weight moiety. *J. Inorg. Biochem.* 1996, 61, 117-124.
8. Björnstedt M., Kumar S., Björkhem L., Spyrou G., Holmgren A.: Selenium and the thioredoxin and glutaredoxin systems. *Biomed. Environ. Sci.* 1997, 10, 271-279.
9. Burk R. F., Hill K. E.: Selenoprotein P. A selenium - rich extracellular glycoprotein. *J. Nutr.* 1994, 124, 1897-1981.
10. Burk R. F., Hill K. E.: Orphan selenoproteins. *BioEssays* 1999, 21, 231-237.
11. Contempré B., Duale N. L., Dumont J. E., Ngo B., Diplock A. T., Vanderpas J.: Effect of selenium supplementation on thyroid hormone metabolism in an iodine and selenium deficient population. *Clin. Endocrinol.* 1992, 36, 579-583.
12. Croiseau W., Davey J. C., Galton V. A., Germain D. L. St.: Cloning of the mammalian Type II iodothyronine deiodinase. A selenoprotein differentially expressed and regulated in human and rat brain and other tissues. *J. Clin. Invest.* 1996, 98, 405-417.
13. Dreher J., Schmutzler C., Jakob F., Köhrle J.: Expression of selenoproteins in various rat and human tissues and cell lines. *J. Trace Elements Med. Biol.* 1997, 11, 83-91.
14. Ewan R. C., Wästall M. E., Bicknell E. J., Speer V. C.: Performance and deficiency symptoms of young pigs fed diets low in vitamin E and selenium. *J. Anim. Sci.* 1969, 29, 912-915.
15. Fanta J.: Ernährungs- und bewegungsmangelbedingte Myopathien bei Kälbern und Jungrißern. *Wien. Tierärztl. Mschr.* 1971, 58, 428-432.
16. Flohé L., Günzler W. A., Schock H. H.: Glutathione peroxidase: A selenoenzyme. *FEBS Letters* 1973, 32, 132-134.
17. Gasdaska P. Y., Berggren M. M., Berry M. J., Poivis G.: Cloning, sequencing and functional expression of a novel human thioredoxin reductase. *FEBS Letters* 1999, 442, 105-111.
18. Gu Q. P., Beilstein M. A., Barofsky E., Ream W., Whanger P. D.: Purification, characterization, and glutathione binding to selenoprotein W from monkey muscle. *Arch. Biochem. Biophys.* 1999, 361, 25-33.
19. Hill K. E., McCollum G. W., Boeglin M. E., Burk R. F.: Thioredoxin reductase activity is decreased by selenium deficiency. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1997, 234, 293-295.
20. Holben D. H., Smith A. M.: The diverse role of selenium within selenoproteins: a review. *J. Am. Diet Assoc.* 1999, 99, 836-843.
21. Howie A. F., Walker S. W., Åkesson B., Arthur J. R., Beckett G. J.: Thyroidal extra-cellular glutathione peroxidase: a potential regulator of thyroid-hormone synthesis. *Biochem. J.* 1995, 308, 713-717.
22. Kasik J. W., Rice E. J.: Selenoprotein P expression in liver, uterus and placenta during late pregnancy. *Placenta* 1995, 16, 67-74.
23. Köhrle J.: The trace element selenium and the thyroid gland. *Biochemie* 1999, 81, 527-533.
24. Larsen P. R., Berry M. J.: Nutritional and hormonal regulation of thyroid hormone deiodinases. *Annu. Rev. Nutr.* 1995, 15, 323-352.
25. Muth O. H.: Selenium-responsive diseases of sheep. *J. Am. Vet. Med. Ass.* 1970, 157, 1507-1511.
26. Read R., Bellow T., Yang J. G., Hill K. E., Palmer I. S., Burk R. F.: Selenium and amino acid composition of selenoprotein P, the major selenoprotein in rat serum. *J. Biol. Chem.* 1990, 265, 17 899-17 905.
27. Rybka K.: Selenoproteiny - nietypowa funkcja kodonu UGA. *Post. Hig. Med. Dośw.* 1999, 53, 601-616.
28. Safran M., Farwell A. P., Leonard J. L.: Evidence that type II 5'-deiodinase is not a selenoprotein. *J. Biol. Chem.* 1991, 266, 13 477-13 480.
29. Schwarz K., Foltz C. M.: Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *J. Am. Chem. Soc.* 1957, 79, 3292-3293.
30. Stadtman T. C.: Selenocysteine. *Annu. Rev. Biochemistry* 1996, 65, 83-100.
31. Ursini F., Heim S., Kiess M., Maiorino M., Roveri A., Wissing J., Flohé L.: Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation. *Science* 1999, 285, 1393-1396.
32. Vendeland S. C., Beilstein M. A., Chen Ch. L., Jensen O. N., Barofsky E., Whanger P. D.: Purification and properties of selenoprotein W from rat muscle. *J. Biol. Chem.* 1993, 268, 17 103-17 107.
33. Whanger P. D.: China, a country with both selenium deficiency and toxicity: some thoughts and impressions. *J. Nutr.* 1989, 119, 1236-1239.
34. Yang J. G., Xia Y. M.: Studies on human dietary requirements and safe range of dietary intakes of selenium in China and their application in the prevention of related endemic diseases. *Biomed. Environ. Sci.* 1995, 8, 187-201.

Adres autora: dr Danuta E. Bik, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy;
e-mail: debik@piwet.pulawy.pl



Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego Państwowego Instytutu Weterynaryjnego

oraz

Sekcja Higieny i Technologii Żywności Pochodzenia Zwierzęcego Polskiego Towarzystwa Nauk Weterynaryjnych

organizują Międzynarodową Sesję

nt.

Analiza ryzyka w zapewnieniu bezpieczeństwa żywności

która odbędzie się w dniach 18-19 września 2003 r. w Puławach.

Informacje:

dr Hanna Różańska, Zakład Higieny Żywności Pochodzenia Zwierzęcego
Państwowy Instytut Weterynaryjny, Al. Partyzantów 57, 24-100 Puławy,
tel.: (81) 886 30 51 w. 177; e-mail: bruna@piwet.pulawy.pl