

Биологические науки

УДК 577.151

Матейкович Полина Алексеевна

студент

биолого-почвенный факультет

Федеральное Государственное Бюджетное Образовательное

Учреждение Высшего Профессионального Образования

"Санкт-Петербургский государственный университет"

Mateikovich P. A.

student

Biological Faculty

Federal State Budgetary Educational

Institution of Higher Professional Education

"Saint-Petersburg State University"

**ГЛУТАТИОНПЕРОКСИДАЗА КАК ФЕРМЕНТ СИСТЕМЫ
АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ КЛЕТОК
GLUTATHIONE PEROXIDASE AS AN ENZYME OF CELLULAR
ANTIOXIDANT DEFENSE SYSTEMS**

Аннотация: Рассмотрены особенности строения и катализа фермента глутатионпероксидазы.

Ключевые слова: глутатионпероксидаза, витамин E, α -токоферол, глутатион, перекисное окисление липидов, антиоксидант.

Summary: The features of the structure and catalysis of the enzyme glutathione peroxidase.

Key words: glutathione peroxidase, vitamin E, α -tocoferol, glutathione, lipid peroxidation, antioxidant.

Введение: Свободные радикалы это соединения, имеющие неспаренный электрон на своей внешней орбитали, что определяет их малую стабильность и высокую реакционную способность, они весьма разнообразны, например: супероксид, гидроксил ($\bullet\text{OH}$), пероксил (алкилдиоксил) ($\text{ROO}\bullet$), алкоксил ($\text{RO}\bullet$), гидропероксил(гидродиоксил) ($\text{HOO}\bullet$), оксид азота II ($\bullet\text{NO}$), диоксид азота ($\bullet\text{NO}_2$). Кислород и азотсодержащие свободные радикалы могут превращаться в нерадикальные активные формы, такие как: перекись водорода (H_2O_2), гипохлорная кислота (HClO), пероксинитрит (ONOO^-). Эти молекулы являются нормальными метаболитами обменных процессов в организме и выполняют многие физиологические функции, но при определенных состояниях, сопряженных с их интенсивной генерацией, они начинают проявлять свою реакционную способность, связанную с разрушением клеточных структур и деструкцией биомолекул – белков, липидов, углеводов и нуклеиновых кислот [2, с.46; 4, с.5,6]. Содержание АФК на уровне необходимом для нормальной жизни клетки поддерживается многокомпонентной системой антиоксидантной защиты. Фермент глутатионпероксидаза относится к ферментативному компоненту АОЗ. Перекисное окисление липидов также является источником акцепторов для ГП. ПОЛ начинается с атаки гидроксильного радикала на липидную молекулу, в результате чего образуется липидный радикал. Продолжение реакции происходит при участии кислорода, который окисляет липидный радикал. Продуктом такой реакции является пероксильный радикал. Последний может вступать в реакцию с другой молекулой ненасыщенной жирной кислоты с образованием гидроперекиси липида [6 с.233].

Общая характеристика фермента:

1. Oxidoreductases (класс: оксидоредуктазы)

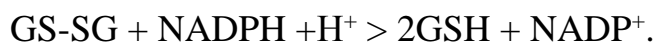
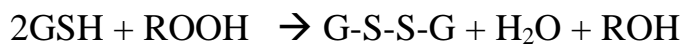
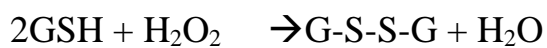
1.11 Acting on a peroxide as acceptor (подкласс: субстрат акцептор - пероксид)

1.11.1 Peroxidases (подподкласс: пероксидаза)

1.11.1.9 glutathione peroxidase (номер в подподклассе, окисление GSH пероксидом)

Оксидоредуктазы - ферменты, катализирующие окислительно-восстановительные реакции с участием двух субстратов. Глутатионпероксидаза (ГП/GSHPx), (КФ 1.11.1.9.) – фермент системы антиоксидантной защиты клеток [3 с.278]. Впервые ГП как фермент, защищающий клетки от окислительного повреждения, была обнаружена и описана в 1957 г. Гордоном Миллсом, при изучении катаболизма гемоглобина в эритроцитах [9 с.190]. ГП содержится почти во всех клетках животных, основная доля фермента находится в цитозоле - около 70%, в митохондриях млекопитающих содержится 20-30% [1 с.62]. По структуре ГП является гомотетрамером. Каждая субъединица обладает массой 19 кДа и содержит один атом селена, связанный с цистеиновыми остатками (находится в составе остатка аминокислоты – селеноцистеина). Селеноцистеин добавляется в растущую полипептидную цепь во время трансляции стоп-кодона UGA (обычно UGA является стоп-кодоном). При недостатке селена активность антиоксидантной защиты снижается. Активность ГП повышается при патологических состояниях, таких как: диабет, болезнь Кешан, ангиокардиопатиях, катаракте. [14 с.152] Тем не менее, терапевтическое использование нативной ГП ограничено из-за ее нестабильности, ограниченной доступности, а также того факта, что ее очень трудно синтезировать с помощью методов генной инженерии, поскольку она содержит селеноцистеин кодируется кодон UGA. Создается множество искусственных ГП, но большинство из них имеют низкую активность из-за отсутствия субстрата сайта. Среди них, selenoorganic ebselen (2-фенил-1,2-benzisoselenazol-3 (2H)-он) был впервые использован для гидропероксид-инактивирующей терапии, несмотря на ее недостатки: плохая растворимость в воде и низкая активность (0,99 ЕД / мкмоль) по

сравнению с нативной ГП [13 с.238]. ГП нейтрализует пероксид водорода, превращая ее в воду, и переводит пероксиды липидов в соответствующие спирты, используя в качестве субстрата восстановленный глутатион. Сульфгидрильная группа глутатиона (GSH) служит донором электронов и, окисляясь, образует дисульфидную форму глутатиона, в которой две молекулы глутатиона связаны через дисульфидную группу [5 с.260]. Окисленный глутатион восстанавливается глутатионредуктазой (КФ 1.6.4.2):



Глутатионредуктаза – цитоплазматический белок, распределенный в тканях подобно ГП. Впервые была обнаружена в печени животных в 1931 году. Этот фермент функционально связан с ГП. Действие глутатионредуктазы зависит от уровня НАДФН и, следовательно, от состояния пентозофосфатного пути и активности ее ключевого фермента глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы (1.1.1.49). Она восстанавливает окисленный глутатион, используя НАДФН+H⁺, образовавшийся в пентозофосфатном пути [3 с.108,278]. ГП нейтрализует пероксиды липидов такие как: гидропероксиды линолевой и линоленовой кислот, холестерин-7β-гидропероксид и некоторые синтетические вещества (кумен-, трет-бутил-гидропероксиды) [5 с.263]. Также ГП нейтрализует пероксинитрит.:



Наиболее высокая активность ГП наблюдается в печени, эритроцитах, надпочечниках, средняя активность в легких и сердце, низкая – в мышцах. Хотя роль каталазы и ГП для клетки при восстановлении H₂O₂ в печени приблизительно одинакова, однако для клетки в целом активность ГП значительно важнее. Например, каталаза локализована в основном в пероксисомах, а ГП обезвреживает H₂O₂ в цитозоле и митохондриях.

Родство ГП к H_2O_2 выше, поэтому она защищает от низких концентраций H_2O_2 , которые возникают чаще. В некоторых тканях (сердце, мозг, легкие) активность каталазы низкая, и поэтому там ГП играет основную роль. Но в условиях окислительного стресса, когда резко возрастает концентрация перекиси водорода, ключевая роль в ее расщеплении принадлежит каталазе. Недостаток или ингибирование ГП приводит к пероксидации липидов. Активность фермента зависит от количества образованных пероксидов. Фермент устойчив к действию цианида и азиды, особенно в присутствии восстановленного глутатиона GSH.

Изоформы: В настоящее время выявлено восемь изоферментных форм селенсодержащей ГП, поэтому их еще называют семейством ферментов. Изоформы ГП кодируются разными генами, различаются по локализации в клетке, структуре субъединиц, первичной структуре и ферментативному действию (по субстратам).

ГП1 - «классическая» ГП находится в цитоплазме клеток печени и кишечника. Ген кодирующий ГП1 находится на 3 хромосоме. Для этого белка характерен полиморфизм полиаланиновой последовательности на N-терминальном конце, существуют три аллели с 5, 6 и 7 последовательностями из остатков аланина. Аллель с 5 повторами аланина связана с высоким процентом риска рака молочной железы. Существуют данные о том, что ГП1 защищает клетки от CD95 индуцированного апоптоза в раковых клетках молочной железы и ингибирует 5-липоксигеназу в клетках крови, а гиперэкспрессия гена ГП1 задерживает рост эндотелиальных клеток и повышает устойчивость к токсинам [10 с.485].

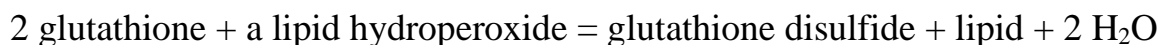
ГП2 - ГП кишечного эпителия. Кодирующий ее ген находится на 14 хромосоме. Состоит из 188 аминокислотных остатков. Селен в селеноцистеине (40я аминокислота), всего 190 а/к.

ГПЗ - внеклеточный изофермент, обнаружен в плазме крови и молоке. Ген локализован на 5 хромосоме.

ГП5 - эпидермальный андроген связанный белок. Ген ГП5 расположен на 6 хромосоме, специфично экспрессируется в эпидидимесе, регулируется андрогеном. В отличие от м-РНК других ГП, м-РНК ГП5 не содержит кодона селеноцистеина, таким образом кодируемый белок является селен-независимым ферментом. ГП5 участвует в защите мембран сперматозоидов от перекисного окисления липидов. Селен-независимые ГП сходны по механизму действия с глутатион-S-трансферазами, и более активны при взаимодействии с органическими пероксидами, чем с пероксидом водорода [15 с.844].

ГП6 - изофермент функционирующий в зрительной системе. Ген локализован на 6 хромосоме. Гомологи данной изоформы фермента человека были обнаружены у грызунов.

ГП4 - В настоящее время выделен изофермент селенсодержащей ГП, названный «ГП гидроперекисей и фосфолипидов» или липидгидропероксид ГП (КФ 1.11.1.12), который является мономером с молекулярной массой 22 кДа и содержит один атом селена (селеноцистеин). Являясь липофильным соединением, он активно взаимодействует с гидроперекисями фосфатидилхолина, холестерина, и эфиров холестерина в мембранах и липопротеинах низкой плотности. Ген белка ГП4 локализован на 19-ой хромосоме [11 с.934].

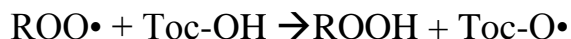


Глутатион, особенности строения: Глутатион представляет из себя g-глутаминил-L-цистсинил-глицин, трипептид, образованный остатками трёх аминокислот. Особенность строения глутатиона в том, что в образовании пептидной связи между цистеином и глутаминовой кислотой, её g-карбоксыльная группа последней. Глутатион содержится во всех живых организмах и имеет большое значение для окислительно-

восстановительных реакций в связи со способностью сульфгидрильной группы (SH—) цистеина вступать в обратимую реакцию. Внутриклеточная концентрация - 0,5-10 mM.

Механизм катализа: В активном центре селензависимых ГП находится остаток аминокислоты селеноцистеина. Селен в активном центре ГП ковалентно связан с остатком цистина в положении 46, также у селена имеются 2 координационные связи с остатком глутамина в 81 положении и остатком триптофана в положении 136. Эти три аминокислоты составляют каталитическую триаду. Атом селена находится в степени окисления -1 и окисляется перекисями до SeOH. Далее SeOH соединяется с молекулой глутатиона, образуя Se-глутатион. Это соединение реагирует с другой молекулой глутатиона. При этом регенерируется Se⁻ и образуется побочный продукт, которым является окисленный глутатион. Считается, что глутатион восстанавливает селен в ГП и эта восстановленная форма фермента катализирует распад пероксида водорода. Большинство ферментов катализирует реакции, в которых участвует более чем один субстрат. В случае если кофермент не является простетической группой, его также можно рассматривать как ещё один субстрат. Следовательно, участников ферментативной реакции может быть несколько: непосредственно фермент, несколько субстратов и кофермент. В этих случаях механизм ферментативной реакции, как правило, может идти по одному из двух путей: по механизму «пинг-понг» (механизму двойного замещения) или последовательному. В случае с ГП механизм «пинг-понг». Субстрат А, взаимодействуя с ферментом (E), превращается в продукт (P1). Фермент остаётся в результате этого преобразования не в нативной форме, а в изменённой (E') в результате модификации кофермента. Далее к активному центру E' присоединяется субстрат В, подвергающийся преобразованию в продукт (P2) с высвобождением нативной формы фермента (E) [7 с.511].

Витамин Е: Витамин Е (α -токоферол) также является компонентом АОС, он нейтрализует пероксильный радикал по следующей реакции:



Таким образом витамин Е останавливает развитие ПОЛ. Свободный радикал витамина Е, образовавшийся в результате реакции, стабилен и не способен участвовать в развитии цепи. Наоборот, радикал витамина Е непосредственно взаимодействует с радикалами липидных перекисей, восстанавливая их, а сам превращается в стабильную окислённую форму – токоферолхинон, затем с помощью аскорбиновой кислоты/ глутатиона/ убихинола вновь превращается в восстановленную форму токоферола [8 с.30; 3 с.278]. Вторым продуктом реакции гидропероксид, токсичен и может повреждать мембранные структуры. Переводит это соединение в соответствующие спирты Se-зависимая глутатионпероксидаза:



Показано, что растительная диета, обогащённая витамином Е существенно уменьшает риск развития атеросклероза и заболеваний сердечнососудистой системы, подавляет развитие катаракты, обладает антиканцерогенным действием [14 с.151]. Имеется много доказательств в пользу того, что положительное действие этого компонента пищи связано с ингибированием ПОЛ и других молекул и, следовательно, с поддержанием нормальной структуры компонентов клеток.

Список литературы

- 1.Гудков С. В., Брусков В. И., Куликов А. В. Альманах клинической медицины. 2014. № 31. С.61-65.
- 2.Дубинина Е.Е. Продукты метаболизма кислорода в функциональной активности клеток. СПб.: Изд-во Мед. Пресса. 2006. 397 с.
- 3.Кольман Я., Рём К.Г. Наглядная биохимия. М.:Мир. 2009. 470 с.
- 4.Кулинский В.И. Активные формы кислорода и оксидативная модификация макромолекул: польза, вред и защита. СОЖ. 1999. №1. С.2-7.

- 5.Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Система глутатиона 1. Синтез, транспорт глутатионтрансферазы, глутатионпероксидазы. Биомедицинская химия. 2009. Т.55. В.3. С.255-277.
- 6.Маханова Р.С. К вопросу изучения перекисного окисления липидов. Известия Оренбургского государственного аграрного университета. 2011. Т.1, 29-1. с. 231-234
- 7.Северин Е.С. Биохимия: Учеб. для вузов. М.:ГЭОТАР-Медиа. 2003.779 с.
- 8.Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Бизенкова М.Н. Общая характеристика источников образования свободных радикалов и антиоксидантных систем. Успехи современного естествознания. 2006. № 7. с.7-41.
- 9.Mills G.C. Hemoglobin catabolism. I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. J. Biol. Chem. 1957. V.229. N1. P.189–197.
- 10.Muller F.L, Lustgarten M.S,Jang Y.,Richardson A.,Van Remmen H. «Trends in oxidative aging theories». Free Radical Biology and Medicine. 2007. V.43. №4. С.477–503.
- 11.Ran Q, Liang H, Ikeno Y, et al. «Reduction in glutathione peroxidase 4 increases life span through increased sensitivity to apoptosis». J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci. 2007. V.62. №9. С.932–42.
- 12.Ravn-Haren G., Olsen A., Tjonneland A., Dragsted L.O., Nexø B.A., Associations between GPX1 Pro198Leu polymorphism, erythrocyte GPX activity, alcohol consumption and breast cancer risk in a prospective cohort study. Carcinogenesis. 2006. V.27. С.820-825.
13. Ye Sun, Kun Zhan, Keyan Zheng, Ying MuJ. Selenium-containing 15-Mer Peptides with High Glutathione Peroxidase-like Activity Biol. Chem. 2004. Vol. 279. № 36. P.235-240.

14. Yu, B. P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiol.* 1994. Rev. 74. P. 139-162.

15. Williams, K., Frayne, J. and Hall, L. Expression of extracellular glutathione peroxidase type 5 (GPX-5) in the rat male reproductive tract. 1998. *Mol. Hum. Reprod.* N4. P. 841-848.