

## SELENOPROTEINI\* SELENOPROTEINS

Milanović Svetlana, Jovanović Ivan, Valčić Olivera\*\*

*Selen je esencijalni mikroelement sa mnogostrukim i vrlo važnim ulogama u organizmu. Za razliku od ostalih mikroelemenata koji figuriraju kao kofaktori pojedinih enzima, njegove fiziološke uloge direktno su povezane sa funkcijama proteina u čiji sastav se kotranslatočno ugrađuje putem netipične aminokiseline selenocisteina. Grupa proteina koja u svom sastavu ima selenocistein kao integralni funkcionalni deo polipeptida nazivaju se selenoproteini. Prvi enzim za koji je dokazano da u svom sastavu ima ugrađen selenocistein je glutathion peroksidaza (GPx). Do sada je identifikovano 5 izoenzimskih formi GPx koje redukuju vodonik-peroksid i organske hidroperokside, štiteći ćelije od oksidativnog oštećenja. Među najznačajnijim selenoenzimima su i jodotironin dejodinaze (ID), odgovorne za aktivaciju i deaktivaciju tireoidnih hormona. Do sada je otkriveno preko dvadeset selenoproteina, a samo za neke od njih je poznata fiziološka uloga.*

*Ključne reči: selenoproteini, selen, glutathion peroksidaza, jodotironin dejodinaza*

### Uvod / Introduction

Grupa proteina koja u svom sastavu ima selenocistein kao integralni funkcionalni deo polipeptida naziva se *selenoproteini*. Za razliku od drugih proteina u čiji sastav metali ulaze kao kofaktori, selen u sastav selenoproteina ulazi prethodno ugrađen u aminokiselinu selenocistein. Selen u sastavu selenocisteina je oko sto puta jači nukleofilni agens od sumpora iz cisteina, što mu daje karakteristična biohemijska svojstva. Pored selenoproteina postoje i proteini koji sadrže nespecifično ugrađen selen, kao i selen-vezujući proteini gde je on kofaktor. Nespecifično

\* Rad primljen za štampu 22. 10. 2014. godine

\*\* Dr sc. vet. med. Milanović Svetlana, docent, dr sc. vet. med. Jovanović Ivan, redovni profesor, dr sc. vet. med. Valčić Olivera, vanredni profesor, Fakultet veterinarske medicine Univerziteta u Beogradu

vezivanje selena u polipeptid je posledica činjenice da tRNK za metionin ne razlikuje metionin od selenometionina te se praktično selenometionin ugrađuje u polipeptid ravnopravno sa metioninom u meri u kojoj je prisutan u hrani (Papp i sar., 2007).

Činjenica da selenoproteine osim eukariota imaju i najprimitivniji, evolutivno najstariji organizmi (prokarioti), govori o tome da je evolucija selenoenzima počela vrlo rano i da je povezana sa početkom 'kiseoničnog' metabolizma na Zemlji, kao neophodan mehanizam antioksidativne zaštite. Iako postoje značajne razlike u mehanizmu sinteze selenoproteina kod eukariota i prokariota, i kod jednih i kod drugih su za sintezu neophodni sledeći elementi: UGA-Sec kodon, specifična tRNK, SECIS element i nekoliko drugih faktora. Sinteza selenoproteina je jedinstven biohemijski proces koji se odlikuje mnogim specifičnostima. Prva od njih je da se selenocistein sintetiše na samoj tRNK. Druga specifičnost je što se prilikom translacije, UGA kodon na iRNK, inače jedan od tri STOP kodona odgovorna za terminaciju translacije, specifično prekodira u kodon za ugradnju selenocisteina (Berry i sar., 1991).

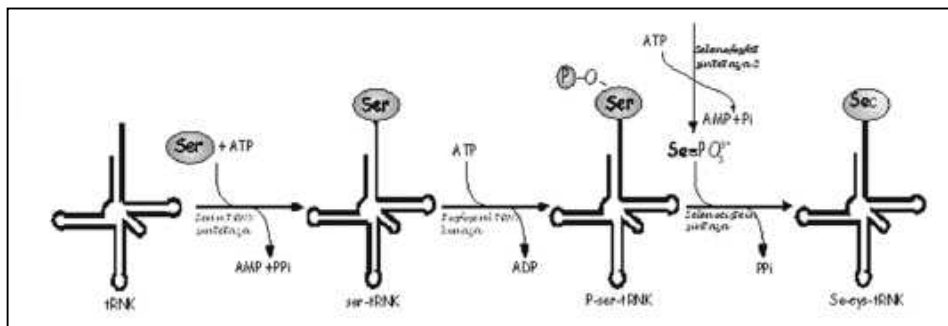
#### **Mehanizam biosinteze selenocisteina i njegove ugradnje u polipeptidni lanac** *Mechanisms of biosynthesis of selenocysteine and its embedding in polypeptide chain*

Selenocistein (Sec) je aminokiselina koja se kotranslatorno ugrađuje u protein. Za razliku od svih ostalih aminokiselina, njegova sinteza se odvija na samoj transportnoj RNK (Lee i sar., 1989).

Genom sisara sadrži samo jednu kopiju gena koji kodira dve specifične izoforme tRNK na kojima se odvija sinteza selenocisteina. Molekul tRNK sadrži 90 nukleotida sa 4 modifikovane baze (Itoh i sar., 2009). Ova dva tipa sekundarne strukture tRNK se označavaju kao 7/5 (7 parova baza na akceptorskom kraku i 5 parova baza na T kraku) i 9/4. Prilikom aminoacilacije, tj. vezivanja aminokiseline, za ovu tRNK se primarno vezuje serin uz katalitičku aktivnost seril-tRNK sintetaze (slika 1) i nastaje seril-tRNK. Aktivacija seril-tRNK vezivanjem fosforne grupe odvija se pomoću fosfoseril tRNK kinaze i nastaje fosfoseril-tRNK. Zatim, selenocistein sintaza defosforiliše O-fosfoseril-tRNK uz prenos monoselenofosfata na tRNK. Monoselenofosfat je aktivna forma selena koji nastaje od selenida uz učešće ATP-a (Glass i sar., 1993). Enzim koji katalizuje ovu reakciju kod sisara je selenofosfat sintetaza 2 (SPS2) koja je i sama selenoprotein, te se pretpostavlja da autoregulacijom sopstvene sinteze reguliše i sintezu ostalih selenoproteina (Guimaraes i sar., 1996). Vezivanjem monoselenofosfata za tRNK formira se selenocisteil-tRNK (Sec-tRNK).

Druga specifičnost u sintezi selenoproteina je ta što se UGA kodon (STOP kodon) na iRNK, očitava kao kodon za ugradnju selenocisteina. Da bi se UGA kodon prekodirao za ugradnju selenocisteina, pored specifične tRNK neophodan je i takozvani SECIS element (*Selenocysteine Insertion Sequence*). On se nalazi u

3' netranslatornom regionu (UTR) iRNK za odgovarajući selenoprotein i po nekoliko hiljada nukleotida udaljen od UGA kodona, (Berry i sar., 1991). SECIS element zauzima oblik ukosnice i mogu ga sačinjavati različiti nukleotidi, ali postoje visoko-konzervirane sekvence nukleotida kao što su dve nesparene AA rezidue na apikalnoj petlji ukosnice (ili CC na SECIS elementu za selenoprotein M i selenoprotein O), AGUA(G) na 5' i GA na 3' kraju. Između ovih nukleotida je uočeno nestandardno A-G i G-A sparivanje (Walczak i sar, 1998). Ono se nalazi i kod drugih iRNK na mestima koja služe za vezivanje odgovarajućih RNK-vezujućih proteina. Ova forma SECIS elementa je zapažena kod glutation peroksidaza (GPx) i dejodinaze tipa 1 (ID1). Kod dejodinaza tipa 2 i 3 (ID2 i ID3), SECIS element ima



Slika 1. Sinteza selenocisteina na samoj tRNK (objašnjenje dato u tekstu) /  
 Picture 1. Synthesis of selenocysteine on the tRNA (explanation in the text)

dodatnu petlju.

Osim ovih elemenata, za ugradnju selenocisteina je neophodno prisustvo još nekih proteina kao što su SECIS-vezujući protein 2 (SBP2), Sec specifični faktor elongacije (eEF<sub>Sec</sub>), ribozomski L30 protein, <sub>Sec</sub>p43 i SLA protein faktor.

### Selenoproteini: vrsta i funkcija / Selenoproteins: types and functions

Kod ljudi i glodara je identifikovano preko 20 vrsta selenoproteina. Neki od njih imaju slične funkcije u organizmu, ali su kodirani sa nekoliko različitih gena: glutation peroksidaze (5), tioredoksin reduktaze (3), jodotironin dejodinaze (3), selenofosfat sintetaze (2). Ostali identifikovani selenoproteini su: Sep15, SelH, Sell, SelK, SelM, SelN, SelO, SelP, SelR, SelS, SelT, SelV i SelW. Samo nekoliko od ovih proteina je poznata fiziološka uloga i uglavnom je u vezi sa procesima oksidoredukcije.

### Glutation peroksidaze / Glutathione peroxidase

Glutation peroksidaza je prvi protein sisara za koji je pokazano da u katalitičkom centru ima ugrađen selen u obliku selenocisteina (Forstrom i sar., 1978).

Ovaj enzim katalizuje redukciju vodonik peroksida i organskih hidroperoksida štiteći ćeliju od oksidativih oštećenja. Kod ljudi je identifikovano sedam glutacion peroksidaza od čega su pet selenoenzimi, a dve umesto selenocisteina imaju cistein. Familiji (selenskih) glutacion peroksidaza pripadaju:

1. citosolna glutacion peroksidaza (cGPx ili GPx1);
2. gastrointestinalna GPx (GI-GPx ili GPx2) (Wingler, 1999);
3. glutacion peroksidaza krvne plazme (pGPx ili GPx3) (Takahashi, 1990);
4. fosfolipid hidroperoksid glutacion peroksidaza (PHGPx ili GPx4) (Thomas, 1988);
5. glutacion peroksidaza 6 (GPx6) (Kryukov i sar., 2003).

Relativne molekulske mase svih glutacion peroksidaza su prilično ujednačene. U sastav enzima ulaze četiri identične subjedinice, a svaka od njih u katalitičkom centru sadrži atom selena ugrađen u selenocistein. Subjedinica GPx se sastoji od 198 aminokiselina, a selenocistein je po redosledu 45. aminokiselina (Günzler i sar., 1984). Izuzetak od ove šeme građe donekle čini GPx4 koja je sačinjena od samo jednog polipeptidnog lanca.

*Glutacion peroksidaza 1 (GPx1)* je enzim citoplazme koji redukuje vodonik-peroksid i perokside slobodnih masnih kiselina. Smatra se da je uloga ovog enzima u fiziološkim uslovima i normalnom razviću ograničena jer su miševi koji nemaju ovaj enzim zdravi, plodni i ne pokazuju povećanu senzitivnost na hiperoksiju (Ho i sar., 1997). Međutim, izlaganje ovih miševa agensima koji izazivaju oksidativni stres (vodonik-peroksid, parakvat) izaziva povećan morbiditet i mortalitet (de Haan, 1998). Uloga GPx1 je u sprečavanju oksidacije molekula NADPH, NADH, lipida i proteina (Cheng, 2003). Ova peroksidaza je vrlo osetljiva na promene statusa selena pri čemu kod selendeficitnih jedinki za 90% opada nivo odgovarajuće iRNK i za 99% aktivnost samog enzima. Na ekspresiju GPx1 bi u uslovima deficita selena mogli inhibitorno uticati i tireoidni hormoni (Milanović, 2012).

*Glutacion peroksidaza 2 (GPx2)* je pronađena u epitelu gastrointestinalnog trakta, a struktura joj je slična sa GPx1 (Wingler, 1999). Miševi kod kojih je genskom modifikacijom sprečena sinteza GPx2 su normalno razvijeni, ali kombinacija nedostatka i GPx1 i GPx2 dovodi do zaostajanja u razvoju kao i bakterijskih infekcija creva, što dovodi do razvoja tumora ileuma (Chu i sar., 2004). Smatra se da je antikancerogena uloga GPx2 u vezi sa metabolisanjem vodonik-peroksida nastalog usled inflamacije (Esworthy i sar., 2005). Koliko je GPx2 važan može se zaključiti i iz činjenice da pri deficitu selena količina njene iRNK ne opada, a da je pri nadoknadi selenom njegova sinteza prioritet u odnosu na ostale selenoproteine.

*Glutacion peroksidaza 3 (GPx3)* je jedini enzim iz familije glutacion peroksidaza koji se luči u međućelijski prostor i ima značajnu ulogu u antioksidativnim procesima u krvnoj plazmi (Brigelius-Flohe, 1999). Glavni izvor ekstracelularne GPx su bubrezi, a sintetišu je epitelne ćelije proksimalnih tubula nefrona i parietalne ćelije Boumanove kapsule (Yoshimura i sar., 1991). Supstrati za ovaj enzim

su vodonik–peroksid, hidroperoksidi masnih kiselina i fosfolipidni hidroperoksidi. Sa starošću jedinki, aktivnost GPx3 raste kod pacova (Bates i sar., 2000), a slični rezultati su dobijeni i kod nekih drugih životinjskih vrsta: goveda (Jovanović i sar., 2004.), pilića (Valčić i sar., 2011.). Međutim, ukoliko postoji deficit selena, aktivnost GPx3 ostaje na nivou aktivnosti kod juvenilnih jedinki (Milanović, 2012). Kako aktivnost GPx3 opada i do 99% u slučaju deficita selena, ona se široko koristi u proceni statusa selena, što je naročito značajno kod domaćih životinja koje potiču iz selen–deficitnih područja ili se hrane biljnim hranivima poreklom iz ovih područja. Hraniva sa teritorije Srbije sadrže u proseku  $30,4 \pm 27,4$   $\mu\text{g}/\text{kg}$  selena pri čemu je najniža koncentracija selena utvrđena u hranivima sa Pešterske visoravni (Mihailović i sar., 1996), a hraniva iz Banata i Bačke imaju količinu selena ispod minimalnih potreba za normalan rast i proizvodnju (Jovanović, 1998). Valčić i sar. (2013) su ustanovili kod ovaca uzgajanih južno od Dunava značajno nižu aktivnost glutacion peroksidaze u krvi nego kod jedinki uzgajanih severno od Dunava, pri čemu je aktivnost enzima korelirala sa količinom selena u hranivima poreklom iz tih područja.

*Glutation peroksidaza 4 (GPx4)*, za razliku od ostalih GPx, može direktno da redukuje fosfolipidne i holesterol hidroperoksida koristeći elektrone iz tiolnih grupa samog proteina kao i od glutaciona (Imai i Nakagawa, 2003). Ova peroksidaza je zastupljena u citosolu, mitohondrijama, čak i u jedru ćelija različitih tkiva. Nedostatak enzima dovodi do smrti embriona (Imai i sar., 2003), a smanjena aktivnost uzrokuje povećanu osetljivost na oksidativni stres izazvan  $\gamma$  zračenjem, parakvatom, tercijalnim butilhidroperoksidom i vodonik peroksidom (Yant i sar., 2003). Ovaj enzim takođe učestvuje u sazrevanju spermatozoida. Jedarna izoforma GPx4 ima ulogu u kondenzaciji hromatina i njegovoj strukturnoj stabilnosti u spermatozoidima (Conrad i sar., 2005). Izučavanja vršena na pacovima su ukazala na povezanost nivoa selena i plodnosti mužijaka (Olson i sar., 2004). Petrukić i sar. (2014), na osnovu rezultata istraživanja izvedenih na nerastima, takođe zaključuju da selen ima pozitivan efekat na koncentraciju i pokretljivost spermatozoida. Smanjena aktivnost ovog enzima snižava motilitet i vijabilnost spermatozoida ljudi (Foresta i sar., 2002).

*Glutation peroksidaza 6 (GPx6)* je identifikovana kao selenoenzim samo kod ljudi, dok je kod pacova i miševa umesto selenocisteina u molekulu proteina zastupljen cistein (Kryukov i sar., 2003).

#### **Tioredoksin reduktaze / Thioredoxin reductase**

Enzimi tioredoksin reduktaze (TrxR) zajedno sa tioredoksinom i NADPH čine tioredoksin sistem koji je najveći ćelijski redoks sistem zastupljen kod svih organizama. Tioredoksin reduktaze kod sisara imaju raznovrsne uloge, između ostalog, kontrolišu funkciju centralnog redoks molekula tioredoksina, a mogu i sami direktno da redukuju nekoliko supstrata.

Do sada su identifikovane 3 izoforme tioredoksin reduktaze i to citosolna TrxR1 (Tamura i Stadtman, 1996), mitohondrijalna TrxR2 (Lee i sar., 1999) i TrxR3 iz testisa (Sun i sar., 2001). Ovo je jedina poznata grupa enzima koja katalizuje NADPH zavisnu redukciju oksidovanog tioredoksina, te su mnogi ćelijski procesi u vezi sa aktivnošću ovih enzima.

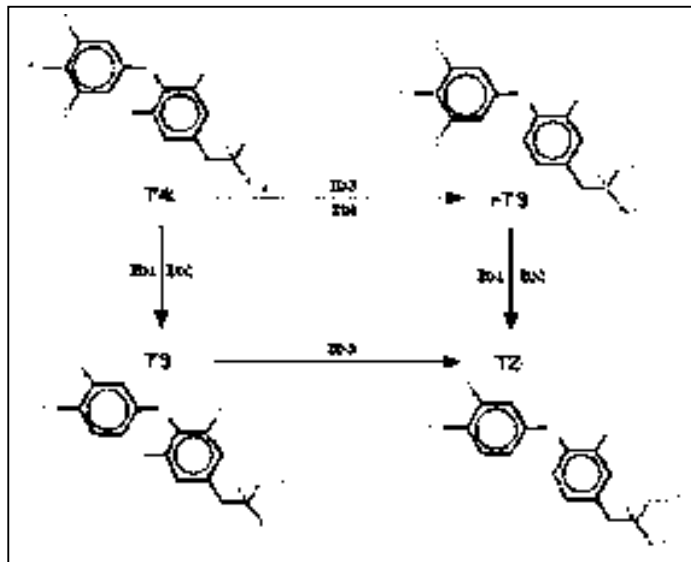
Tioredoksin sistem ima centralnu ulogu u regulaciji ekspresije gena putem redoks kontrole nekih transkripcionih faktora, glukokortikoidnih receptora i enzima apoptoza regulatorne kinaze te indirektno utiče na proliferaciju ćelija, ćelijsku smrt i aktivaciju imunskog odgovora (Rundlof i Arner, 2004).

Supstrati za ovaj enzim takođe mogu biti selenit, selenodiglutation, metilseleminat, selenocistein i ebselen. Selenodiglutation i selenit se redukuju u vodonik selenid koji je donor selena prilikom sinteze selenocisteina te TrxR ima važnu ulogu u kontroli sinteze svih selenoproteina (Ganther, 1999).

Veza između suplementacije selena i ekspresije TrxR je kompleksna i zavisi od izvora selena kao i od tipa ćelija, odnosno tkiva (Arner, 2009). Deficit selena smanjuje aktivnost TrxR u jetri i bubrezima dok je u mozgu ona očuvana (Hill i sar., 1997).

#### Jodotironin dejodinaze / *Iodothyronine deiodinase*

Dejodinacija T4 se smatra krajnjim korakom u nastanku aktivnog tireoidnog hormona (T3). Dva različita enzima prevode T4 u T3 i to su jodotironin dejodinaza 1 (ID1) i jodotironin dejodinaza 2 (ID2) koje vrše dejodinaciju spoljnog prste-



Slika 2. Dejodinacija tireoidnih hormona  
Picture 2. Deiodination of thyroid hormones

na tiroksina. Dejodinacijom unutrašnjeg prstena inaktivira se T4 pri čemu nastaje reverzni T3 (rT3), a ovaj proces mogu katalizovati ID1 kao i ID3 (slika 2).

*Jodotironin dejodinaza tipa 1* (ID1) obezbeđuje gotovo 80% T3 u krvnoj plazmi ljudi. Kod ljudi je nema u CNS-u (Campos-Barros i sar., 1996). ID1 se nalazi u mnogim tkivima pacova: jetri, bubrezima, centralnom nervnom sistemu, hipofizi, štitastoj žlezdi, crevima i placenti (Bianco i sar, 2002).

Novija istraživanja potvrđuju da je ID1 smeštena u plazma membrani ćelija bubrega i tireocita (Baqui i sar., 2000). Dejodinaza 1 je monomerni integralni membranski protein tipa 1 (Toyoda i sar., 1995a). Položaj katalitičkog centra na citoplazmatskoj strani i položaj samog molekula u plazma membrani omogućavaju olakšan pristup cirkulišućem vanćelijskom T4 kao i rT3, koji su supstrati za ovaj enzim. Smatra se da je zahvaljujući svojoj lokalizaciji, ID1 glavni proizvođač T3 plazme, a da je ID2 koja je lokalizovana u endoplazmatskom retikulumu (ER) odgovorna za generisanje intracelularnog T3 (Larsen i sar., 1981).

Primarnu ulogu u regulaciji aktivnosti i ekspresije ID1 ima nivo tireoidnih hormona koji povećavaju i njenu ekspresiju i aktivnost (Berry i sar., 1990). Na bočnom regionu ID1 gena postoje dva TRE (*thyroid response element*) (Toyoda, 1995b, Jakobs, 1997) preko kojih tireoidni hormoni pojačavaju njegovu transkripciju. Regulacija aktivnosti ove dejodinaze mogla bi da bude i pod uticajem tireostimulirajućeg hormona (TSH) koji izaziva trostruko povećanje koncentracije iRNK za ID1 (Toyoda, 1992).

*Jodotironin dejodinaza tipa 2* katalizuje dejodinaciju spoljnog prstena tiroksina, dakle konverziju T4 u T3 ili rT3 u 3,3'-T2. Kod pacova je zastupljena u hipofizi (Cheron i sar., 1979), mozgu (Leonard, 1988) i mrkom masnom tkivu (Silva i Larsen, 1983). Aktivnost ovog enzima je takođe uočena i u gonadama pacova, epifizi, timusu, mlečnoj žlezdi, materici skotnih ženki pacova, koronarnim arterijama i glatkim mišićnim ćelijama aorte. Kod ljudi je eksprimirana u štitastoj žlezdi, srcu, mozgu, kičmenoj moždini, skeletnim mišićima i placenti. Kod pacova je nema u srcu i skeletnim mišićima, a ekspresija u tireoideji adultnih pacova je jako mala (Gereben i sar., 2001).

Dejodinaza 2 je integralni membranski protein čiji je amino-terminalni kraj u lumenu endoplazmatskog retikuluma, a karboksi-terminalni kraj u citoplazmi (Baqui i sar., 2000). Za razliku od ID1, neosetljiva je na inhibitorno dejstvo propiltiouracila - PTU (Salvatore i sar., 1996), ali se, kao i ID1 i ID3, kompetitivno inhibira sa jopanoičnom kiselinom (Germain, 1988a, 1988b). Pretpostavlja se da se u uslovima hipotireoze izazvane sa PTU, naročito ako je hipotireoza udružena sa deficitom selena na koji je ID1 osetljivija nego ID2, raspoloživi selen preusmerava u sintezu ID2 kako bi se održala fiziološka koncentracija aktivnog T3 (Milanović, 2012).

Prilikom izlaganja niskim temperaturama, kod životinja se u mrkom masnom tkivu povećava aktivnost ID2 ali se povećava i količina iRNK za ID2. Porast

Tabela 1. Selenoproteini, njihova distribucija u organizmu i funkcije (Pappas i sar., 2008)  
 Table 1. Selenoproteins, their distribution in the body and functions (Pappas i sar., 2008)

Enzim/protein / Enzyme/protein	Skraćenica / Abbreviation	Funkcija u organizmu / Function in the body	Tkivo, ćelija / Tissue, cells
<b>Glutation peroksidaze / Glutathione peroxidase</b>			
Citosolna / Cytosolic	cGPx, GPx-1	Antioksidativna zaštita / Antioxidative protection	Gotovo sva tkiva i ćelije / Almost all tissues and cells
Plazmatska / Plasmatic	pGPx, GPx-3	Antioksidativna zaštita / Antioxidative protection	Ekstracelularni prostor, plazma / Extracellular space, plasma
Gastrointestinalna / Gastrointestinal	GI-GPx, GPx-2	Antioksidativna zaštita / Antioxidative protection	GIT
Fosfolipid hidroperekso- glutation peroksidaza / Phospholipid hydroperoxi- de glutathione peroxidase	GPx-4	Antioksidativna zaštita / Antioxidative protection	Ćel. membrana, razna tkiva / Cell membrane, various tissues
Glutation peroksidaza 6 / Glutathione peroxidase	GPx-6	Antioksidativna zaštita / Antioxidative protection	Olfaktorna sluzokoža, embri- onska tkiva / Olfactory mucous mem- branes, embryonic tissues
<b>Tioredoksin reduktaze / Thioredoxin reductase</b>			
Tioredoksin reduktaza 1 / Thioredoxin reductase 1	TRxR1	Deo tioredoksin sistema, antioksidativna zaštita, redoks regulaci- ja, ćelijska signalizacija / Part of thioredoxin system, antioxidative protecti- on, redox regulation, cell signaling	Citoplazma, jetra, srce, bubrezi / Cytoplasm, liver, heart, kidneys
Tioredoksin reduktaza 2 / Thioredoxin reductase 2	TRxR2	Deo tioredoksin sistema, antioksidativna zaštita, redoks regulaci- ja, ćelijska signalizacija / Part of thioredoxin system, antioxidative protecti- on, redox regulation, cell signaling	Mitohondrije, jetra, bubrezi / Mitochondria, liver, kidneys
Tioredoksin reduktaza 3 / Thioredoxin reductase 3	TRxR3	Deo tioredoksin sistema, antioksidativna zaštita, redoks regulaci- ja, ćelijska signalizacija / Part of thioredoxin system, antioxidative protecti- on, redox regulation, cell signaling	Testisi / Testicles
<b>Jodotironin dejodinaze / Iodothyronine deiodinase</b>			
Dejodinaza 1 / Deiodinase 1	ID1	Konverzija T4 u T3 i T4 u rT3 / Conversion T4 into T3 and T4 into rT3	Jetra, bubrezi, štitasta žlezda / Liver, kidneys, thyroid gland



nastavak tabele 1. / cont. Table 1

Dejodinaza 2 / <i>Deiodinase 2</i>	ID2	Konverzija T4 u T3 / <i>Conversion T4 into T3</i>	Jetra, bubrezi, štitasta žlezda, mrko masno tkivo / <i>Liver, kidneys, thyroid gland, brown adipose tissue</i>
Dejodinaza 3 / <i>Deiodinase 3</i>	ID3	Konverzija T4 u rT3 / <i>Conversion T4 into rT3</i>	Placenta, mozak, koža / <i>Placenta, brain, skin</i>
Selenofosfat sintetaza / <i>Selenophosphate synthetase</i>	SPS2	Sinteza selenofosfata / <i>Synthesis of selenophosphate</i>	Testisi, razna tkiva / <i>Testicles, various tissues</i>
15-kDa selenoprotein / <i>15-kDa selenoprotein</i>	Sel 15	Ćelijska apoptoza / <i>Cell apoptosis</i>	ER, T limfociti, razna tkiva / <i>ER, T lymphocytes, various tissues</i>
Selenoprotein H / <i>Selenoprotein H</i>	Sel H	Nepoznata, verovatno u regulaciji gena odgovornih za sintezu glutationa / <i>Unknown, probably in the regulation of genes responsible for synthesis of glutathione</i>	
Selenoprotein I / <i>Selenoprotein I</i>	Sel I	Etanolaminfosfotransferazna aktivnost / <i>Ethanolamine phospho transferal activity</i>	
Selenoprotein K / <i>Selenoprotein K</i>	Sel K	Antioksidativna zaštita / <i>Antioxidative protection</i>	Kardiomiociti / <i>Cardiomyocytes</i>
Selenoprotein M / <i>Selenoprotein M</i>	Sel M	Vezana za Sel 15, moguća uloga u etiologiji kancera / <i>Tied to Sel 15, possible role in etiology of cancer</i>	Mozak, razna tkiva / <i>Brain, various tissues</i>
Selenoprotein N / <i>Selenoprotein N</i>	Sel N	Nepoznata / <i>Unknown</i>	ER
Selenoprotein O / <i>Selenoprotein O</i>	Sel O	Nepoznata / <i>Unknown</i>	Široko rasprostranjen / <i>Widespread</i>
Selenoprotein P / <i>Selenoprotein P</i>	Sel P	Transport selenena, antioksidativna zaštita / <i>Transport of selenium, antioxidative protection</i>	Plazma, mnoga tkiva / <i>Plasma, many tissues</i>
Selenoprotein R / <i>Selenoprotein R</i>	Sel R	Redukcija oksidovanog metionina u oštećenim proteinima / <i>Reduction of oxidized methionine in damaged proteins</i>	Citosol, jedro / <i>Cytosol, core</i>
Selenoprotein S / <i>Selenoprotein S</i>	Sel S	Ćelijska redoks ravnoteža, moguća uloga u imunskom odgovoru / <i>Cellular redox balance, possible role in immune response</i>	ER
Selenoprotein T / <i>Selenoprotein T</i>	Sel T	Homeostaza Ca <sup>2+</sup> , neuroendokrina sekrecija / <i>Ca<sup>2+</sup> homeostasis, neuroendocrine secretion</i>	Ubikvitiran / <i>Ubiquitous</i>
Selenoprotein V / <i>Selenoprotein V</i>	Sel V	Nepoznata, moguća u redoks regulaciji / <i>Unknown, possible in redox regulation</i>	Testisi / <i>Testicles</i>
Selenoprotein W / <i>Selenoprotein W</i>	Sel W	Antioksidativna zaštita / <i>Antioxidative protection</i>	Srce i druga tkiva / <i>Heart and other tissues</i>

aktivnosti ID2 u izolovanim adipocitima mrkog masnog tkiva je zabeležen pri upotrebi norepinefrina, insulina i glukagona, a pad pri upotrebi hormona rasta (Silva i Larsen, 1986a).

Tireoidni status utiče na ekspresiju ID2 kako na predtranslacionom tako i na posttranslacionom nivou (Silva i Larsen, 1986b; Germain, 1985). Kod hipotireoidnih pacova se u kori velikog mozga povećava koncentracija iRNK za ID2, kao i aktivnost ovog enzima (Burmeister i sar., 1997). Nakon dodavanja T3 dolazi do pada koncentracije iRNK za ID2 a nakon dodavanja T4 se smanjuje aktivnost samog enzima. Kim (1998) smatra da je supresija iRNK za ID2 koju izaziva T3 na nivou transkripcije. Regulacija aktivnosti samog enzima sa T4 je na posttranslacionom nivou jer sa količinom prisutnog T4 povećava količina ID2 vezana za ubikvitin.

*Jodotironin dejodinaza tipa 3* je selenoenzim koji katalizuje dejodinaciju unutrašnjeg prstena tireoidnih hormona i dovodi do deaktivacije tireoidnih hormona, pri čemu nastaju neaktivni rT3 od T4, odnosno 3,3'-T2 od T3. Ovaj enzim štiti tkiva od prekomerne količine tireoidnih hormona i na taj način učestvuje u homeostazi. Osim u centralnom nervnom sistemu, ID3 je zastupljena i u koži, placenti i gravidnom uterusu pacova. Kod neonatalnih pacova, ID3 je zastupljena u skeletnoj muskulaturi, jetri i crevima (Bates i sar., 2000). Tokom embriogeneze ovaj enzim ima veliku ulogu u homeostazi tireoidnih hormona jer izlaganje embriona visokom nivou tireoidnih hormona majke može dovesti do malformacija, poremećenog rasta, mentalne retardacije, pa čak i smrti ploda.

Aktivnost dejodinaze 3 raste kod hipertireoidizma, a opada u CNS-u pacova tokom hipotireoidizma (Kaplan i Yaskoski, 1980). U svim regijama CNS-a u kojima je zastupljena iRNK za ID3, u zavisnosti od stepena hipertireoidizma, nivo se povećava i do 50 puta u odnosu na eutireoidne jedinke, a najizraženije povećanje je u cerebelumu. Još uvek nije jasno da li je ovo povećanje nakon kratkog izlaganja T3 posledica povećane transkripcije gena za ID3, povećane stabilnosti iRNK za ID3 ili kombinacija ova dva faktora.

#### **Ostali selenoproteini / Other selenoproteins**

Pregled funkcija gore pomenutih i ostalih otkrivenih selenoproteina prikazan je u tabeli 1.

#### **NAPOMENA / ACKNOWLEDGEMENTS:**

Rad je realizovan iz projekta TR31050 i TR31003 Ministarstva za nauku i tehnologiju Republike Srbije. *The work is funded within TR31050 i TR31003, by Ministry of Education, Science and Technological Development of the Republic of Serbia.*

## Literatura / References

1. Arner ES. Focus on mammalian thioredoxin reductases- Important selenoproteins with versatile functions. *Biochim Biophys Acta*, 2009; 1790: 495-526.
2. Baqui MM, Gereben B, Harney JW, Larsen PR, Bianco AC. Distinct subcellular localization of transiently expressed types 1 and 2 iodothyronine deiodinases as determined by immunofluorescence confocal microscopy. *Endocrinology* 2000; 141: 4309-12.
3. Bates JM, Spate VL, Morris JS, St. Germain DL, Galton VA. Effects of selenium deficiency on tissue selenium content, deiodinase activity, and thyroid hormone economy in the rat during development. *Endocrinology* 2000; 141: 2490-500.
4. Berry MJ, Banu L, Chen YY, Mandel SJ, Kieffer JD, Harney JW, Larsen PR. Recognition of UGA as a selenocysteine codon in type I deiodinase requires sequences in the 3' untranslated region. *Nature* 1991; 353: 273-6.
5. Berry MJ, Kates AL, Larsen PR. Thyroid hormone regulates type I deiodinase messenger RNA in rat liver. *Mol Endocrinol*, 1990; 4: 743-8.
6. Bianco AC, Salvatore D, Gereben B, Berry MJ, Larsen PR. Biochemistry, cellular and molecular biology, and physiological roles of the iodothyronine selenodeiodinases. *Endocr Rev* 2002; 23: 38-89.
7. Brigelius-Flohe R. Tissue-specific functions of individual glutathione peroxidases. *Free Radic Biol Med* 1999; 27: 951-65.
8. Burmeister LA, Pachucki J, St. Germain DL. Thyroid hormones inhibit type 2 iodothyronine deiodinase in the rat cerebral cortex by both pre- and posttranslational mechanisms. *Endocrinology* 1997; 138: 5231-7
9. Campos-Barros A, Hoell T, Musa A, Sampaolo S, Stoltenburg G, Pinna G, Eravci M, Meinhold H, Baumgartner A. Phenolic and tyrosyl ring iodothyronine deiodination and thyroid hormone concentrations in the human central nervous system. *J Clin Endocrinol Metab* 1996; 81: 2179-85.
10. Cheng WH, Quimby FW, Lei XG. Impacts of glutathione peroxidase- 1 knockout on the protection by injected selenium against the pro-oxidant-induced liver aponecrosis and signaling in selenium- deficient mice. *Free Radic Biol Med* 2003; 34: 918-27.
11. Cheron RG, Kaplan MM, Larsen PR. Physiological and pharmacological influences on thyroxine to 3,5,3'-triiodothyronine conversion and nuclear 3,5,3'-triiodothyronine binding in rat anterior pituitary. *J Clin Invest*, 1979; 64: 1402-14.
12. Chu FF, Esworthy RS, Chu PG, Longmate JA, Huycke MM, Wilczynski S, Doroshov JH, Aranda R, Martin MG, Binder SW. Bacteria-induced intestinal cancer in mice with disrupted Gpx1 and Gpx2 genes, mice with combined disruption of Gpx1 and Gpx2 genes have colitis. *Cancer Res* 2004; 64: 962-8.
13. Conrad M, Moreno SG, Sinowatz F, Ursini F, Kolle S, Roveri A, Brielmeier M, Wurst W, Maiorino M, Bornkamm GW. The nuclear form of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase is a protein thiol peroxidase contributing to sperm chromatin stability. *Mol Cell Biol*, 2005; 25: 7637-44.
14. de Haan JB, Bladier C, Griffiths P, Kelner M, O'Shea RD, Cheung NS, Bronson RT, Silvestro MJ, Wild S, Zheng SS, Beart PM, Hertzog PJ, Kola I. Mice with a homozygous null mutation for the most abundant glutathione peroxidase, Gpx1, show increased susceptibility to the oxidative stress-inducing agents paraquat and hydrogen peroxide. *J Biol Chem* 1998; 273(35), 22528-36.
15. Esworthy RS, Yang L, Frankel PH, Chu FF, Aranda R, Martin MG, Doroshov JH, Binder SW. Epithelium-specific glutathione peroxidase, Gpx2, is involved in the prevention of intestinal inflammation in selenium-deficient mice: mice with combined disruption of Gpx1 and Gpx2 genes have colitis. *J Nutr* 2005; 135: 740-5.

16. Foresta C, Flohe L, Garolla A, Roveri A, Ursini F, Maiorino M. Male fertility is linked to the seleno-protein phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. *Biol Reprod* 2002; 67: 967–71.
17. Forstrom JW, Zakowski JJ, Tappel AL. Identification of the catalytic site of rat liver glutathione peroxidase as selenocysteine. *Biochemistry*, 1978; 17: 2639–44.
18. Ganther HE. Selenium metabolism, selenoproteins and mechanisms of cancer prevention: complexities with thioredoxin reductase, *Carcinogenesis*, 1999; 20: 1657–66.
19. Gereben B, Salvatore D, Harney JW, Tu HM, Larsen PR. The human, but not rat, *dio2* gene is stimulated by thyroid transcription factor-1 (TTF-1). *Mol Endocrinol* 2001; 15: 112–24.
20. Germain DL. Metabolic effect of 3,3',5'-triiodothyronine in cultured growth hormone-producing rat pituitary tumor cells. Evidence for a unique mechanism of thyroid hormone action. *J Clin Invest* 1985; 76: 890–3.
21. Germain DL. The effects and interactions of substrates, inhibitors, and the cellular thiol-disulfide balance on the regulation of type II iodothyronine 5'-deiodinase. *Endocrinology* 1988a; 122: 1860–8.
22. Germain DL. Dual Mechanisms of Regulation of Type I Iodothyronine 5'-Deiodinase in the Rat Kidney, Liver, and Thyroid Gland Implications for the Treatment of Hyperthyroidism with Radiographic Contrast Agents. *J Clin Invest* 1988b; 81: 1476–84.
23. Glass R, Singh W, Jung W, Veres Z, Scholz T, Stadtman T. Monoselenophosphate: Synthesis, characterization and identity with the procariotic biological selenium donor, compound SePX. *Biochemistry* 1993; 32: 12555-9.
24. Guimaraes, MJ, Peterson D, Vicari A, Cocks BG, Copeland NG, Gilbert DJ, Jenkins NA, Ferrick DA, Kastelein RA, Bazan JF, Zlotnik A. Identification of a novel seld homolog from eukaryotes, bacteria, and archaea: Is there an autoregulatory mechanism in selenocysteine metabolism? *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 15086–91.
25. Günzler WA, Steffens GJ, Grossman A, Kim SMA, Otting F, Wendel A, Flohe L. The aminoacid sequence of a bovine glutathione peroxidase. *Hoppe-Seyler's Z Physiol Chem* 1984; 365: 195.
26. Hill KE, McCollum WG, Boeglin ME, Burk RF. Thioredoxin reductase activity is decreased by selenium deficiency. *Biochem Biophys Acta* 1997; 234: 293-5.
27. Ho YS, Magnenat JL, Bronson RT, Cao J, Gargano M, Sugawara M, Funk CD. Mice deficient in cellular glutathione peroxidase develop normally and show no increased sensitivity to hypoxia. *J Biol Chem* 1997; 272: 16644–51.
28. Imai H, Nakagawa Y. Biological significance of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase (PHGPx, GPx4) in mammalian cells. *Free Radic Biol Med* 2003; 34: 145–69.
29. Imai Y, Toyoda N, Maeda A, Kadobayashi T, Wang F, Kuma K, Mitsushige N, Iwasaka T. Type 2 iodothyronine deiodinase expression is upregulated by protein kinase A-dependent pathway and is downregulated by the protein kinase C-dependent pathway in cultured human thyroid cells. *Thyroid* 2001; 11: 899–907.
30. Itoh Y, Chiba S, Sekine S, Yokoyama S. Crystal structure of human selenocysteine tRNA. *Nucleic Acids Research* 2009; 37: 6259-6268.
31. Jakobs TC, Schmutzler C, Meissner J, Kohrle J. The promoter of the human type I 5' - deiodinase gene - Mapping of the transcription start site and identification of a DR+4 thyroid-hormone-responsive element, *Eur J Biochem* 1997; 247: 288-97.
32. Jovanović I, Pešut O, Mihailović M, Kosanović M. Selenium content in feedstuffs in Vojvodina, Serbia. *Acta veterinaria* 1998; 48: 339-43.
33. Jovanović I, Pešut O, Gvozdić D, Stojić V. Selenium and iodine status relationship in calves and heifers from selenium and iodine deficient areas in Serbia. *Acta Veterinaria* 2004; 54: 3-11.
34. Kaplan MM, Yaskoski KA. Phenolic and tyrosyl ring deiodination of iodothyronines in rat brain homogenates. *J Clin Invest* 1980; 66: 551–2.

35. Kim SW, Harney JW, Larsen PR. Studies of the hormonal regulation of type 2 5'-iodothyronine deiodinase messenger ribonucleic acid in pituitary tumor cells using semiquantitative reverse transcription-polymerase chain reaction. *Endocrinology* 1998; 139: 4895–905.
36. Kryukov GV, Castellano S, Novoselov SV, Lobanov AV, Zehtab O, Guigo R, Gladyshev VN. Characterization of mammalian selenoproteomes. *Science* 2003; 300: 1439–43.
37. Larsen PR, Silva JE, Kaplan MM. Relationships between circulating and intracellular thyroid hormones: physiological and clinical implications. *Endocr Rev* 1981; 2: 87–102.
38. Lee BJ, Worland PJ, Davis JN, Stadtman TC, Harfield DI. Identification of a selenocysteinyl-tRNA(Ser) in mammalian cells that recognizes the nonsense codon UGA. *J Biol Chem* 1989; 264: 9724–7.
39. Lee SR, Kim JR, Kwon KS, Yoon HW, Levine RL, Ginsburg A, Rhee SG. Molecular cloning and characterization of a mitochondrial selenocysteine-containing thioredoxin reductase from rat liver. *J Biol Chem* 1999; 274: 4722–34.
40. Leonard JL. Dibutyl cAMP induction of Type II 5'-deiodinase activity in rat brain astrocytes in culture. *Biochem Biophys Res Commun* 1988; 151: 1164–72.
41. Mihailović M, Lindberg P, Jovanović I. Selenium content in feedstuffs in Serbia, *Acta veterinaria*, 1996; 46: 343–7.
42. Milanović Svetlana. Uticaj propiltiouracila i jopanoične kiseline na funkciju tireoidne osovine i aktivnost glutation peroksidaza kod selen-deficijentnih i selen-adekvatnih juvenilnih pacova, doktorska disertacija, Fakultet veterinarske medicine, Univerzitet u Beogradu, 2012.
43. Olson GE, Winfrey VP, Hill KE, Burk RF. Sequential development of flagellar defects in spermatis and epididymal spermatozoa of selenium-deficient rats. *Reproduction* 2004; 127: 335–42.
44. Papp LV, Lu J, Holmgren A, Khanna K. From selenium to selenoproteins: synthesis, identity and their role in human health. *Antioxidans and Redox Signaling* 2007; 9: 775–806.
45. Pappas AC, Zoidis E, Surai PF, Zervas G. Selenoproteins and maternal nutrition. *Comparativ Biochem Physiol* 2008; 151: 361–72.
46. Petrujkic B, Sefer D, Jovanovic I, Jovicin M, Jankovic S, Jakovijevic G, Beier R, Anderson R. Effects of commercial selenium products on glutathione peroxidase activity and semen quality in stud boars. *Animal Feed Science and Technology* 2014; 197: 194–205.
47. Rundlof AK, Arner ES. Regulation of the mammalian selenoprotein thioredoxin reductase 1 in relation to cellular phenotype, growth, and signaling events. *Antioxid Redox Signal* 2004; 6: 41–52.
48. Salvatore D, Bartha T, Harney JW, Larsen PR. Molecular biological and biochemical characterization of the human type 2 selenodeiodinase. *Endocrinology* 1996; 137: 3308–15.
49. Silva JE, Larsen PR. Adrenergic activation of triiodothyronine production in brown adipose tissue. *Nature* 1983; 305: 712–3.
50. Silva JE, Larsen PR. Hormonal regulation of iodothyronine 5'-deiodinase in rat brown adipose tissue. *Am J Physiol* 1986b; 251: E639–E643.
51. Silva JE, Larsen PR. Interrelationships among thyroxine, growth hormone, and the sympathetic nervous system in the regulation of 5'-iodothyronine deiodinase in rat brown adipose tissue. *J Clin Invest* 1986a; 77: 1214–23.
52. Sun QA, Kirnarsky L, Sherman S, Gladyshev VN. Selenoprotein oxidoreductase with specificity for thioredoxin and glutathione systems. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001; 98: 3673–8.
53. Tamura T, Stadtman TC. A new selenoprotein from human lung adenocarcinoma cells: purification, properties, and thioredoxin reductase activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 1006–11.
54. Thomas JP, Girotti AW. Photooxidation of cell membranes in the presence of hematoporphyrin derivative: reactivity of phospholipid and cholesterol hydroperoxides with glutathione peroxidase. *Biochim Biophys Acta* 1988; 962: 297–307.

55. Toyoda N, Berry MJ, Harney JW, Larsen PR. Topological analysis of the integral membrane protein, type 1 iodothyronine deiodinase (D1). *J Biol Chem* 1995a; 270: 12310–8.
56. Toyoda N, Nishikawa M, Mori Y, Gondou A, Ogawa Y, Yonemoto T, Yoshimura M, Masaki H, Inada M. Thyrotropin and triiodothyronine regulate iodothyronine 5'-deiodinase messenger ribonucleic acid levels in FRTL-5 rat thyroid cells. *Endocrinology* 1992; 131: 389-94.
57. Toyoda N, Zavacki AM, Maia AL, Harney JW, Larsen PR. A novel retinoid X receptor-independent thyroid hormone response element is present in the human type 1 deiodinase gene. *Mol Cell Biol* 1995b; 15: 5100–12.
58. Valčić O, Jovanović I, Milanović S. Selenium, thiobarbituric acid reactive substances and thyroid hormone activation in broilers supplemented with selenium as selenized yeast or sodium selenite. *Japanese Journal of Veterinary Research* 2011; 59: 69-77.
59. Valčić O, Jovanović I, Milanović S, Gvozdić D. Selenium status of feedstuffs and grazing ewes in Serbia. *Acta veterinaria* 2013; 61: 665-75.
60. Walczak R, Carbon P, Krol A. An essential non-Watson-Crick base pair motif in 3'UTR to mediate selenoprotein translation. *RNA* 1998; 4: 74-84.
61. Winkler K, Brigelius-Flohe R. Gastrointestinal glutathione peroxidase. *Biofactors* 1999; 10: 245–9.
62. Yant LJ, Ran Q, Rao L, Van Remmen H, Shibatani T, Belter JG, Motta L, Richardson A, Prolla TA. The selenoprotein GPX4 is essential for mouse development and protects from radiation and oxidative damage insults. *Free Radic Biol Med* 2003; 34: 496–502.
63. Yoshimura S, Wantanabe K, Suemizu H, Onozawa T, Mizoguchi J, Tsuda K, Hatta H, Moriuchi T. Tissue specific expression of the plasma glutathione peroxidase gene in rat kidney. *J Biochem* 1991; 109: 918-23.

ENGLISH

## SELENOPROTEINS

Milanović Svetlana, Jovanović Ivan, Valčić Olivera

Selenium is an essential trace element with multi significant role in the body. In contrast to other trace elements that appear as cofactors of certain enzymes, its physiological role is directly related to functions of proteins in composition of which it is cotranslationally installed by atypical amino acid selenocysteine. The group of proteins, in which composition selenocysteine is an integral functional part of polypeptides, are referred to as selenoproteins. The first enzyme that has been proven to have selenocysteine incorporated in its composition, is glutathione peroxidase (GPx). So far there have been identified 5 isoenzyme forms of GPx which reduce hydrogen peroxide and organic hydroperoxides, protecting cells from oxidative damage. Iodothyronine deiodinases (ID) are among the most important selenoproteins, being responsible for both activation and deactivation of thyroid hormones. So far there have been found over twenty selenoproteins, but only for some of them a physiological role is known.

Key words: selenoproteins, selenium, glutathione peroxidase, iodothyronine deiodinase

## СЕЛЕНОПРОТЕИНЫ

**Миланович Светлана, Йованович И, Валчич Оливера**

Селен является незаменимым микроэлементом, имеющим разностороннюю и чрезвычайно важную роль в организме. В отличие от остальных микроэлементов, выступающих в качестве кофакторов ферментов, его физиологическая роль напрямую связана с функциями белков, в состав которых котрансляционно встраивается в виде нестандартной аминокислоты селеноцистеина. Группа белков, имеющих в своем составе селеноцистеин в качестве неотъемлемого функционального компонента полипептидов, получила название селенопротеины. Первым ферментом, в отношении которого было доказано, что он имеет в своем составе встроенный селеноцистеин, является глутатионпероксидаза (GPx). В настоящее время идентифицировано 5 изоэнзимных форм GPx, восстанавливающих пероксид водорода и органический гидропероксид, защищающих клетки от окислительного повреждения. К важнейшим селеноэнзимам относятся и йодтиронины дейодиназы (ID), отвечающие за активацию и дезактивацию тиреоидных гормонов. В настоящий момент обнаружено свыше двадцати селенопротеинов, и только у нескольких из них изучена физиологическая роль.

Ключевые слова: селенопротеины, глутатионпероксидаза, йодтиронин дейодиназа