

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 ($\text{ONOO}\cdot$). 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).

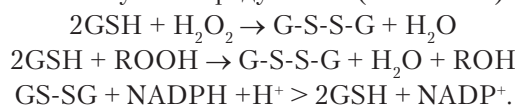
1.11. Acting on a peroxide as acceptor (подкласс: субстрат акцептор — пероксид).

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, захищаючий 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-benzisoselesazol-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 пентозо-фосфатном 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 H₂O₂ выше, поэтому она защищает от низких концентраций H₂O₂, 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].

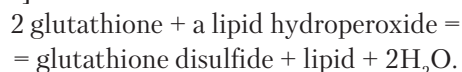
ГП2 — ГП кишечного эпителия. Кодирующий ее ген находится на 14 хромосоме. Состоит из 188 аминокислотных остатков. Селен в селеноцистеине (40я аминокислота), всего 190 а/к.

ГП3 — внеклеточный изофермент, обнаружен в плазме крови и молоке. Ген локализован на 5 хромосоме.

ГП5 — эпидермальный андроген связанный белок. Ген ГП5 расположен на 6й 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 гидроперокси- 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 липопroteинах низкой плотности. Ген белка ГП4 локализован на 19-ой хромосоме [11 с. 934].

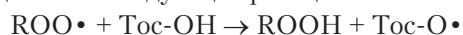


Глутатион, особенности строения: Глутатион представляет из себя g-глутаминил-L-цистенил-глицин, трипептид, образованный остатками трёх аминокислот. Особенность строения глутатиона в том, что в образовании пептидной связи между цистеином и глутаминовой кислотой, её g-карбоксильная группа последней. Глутатион 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 мМ.

Механизм катализа: В активном центре селен-зависимых 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 глутамин 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 (Е), превращается в продукт (Р1). Фермент остаётся в результате этого преобразования не в нативной форме, а в изменённой (Е') в результате модификации кофермента. Далее к активному центру Е' присоединяется субстрат В, подвергаясь преобразованию в продукт (Р2) с высвобождением нативной формы фермента (Е) [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]. Второй продукт 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., Tjønneland 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 Mu J. 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.