

В. М. ПРОКОПЕНКО

НИИ акушерства и гинекологии
им. Д. О. Отта РАМН, Санкт-ПетербургСЕЛЕНОСОДЕРЖАЩИЕ БЕЛКИ
И БЕРЕМЕННОСТЬ

В обзоре представлены современные сведения о селеносодержащих белках. Рассмотрено поведение селенопротеинов из семейства глутатионпероксидаз при беременности и ее осложнениях.

Селеносодержащие белки, играющие немаловажную роль в организме млекопитающих, исследуются около 30 лет. В настоящее время выявлено 13 селенопротеинов [4], из которых 11 идентифицированы: клеточная (классическая) глутатионпероксидаза (ГП), внеклеточная (плазменная) ГП, фосфолипидгидропероксидглутатионпероксидаза (PHGP₁), желудочнокишечная ГП, селенопротеин P, йодтирониндейодиназа 1, 2 и 3 типов, селеноротеин W, тироредоксинредуктаза и селенофосфатаза [8]. Все селенопротеины содержат в активном центре молекулы уникальную аминокислоту — селеноцистеин. Синтез данной аминокислоты закодирован в нуклеотидной последовательности УГА м-РНК и осуществляется в клетке из неорганического селена и серина. Специфические последовательности м-РНК опознаются уникальной т-РНК [20]. Общй механизм каталитического действия селенопротеинов включает редокс — потенциал селеноцистеинового остатка активного центра белка, где происходит образование водород-водородных связей между селеноцистеином и остатками триптофана и/или глутаминовой кислоты [6].

Изученные селеносодержащие белки могут быть подразделены на два основных типа: семейство ГП и семейство диодиназ. Семейство ГП включает 4 селенопротеина. ГП выполняют в организме важную роль, являясь мощными антиоксидантными ферментами, которые защищают клетку и целый организм от разрушительного действия активных метаболитов кислорода. Наряду с общей функцией ГП-азы отличаются

друг от друга по локализации в ткани, субстратной специфичности, регуляции, чувствительности к дефициту селена и ряду специфических функций.

Клеточная и плазменная ГП-азы кодируются разными генами, однако не менее 44% аминокислотных последовательностей в молекуле этих белков идентично. Подобная картина отмечается и у других белков семейства. Индукция внеклеточной и клеточной ГП происходит в разных тканях при контакте с физиологической жидкостью фетоплацентарного барьера, ресничного тела и почек [2].

Большой интерес представляют данные, полученные Sies H. с соавторами [25], которые демонстрируют новую защитную функцию ГП в отношении белков в лизатах фибробластов человека. Как известно, генерация пероксинитрита приводит к его взаимодействию с тирозином белков и образованию 3-нитротирозина. Введение ГП в среду приводит к уменьшению содержания пероксинитрита, причем действие фермента более эффективно, чем влияние хорошо зарекомендовавшего себя эбселена (2-фенил-1, 2-бензиселенозола). Карбоксиметилирование селеноцистеина в активном центре ГП приводит к потере «классической» глутатионпероксидазной активности, но сохраняет действие фермента в отношении пероксинитрита. Полученные сведения указывают на иную функцию ГП, которая, подобно селенометионину, защищает белки от окисления пероксинитритом.

Желудочнокишечная ГП экспрессируется исключительно в желудочно-кишечном тракте и



служит барьером на пути гидроперекисей, образующихся при питании и метаболизме ксенобиотиков. Данный изофермент ГП обладает наивысшей стабильностью при дефиците селена в организме [1].

Четвертым селенопротеином семейства ГП является РНГР_x, основная функция которой состоит в защите липидов мембранных структур клетки от активных метаболитов кислорода. Следует отметить, что специфическая активность РНГР_x коррелирует со степенью созревания сперматозоидов у млекопитающих [15, 16], более того, белок изменяет свои физические характеристики и биологические функции в процессе созревания спермы. Показано, что РНГР_x в разрушенных сперматозоидах присутствует в виде растворимой пероксидазы. Созревшие сперматозоиды содержат фермент в энзиматически неактивной форме в виде нерастворенного белка, связанного с кислородом [27]. В зрелом сперматозоиде на долю РНГР_x белка приходится, по крайней мере, 50% материала, что позволяет рассматривать РНГР_x как главный структурный белок митохондриальной капсулы спермы. Локализован белок в спиральной оболочке, окружающей жгутик [9]. При дефиците селена наблюдается механическая неустойчивость митохондриального участка, где роль структурного белка выполняет РНГН_x, что, в конечном итоге, может сопровождаться мужским бесплодием.

Семейство диодиназ насчитывает три фермента, из которых антиоксидантным эффектом обладает только тиоредоксинредуктаза. Тиоредоксинредуктаза человека близка к глутатионредуктазе, но отличается от последней наличием последовательно цистеин-Se-цистеин. Антиоксидантное действие фермента связано с уменьшением количества сульфгидрильных групп либо непосредственно в остатках цистеина, либо при белок-белковых и/или белок-ДНК взаимодействиях

с участием тиреодоксина в качестве кофактора [26]. Наиболее подробно тиоредоксинредуктаза изучена Groter с соавт. [7]. Белок был выделен из плаценты со специфической активностью 42 Е/мг белка и содержанием селена $0,94 \pm 0,03$ моль/моль субъединицы. Фермент работает по механизму «пинг-понг», его активность зависит от внутриклеточного содержания селена. Примечательно, что на уровень активности фермента не оказывает влияния уровень экзогенного селена. Два других фермента семейства диодиназ: тиреоидная диодиназа и селенофосфат синтетаза не играют роли в контроле над процессами липидной пероксидации. Функция тиреоидной диодиназы заключается в образовании и регуляции активного тиреоидного гормона, а селенофосфат синтетаза включает селеноцистеин в селенопротеины [10].

Селенопротеин Р, который не входит в два выше описанных семейства, представляет гликопротеин, содержащий 10 остатков селеноцистеина в полипептидной цепи, что составляет более 50% от содержания селена в плазме человека и животных. Функции данного селенопротеина полностью не выяснены, однако в опытах *in vitro* показано, что введение селенопротеина Р приводит к уменьшению содержания пероксинитрита и фосфолипидгидропероксида в плазме человека. В исследованиях *in vivo* продемонстрирована его взаимосвязь с эндотелием стенок сосудов, являющегося главной мишенью для пероксинитрита. Экспрессия м-РНК селенопротеина Р происходит преимущественно в интерстициальных клетках Лейдига [12]. Регуляция транскрипции селенопротеина Р у человека осуществляется медиаторами воспалительных процессов [18]. Рядом авторов содержание селенопротеина Р в сыворотке крови рассматривается как биохимический маркер статуса селена [21]. Уровень содержания селенопротеина Р в сыворотке крови людей

значительно колеблется в зависимости от региона проживания. Наиболее высокий уровень селенопротеина Р отмечается в крови жителей Бельгии [14].

Наименее изученным из известных селенопротеинов является селенопротеин W, который представляет внутриклеточный белок, содержащий один остаток селеноцистеина [3].

На современном этапе о содержании селенопротеинов в организме в клинической практике судят по статусу селена, который определяется либо как соотношение содержания селена в сыворотке и моче [10], либо как соотношение активностей ГП в эритроцитах и плазме [8].

Известно, что повышение уровня активных метаболитов кислорода рассматривается как фактор, способствующий развитию и/или поддержанию осложнений беременности. Селенопротеины из семейства ГП, которые являются важным звеном в перехвате свободных радикалов и системы детоксикации, могут играть существенную роль в контроле за течением осложнений беременности. Вместе с тем литературные данные о поведении ГП как при неосложненной беременности, так и при патологии беременности крайне малочисленны и неоднозначны.

У беременных женщин наблюдается резкое падение уровня активности селенозависимой ГП в крови в первом триместре беременности. Низкий уровень активности фермента сохраняется на протяжении всей беременности по сравнению с активностью ГП крови небеременных женщин репродуктивного возраста (19–35 лет). В плазме крови беременных женщин наблюдается значительное падение активности ГП во втором триместре. Активности фермента в крови матери и в крови плода не отличаются на протяжении беременности, а в амниотической жидкости активность ГП либо не выявляется, либо присутствует в следовых количествах. Выявлена

корреляционная зависимость между уровнем активности ГП в цельной крови и содержанием конечного продукта липидной пероксидации малонового диальдегида в плазме беременных женщин [17]. В плаценте женщин с физиологически протекающей беременностью активность селенозависимой ГП практически не меняется [24].

Литературные данные об изменении активности ГП в плаценте при осложненной гестозом беременности противоречивы. Кпареп с соавт. отмечают увеличение активности ГП в тканях плаценты и децидуальной оболочке у женщин с гестозом. Активность фермента в децидуальной оболочке выше, чем в плаценте как у женщин с физиологически протекающей беременностью, так и у женщин с гестозом [11]. Roganep A. K. с соавт. не выявили достоверных различий в уровне активности ГП в плаценте женщин с физиологически протекающей беременностью и в плаценте женщин с гестозом [22]. Третья группа исследователей обнаружила снижение уровня активности ГП [30] и уровня экспрессии м-РНК [29] в плаценте женщин с гестозом, при этом Walsch S.W. и Wang Y. выявили у женщин с гестозом увеличение содержания тромбоксана и гидроперексиды липидов [28]. Авторы высказали гипотезу, согласно которой в плаценте при физиологически протекающей беременности ГП лимитирует активность простагландин-Н-синтазы путем связывания гидроперексиды липидов. Недостаток активности ГП в плаценте женщин с гестозом способствует увеличению гидроперексиды липидов, что, в свою очередь, стимулирует активность простагландин-Н-синтазы и увеличивает образование тромбоксана и гидроперексиды.

Несмотря на противоречивость полученных данных, авторы публикаций единодушны во мнении, что существенную роль при патологическом течении беременности играет дисбаланс

между интенсивностью процессов пероксидации и уровнем антиоксидантной защиты [13]. В связи с этим для коррекции глутатионзависимой системы антиоксидантной защиты у беременных женщин сроком 7–9 недель был использован мелатонин, который принимался орально в дозе 6 мг один раз в сутки в 12 часов. Максимальное увеличение активности фермента наблюдали в образцах хориона через 3 часа после приема мелатонина. Изменений в активности супероксиддисмутазы в этот период авторы не отмечали. Полученные результаты указывают на то, что экзогенный мелатонин способен косвенно защитить хорион от повреждений, наблюдаемых при интенсификации процессов свободнорадикального окисления [19]. Перфузия плаценты женщин с гестозом растворами витамина С и/или витамином Е *in vitro* способствовала снижению уровня липидной пероксидации в плаценте и нормализации активности ферментов антиоксидантной защиты, в частности ГП [23].

Анализ литературных данных позволяет считать, что поведение селенопротеинов при беременности и ее осложнениях изучено недостаточно, в связи с чем отсутствует ясное понимание места и роли селенозависимой ГП в механизме патогенеза беременности.

Литература

1. Brigelius-Flohe R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. // *Free Radic. Biol. Med.* — 1999. — Vol. 27. — N. 9–10. — P. 951–965.
2. Burk R. F. Molecular biology of selenium with implications for its metabolism // *FASEB J.* — 1991. — Vol. 5. — N 9. — P. 2274–2279.
3. Burk R. F., Hill K. E. Orphan selenoproteins // *Bioessays.* — 1999. — Vol. 21. — N 3. — P. 231–237.
4. Daniels L. A. Selenium metabolism and bioavailability // *Biol. Trace Elem. Res.* — 1996. — N. 3. — P. 185–199.
5. Ebert-Dumig R, Seufert J, Schneider D. et al. Expression of selenoproteins in monocytes and macrophages — implications for the immune system // *Med. Klin.* — 1999. — Vol. 15. — N 94, Suppl. 3. — P. 29–34.
6. Flohe L. Selenium in peroxide metabolism // *Med. Klin.* — 1997. — Vol. 15. — N 92. Suppl 3. — P. 5–7.
7. Gromer S., Arscott L.D., Williams C. H. et al. Human placenta thioredoxin reductase. Isolation of selenoenzyme, steady state kinetics, and inhibition by therapeutic gold compounds // *J. Biol. Chem.* — 1998. — Vol. 273. — N 32. — P. 433–438.
8. Holben D. H., Smith A. M. The diverse role of selenium within selenoproteins: a review // *J. Am. Diet Assoc.* — 1999. — Vol. 99. — N 7. — P. 836–843.
9. Karimpour I., Cutler M., Shih D. et al. Segue of the gene encoding the mitochondrial cahsule selenoprotein of mouse sperm? identification of three in-phase TGA selenocysteine codons // *DNA Cell Biol.* — 1992. — N 11. — P. 693–699.
10. Kbiala J. Selenium and the organism // *Cas. Lek. Cesk.* — 1999. — Vol. 138. — N 4. — P. 99–106.
11. Kvapen M. F., Peters W. H., Mulder T. P. et al. Glutathione and glutathione-related enzymes in decidua and placenta of controls and women with preeclampsia // *Placenta.* — 1999. — Vol. 20. — P. 541–546.
12. Koga M., Tanaka H., Yomogida K. et al. Expression of selenoprotein-P messenger ribonucleic acid in the rat testis // *Biol. Reprod.* — 1998. — Vol. 58. — P. 261–265.
13. Lutlu-Turkoglu U., Ademoglu E., Ibrahimoglu L. et al. Imbalance between lipid peroxidation and antioxidant status in preeclampsia. // *Gynecol. Obstet. Invest.* — 1998. — Vol. 46. — P. 37–40.
14. Marchaluk E., Persson-Moschos M., Thorling E.B., Akesson B. Variation in selenoprotein P concentration in serum from different European regions // *Eur. J. Clin. Nutr.* — 1995. — Vol. 49. — N 1. — P. 42–48.
15. Mariorino M., Flohe L., Roveri A. et al. Selenium and reproduction // *Biofactors.* — 1999. — Vol. 10. — N 2–3. — P. 251–256.

16. Mariorino M., Wissing J. B., Brigelius-Flohe R. et al. Testosterone mediates expression of the selenoprotein PHGP_x by induction of spermatogenesis and not by direct transcriptional gene activation // *FASEB J.* — 1998. — Vol. 12. — N 13. — P. 1359–1370.
17. Mihailovic M., Cvetkovic M., Ljubic A. et al. Selenium and malondialdehyde content and glutathione peroxidase activity in maternal and umbilical cord blood and amniotic fluid // *Biol. Trace Elem. Res.* — 2000. — Vol. 215. — P. 11–19.
18. Mostert V. Selenoprotein P: properties, function and regulation // *Arch. Biochem. Biophys.* — 2000. — Vol. 376. — P. 433–438.
19. Okatani J., Wakatsuki A., Shinohara K. et al. Melatonin stimulates glutathione peroxidase activity in human chorion // *J. Pineal. Res.* — 2001. — Vol. 30. — P. 199–205.
20. Patching S. G., Gardiner P. H. Recent developments in selenium metabolism and chemical speciation: a review // *J. Trace Elem. Med. Biol.* — 1999. — Vol. 13. — N 4. — P. 193–214.
21. Persson-Moschos M., Huang W., Srikumar T.S. et al. Selenoprotein P in serum as a biochemical marker of selenium status // *Analyst.* — 1995. — Vol. 120. — N 3. — P. 833–836.
22. Poranen A. K., Ekblad U., Uotila P., Ahotupa M. Lipid peroxidation and antioxidants in normal and preeclamptic pregnancies // *Placenta.* — 1996. — Vol. 17. — P. 401–405.
23. Poranen F. K., Ekblad U., Uotila P., Ahotupa M. The effect of vitamin C and E on placental lipid peroxidation and antioxidative enzymes in perfused placenta // *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* — 1998. — Vol. 77. — P. 372–376.
24. Qanungo S., Mukherjee M., Ontogenic profile of some antioxidants and lipid peroxidation in human placental and fetal tissues // *Mol. Cell. Biochem.* — 2000. — Vol. 215. — P. 11–19.
25. Sies H., Sharov V. S., Klotz L. O., Briviba K. Glutathione peroxidase protects against peroxynitrite-mediated oxidation. A new function for selenoproteins as peroxynitrite reductase // *J. Biol. Chem.* — 1997. — Vol. 272. — N 44. — P. 27812–27817.
26. St Germain D. L., Galton V. A. The deiodinase family of selenoproteins // *Thyroid* — 1997. — Vol. 4. — P. 655–668.
27. Ursini F., Heim S., Kiess M. et al. Dual function of the selenoprotein PHGP_x during sperm maturation // *Science.* — 1999. — Vol. 285. — P. 1393–1396.
28. Walsh S. W., Wang Y. Deficient glutathione peroxidase activity in preeclampsia is associated with increased placental production of thromboxane and lipid peroxides // *Am. J. Obstet. Gynecol.* — 1993. — Vol. 169. — P. 1456–1461.
29. Wang Y., Walsh S. W. Antioxidant activities and mRNA expression of superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase in normal and preeclamptic placentas // *J. Soc. Gynecol. Investig.* — 2000. — Vol. 3. — P. 179–184.
30. Wictor H., Kancofer M., Zrubek H., Kotarski J. Glutathione peroxidase activity in normal and preeclamptic placentas // *Gynecol. Pol.* — 2000. — Vol. 71. — P. 799–803.