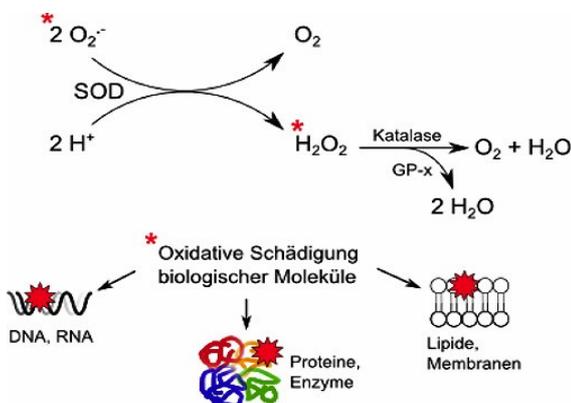


Anna Bruns, Sandra Meinhardt und Silke Lambing

In der Elektroindustrie wird es bei der Herstellung von Gleichrichtern und Fotoelementen verwendet, in der Chemie als hitze- und lichtbeständiger roter Farbstoff. In der Biologie ist es ein essenzielles Spurenelement für Mensch und Tier, und in der Medizin ist es als Karzinogen sowie als Prophylaktikum im Bereich der Onkologie bekannt: Selen, ein von J.J. Berzelius entdecktes Spurenelement [1], dessen Namensgeberin die Mondgöttin Selene der griechischen Mythologie ist. Ob sich der Entdecker im Jahre 1817 schon bewusst war, welche wichtige Rolle das 34. Element des Periodensystems im menschlichen Organismus spielt, bleibt zu bezweifeln, denn bis heute ist die Beteiligung von Selen an biochemischen Prozessen in unserem Körper nicht bis ins letzte Detail geklärt.

Wir wollen hier die Rolle von Selen in Form der Aminosäure Selenocystein als Regulator des oxidativen Stresses genauer beleuchten und die daraus resultierende Verbindung zu Krebserkrankungen beschreiben.

Ein Zuviel, aber auch ein Zuwenig an Selen in unserem Körper ist ungesund. Ist Selen im Körper zu hoch konzentriert, wirkt es toxisch. Liegt es in Mangelkonzentrationen vor, kann dies zu Immunsuppression und Krebs führen. Ursache dafür ist vermutlich die Akkumulation von so genannten Reaktiven Sauerstoffspezies (*Reactive Oxygen Species*: ROS). Selen wirkt als Radikalfänger und spielt bei der Eliminierung von ROS eine wichtige Rolle².



Beispiele für ROS sind freie Radikale, wie das Superoxidanion $\text{O}_2^{\bullet -}$, das hochreaktive Hydroxylradikal OH^{\bullet} , das Peroxylradikal ROO^{\bullet} und das Alkoxyradikal RO^{\bullet} . Die hohe Reaktivität der Sauerstoffspezies lässt sich auf die freien Elektronen dieser Moleküle zurückführen. Im Organismus entstehen reaktive Sauerstoffspezies natürlicherweise in den Kraftwerken der Zelle, den Mitochondrien, als Nebenprodukt der Zellatmung. ROS entstehen im Körper auch auf unnatürlichem Wege durch Umweltgifte, Zigarettenrauch oder Strahlung [2]. Sie können unkontrolliert mit zellulären Strukturen wie Lipiden, Proteinen und Nukleinsäuren reagieren und diese schädigen. ROS haben aber in einem anderen Zusammenhang auch eine günstige Wirkung. Sie werden gezielt von Zellen des Immunsystems benutzt, um Viren und Bakterien zu schädigen.

Abbildung 1: Kettenreaktion von ROS im biologischen System: Das Enzym Superoxid-Dismutase (SOD) katalysiert die Reaktion von Superoxidion ($\text{O}_2^{\bullet -}$) mit zwei Protonen zu Wasserstoffperoxid (H_2O_2) als auch die Reaktion von Superoxidion unter Bildung von Sauerstoff (O_2). Durch die katalytische Aktivität der Katalase und der Glutathionperoxidase (GP-x) kann aus H_2O_2 Wasser (H_2O) und Sauerstoff gebildet werden. Superoxidanion und Wasserstoffperoxid verursachen oxidative Schädigungen biologischer Moleküle.

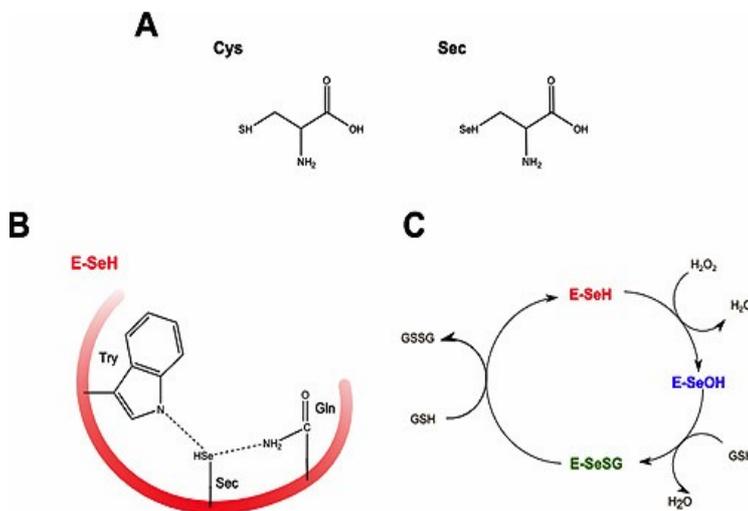
Durch eine Enzymkaskade kann sich der Körper aber gegen die radikalen Sauerstoffverbindungen wehren. Die Superoxid-Dismutase ermöglicht die Umwandlung des Superoxidions in das weniger

reaktive Wasserstoffperoxid, welches durch zwei weitere Enzyme, Glutathionperoxidase und Katalase, zu Sauerstoff und Wasser umgesetzt wird (Abb. 1).

Wie bereits erwähnt, nutzt der Körper die reduzierende Eigenschaft des Selens zur Eliminierung reaktiver Sauerstoffspezies. Der größte Selenanteil ist in sogenannten Selenoproteinen wiederzufinden.

Selenocystein (U, Sec) zählt seit 1973 zu den kanonischen Aminosäuren [3]. Sec unterscheidet sich von der lange bekannten Aminosäure Cystein lediglich dadurch, dass es ein Selenatom anstelle eines Schwefelatoms enthält. Die 21. Aminosäure Selenocystein kommt nur in wenigen Proteinen vor. Bisher sind 25 humane Selenoproteine bekannt. Es gibt auch Organismen bei denen bislang kein einziges Selenoprotein gefunden wurde. Zu fast allen Selenocystein-enthaltenden Enzymen existiert ein so genanntes Ortholog, ein ansonsten weitgehend identisches Pendant, welches Cystein anstelle von Selenocystein enthält. Da Selenocystein für den Organismus nur unter großem Aufwand zu synthetisieren ist, wird vermutet, dass seine Anwesenheit in diesen Proteinen deren biologische Funktion günstig beeinflusst und es deshalb weiterhin evolutionär existiert [1].

Selenocystein vs. Cystein



Vergleicht man die physikochemischen Eigenschaften der beiden Elemente, Selen im Selenocystein und Schwefel im Cystein, zeigen sich nur geringe Unterschiede. Mit einem etwas längeren Atomradius und stärkerer Polarisierung kann Selen als eine „angeregte“ Form von Schwefel angesehen werden. Die meisten Cystein-enthaltenden Enzyme weisen eine vergleichsweise geringe katalytische Effizienz auf. Ein Grund hierfür könnten die verschiedenen Säurekonstanten sein. Selen in Selenocystein ist bei einem physiologischem pH von 6,5-7,5 aufgrund seines niedrigen pK_a-Wertes (ca. 5,2) bereits weitgehend deprotoniert und deshalb reaktiver als Schwefel. Zusätzlich hat Selen eine höhere Nucleophilie und zeigt dadurch eine höhere Reaktivität mit elektrophilen Reaktionspartnern. Diese Eigenschaften erklären, weshalb die meisten Selenoproteine Redoxreaktionen katalysieren [1].

Abbildung 2: **A:** Glutathionperoxidasen tragen in ihrem katalytischen Zentrum entweder ein Cystein (Cys) oder ein Selenocystein (Sec). **B:** Im Falle der Selenolform des Enzyms (E-SeH) wird das Sec im aktiven Zentrum durch Wasserstoffbrückenbindungen mit der Iminogruppe des Tryptophans (Try) und der Aminogruppe des Glutamins (Gln) stabilisiert. **C:** Die GPx-1 katalysieren die Glutathion-abhängige Reduktion von organischen Peroxiden und Wasserstoffperoxid. Dabei wird die Selenolform (E-SeH) durch die Reaktion mit H₂O₂ aktiviert, indem sie zu einer selenhaltigen Säure oxidiert wird (E-SeOH). Es folgt die Reaktion mit Glutathion (GSH) zu Selenyl-Sulfid (E-SeSG). Die Bindung zwischen Se und S wird durch eine wiederholte Reaktion mit GSH gespalten, wobei GSSG (ein GSH-Dimer verbunden über eine Disulfidbrücke) entsteht. E-SeH liegt am Ende des Reaktionsmechanismus wieder in der ursprünglichen Form vor (modifiziert nach Bhabak et. al^[5]).

die Rolle von Selen deutlich. Es hat ein Cystein im Reaktionszentrum und weist eine 500-mal niedrigere enzymatische Aktivität auf als sein Selenocystein-enthaltenes Ortholog im

Schweineherz. Der Austausch dieses Cysteins gegen Selenocystein über genetische Manipulation führt zu einer viermal höheren Aktivität und bestätigt die höhere katalytische Potenz von Selenocystein in Redoxreaktionen mit Elektrophilen. Umgekehrt verringert sich die enzymatische Aktivität der tierischen Peroxidase durch Austausch des nativen Selenocysteins gegen Cystein um das 1000-fache [4].

Selenoproteine als Regulatoren von oxidativem Stress

Das 1973 erste entdeckte menschliche Selenoprotein ist die Glutathionperoxidase 1 (GPx-1) [3]. Glutathionperoxidasen sind Enzyme, in deren Aktivzentrum Cystein oder Selenocystein vorkommen (Abb. 2A). Sie katalysieren Redoxreaktionen, wie z.B. die Reduktion von Wasserstoffperoxid zu Wasser, und schützen Zellen vor oxidativen Schäden, indem sie die Oxidation von Membranen, Proteinen, Enzymen und der DNA durch reaktive Sauerstoffspezies verhindern. GPx-1 zählt zu den wichtigsten antioxidativen Enzymen und ist der Hauptregulator des Wasserstoffperoxid-Gehalts im Körper. Das Cosubstrat und Antioxidans Glutathion, welches ein aus den Aminosäuren Glutaminsäure, Cystein und Glycin gebildetes Pseudotripeptid ist, ist essentiell für die enzymatische Aktivität der GPx-1. Die Aminosäure Selenocystein ist im Aktivzentrum des Enzyms und bildet dort zusammen mit den Aminosäuren Tryptophan und Glutamin eine sogenannte katalytische Triade. Die Selenolform (Enzym–SeH) des Selenocysteins wird im aktiven Zentrum durch Wasserstoffbrückenbindungen mit der Iminogruppe des Tryptophans und der Aminogruppe des Glutamins stabilisiert (Abb. 2B). Kommt das Selenol in räumliche Nähe eines Peroxids (z.B. H_2O_2), wird es von diesem zur selenigen Säure oxidiert und damit aktiviert (E-SeOH). Die selenige Säure reagiert mit einem Glutathion (GSH) zu Selenyl-Sulfid (E-SeSG). Durch die Reaktion mit einem zweiten GSH wird die Se-S-Bindung des Selenyl-Sulfids gespalten und zu E-SeH regeneriert (Abb. 2C). In dieser Reaktion wird das Hydroperoxid (ROS) zusammen mit GSH zu H_2O reduziert [5].

Mit einer Geschwindigkeitskonstante nahe $10^8 M^{-1}s^{-1}$ katalysiert GPx-1 nach der Superoxid-Dismutase (SOD), ein Enzym das ROS zu Wasserstoffperoxid mit einer Geschwindigkeitskonstante von $2,3 \cdot 10^9 M^{-1}s^{-1}$ umwandelt, die zweitschnellste enzymatische Reaktion im menschlichen Körper [6].

Selen und Krebs

Glutathionperoxidasen haben über die Regulierung des ROS-Levels eine Schalterfunktion zwischen Zellvermehrung und Zelltod, denn ROS haben neben der schädigenden Eigenschaft (Oxidation von Zellstrukturen) auch eine zentrale Rolle in Signalwegen, die eine Proliferation (Vermehrung) und Migration (Wanderung) von Zellen aktivieren. Ein besonders hohes ROS-Level induziert Apoptose (programmierter Zelltod) zum Schutz des Organismus vor einer Weitergabe geschädigter DNA. Krebszellen zeigen eine erhöhte Produktion von ROS und gleichzeitig eine verringerte Kapazität, ROS zu eliminieren. Dabei nutzen sie das erhöhte ROS-Level zur Unterstützung ihrer Proliferation, Invasion (Einwanderung), Migration und für die Angiogenese (Blutgefäßbildung). Hinweise auf diesen Zusammenhang brachte der Befund, dass der ROS Eliminator GPx-1 in vielen Krebszellen herunterreguliert ist. Durch eine experimentelle Überproduktion von GPx-1 konnte frühes Krebszellwachstum gehemmt werden, da das Enzym Hydroperoxide abbaut, die ein proliferatives Signal auslösen. Allerdings führt die Überexpression von GPx-1 in der weiteren Tumorprogression zu einer Inhibierung der Hydroperoxid-vermittelten Apoptose, was das Tumorstadium fördert. Alle Selenocystein-enthaltenen GPxs (1-4 und 6) scheinen Tumorentstehung und Metastasierung zu verhindern, während

sie in der späteren Tumorprogression verschiedene Auswirkungen haben [2].

Aufgrund der gegenläufigen Funktion des Selenoenzyms im Tumorgeschehen ist nicht vollständig geklärt, ob eine nahrungsergänzende Seleneinnahme die Krebsentstehung und die Tumorentwicklung beeinflusst. Eine Überversorgung mit Selen hat nachweislich keine Auswirkung auf das Level der Glutathionperoxidasen, jedoch führt eine Selenmangelernährung zu einer starken Abnahme des GPx-1 Levels [2]. Generell lässt sich festhalten, dass eine störungsfreie Glutathionperoxidase-Biosynthese wichtig ist, um Hydroperoxide im Körper in einem ausgewogenen physiologischen Gleichgewicht zu halten, so dass einerseits die Zellschäden durch ROS minimal sind und andererseits die verbleibenden ROS an einer optimalen Regulierung der Signalwege mitwirken können. Dies kann unter anderem durch die Einnahme der empfohlenen Tagesmenge an Selen erreicht werden².

Ein nicht-physiologisches ROS-Level spielt nicht nur bei Krebs, sondern auch bei anderen Erkrankungen wie Arteriosklerose und Alzheimer eine Rolle [2]. Die komplexe aber für das balancierte Zusammenspiel von Redoxprozessen in unserem Körper wichtige Rolle von Selen könnte daher künftig Ansatzpunkte für die Entwicklung neuer Therapieansätze liefern, die sich nicht nur auf Tumorerkrankungen beschränken.

Kontakt:	Schlauer Fuchs
 <p>Der Artikel wurde im Rahmen des Studienprojektes HighChem des Fachbereichs Chemie der Technischen Universität Darmstadt verfasst (Woche 2). Die Autorinnen, Anna Bruns, Sandra Meinhardt und Silke Lambing, sind Studierende des Fachs Biomolecular Engineering (Master) an der TU Darmstadt</p> <p>E-Mails: anna.bruns@stud.tu-darmstadt.de, meinhardt-sandra@web.de silke.lambing@web.de</p> <p>Wissenschaftliche Betreuung: Prof. Dr. Harald Kolmar</p> <p>E-Mail: kolmar@biochemie-tud.de.</p>  	<p>Unsere Schlaue-Fuchs-Frage zu diesem Beitrag lautete:</p> <p>Wie viele humane Selenoproteine sind bislang bekannt?</p>

Literatur:

- [1] Arnér, E. S. J. (2010) Selenoproteins - what unique properties can arise with selenocysteine in place of cysteine? *Exp. Cell Res.* **316**:1296-303.
- [2] Brigelius-Flohe, R. & Kipp, A. (2009) Glutathione peroxidases in different stages of carcinogenesis. *Biochimica et Biophysica Acta* **1790**:1555-1568.
- [3] Steinbrenner, H. & Sies, H. (2009) Protection against reactive oxygen species by selenoproteins. *Biochimica et Biophysica Acta* **1790**:1478-1485.
- [4] Hazebrouck, S., Camoin, L., Faltin, Z., Strosberg, A. D. & Eshdat, Y. (2000) Substituting selenocysteine for catalytic cysteine 41 enhances enzymatic activity of plant phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase expressed in *Escherichia coli*. *J. Biol. Chem.* **275**:28715-28721.
- [5] Bhabak, K. P. & Mugesh, G. (2010) Functional mimics of glutathione peroxidase: bioinspired synthetic antioxidants. *Acc. Chem. Res.* **43**:1408-1419.
- [6] Toppo, S., Flohe, L., Ursini, F., Vanin, S. & Maiorino, M. (2009) Catalytic mechanisms and specificities of glutathione peroxidases: variations of a basic scheme. *Biochimica et Biophysica Acta* **1790**:1486-1500.