

نقش سلنیوم از نظر زیست‌شناسی

دکتر حسن عسگری شیرازی دکتر علی اکبر خدا دوست

مقدمه:

سلنیوم سی و چهارمین عنصر جدول تناوبی عنصرها (جدول مندلیف) میباشد. وزن اتمی آن $78/96$ است. این عنصر دارای شش ایزوتوپ پایدار میباشد که عبارتند از سلنیوم‌های 74 ، 76 ، 77 ، 78 ، 80 و 82 ، فراوان‌ترین این ایزوتوپها سلنیوم 80 میباشد که $49/82$ درصد کل سلنیوم موجود در زمین را تشکیل میدهد. یک‌ده میلیونیم از سنگ کوههایی آتشفشان از سلنیوم تشکیل یافته است. این عنصر بصورت آزاد در مکزیکو و کالیفرنیا (آمریکا) و ژاپن و بصورت ترکیب سلنیوم (Selenide) در اروپا و آرژانتین و مکزیکو دیده میشود موارد استعمال آن در صنعت ساختن پیل‌های فوتوولتائیک Photo-Voltaic است زیرا قابلیت هدایت الکتریکی این عنصر تقریباً متناسب با جذر شدت نوری که بر آن می‌تابد تغییر میکند مثلاً قابلیت هدایت سلنیوم خاکستری با فلزی در نور تقریباً 1000 برابر قابلیت هدایت آن در تاریکی است سلنیوم را برای ولکانیزه کردن لاستیک‌ها و ساختن شیشه‌های قرمز رنگ و یکسوکنده‌های جریان متناوب و همچنین در تهیه کاتالیزورهای مخصوص مولکولهای بزرگ هیدروکربورهای نفت بکار می‌برند. سلنیوم گاهی در خاکهای جلگه‌ها وجود داشته و اگر توسط گیاهان بمقدار زیاد جذب شود باعث

مسمومیت دام‌هایی میگردد که با آن‌ها تغذیه میکنند. سابقاً عنصر سلنیوم را فقط از لحاظ آثار سمیش می‌شناختند و اهمیت آن مانند اهمیت سایر عناصری که بمقدار بسیار جزئی مورد احتیاج بدن بودند (الیکوالمانها) مجهول بود. ولی امروز دانسته شده است که سلنیوم نیز مانند بسیاری از الیکوالمانهای دیگر برای اداره سوخت و ساز بدن انسان و موجودات ذره‌بینی نهایت لزوم را دارد. البته نباید از نظر دور داشت که راجع به خواص این عنصر از نظر زیست‌شناسی در بعضی از موارد غلو شده است بعضی از اثراتی که به سلنیوم نسبت داده شده است از قبیل جلوگیری از بروز بعضی از سرطانها، افزایش باروری، بهبود حافظه، ایجاد مقاومت بیشتر در برابر عفونت‌ها تنها مستند به اطلاعات آماری است که موثق بودن آنها کاملاً به اثبات نرسیده است و پژوهشهای آینده صحت و سقم آنها را روشن خواهند نمود برعکس مواردی از کمبود سلنیوم در حیوانات با علائم بالینی خاص بخود مشاهده شده است و با تجویز عنصر مزبور علائم بالینی خاص بخود مشاهده و یا بکلی برطرف گردیده است بنابراین در اینگونه موارد می‌توان نقش بیولوژیکی سلنیوم را کاملاً محقق دانست برای روشن شدن موضوع چند مورد را در حیوانات ذکر مینمائیم: ۱- موشهاییکه در اثر رژیم غذایی فاقد سلنیوم دچار

Peroxidase یک پروتئین سلینیوم داراست. قبلا این آنزیم را از گلبولهای قرمز پستانداران و بافت‌های مختلفه دیگر جدا کرده بودند و ثابت شده بود که عامل دفاعی مهمی در جلوگیری از بروز آسیب به غشاء سلولی است که در اثر آب اکسیژنه و سایر پراکسیدازها ایجاد میشود.

هنگامی که پژوهشگران در دانشگاه ویسکانسین (۶) (امریکا) حیوانات مبتلا به کمبود سلینیوم را مورد مطالعه قرار دادند، مشاهده نمودند که یکی از علائم کمبود این عنصر شکنندگی زیاد غشاء گلبولهای قرمز است و بعد از اندک زمانی آنزیم خاصی که کمبود آن باعث ایجاد ضایعه مزبور میشود شناخته شد. بعدا ثابت کردند که گلبولهای قرمز حیوانات دچار کمبود سلینیوم حاوی تمام آنزیمهای لازم برای احیاء گلوکوتاتیون می‌باشند مگر آنزیم گلوکوتاتیون پراکسیداز. آنزیم اخیرالذکر گلوکوتاتیون احیاء شده را بعنوان دهنده الکترن برای احیاء پراکسیدازها بکار میبرد. آنزیم مزبور یا اصلا در گلبولهای قرمز وجود نداشت و یا مقدار آن بسیار اندک بود. نقش عنصر سلینیوم در سنتز گلوکوتاتیون پراکسیداز بدینوسیله تأیید شد که قبلا به حیوانات سلینیوم رادیواکتیو (^{75}Se) تزریق کردند بعدا گلوکوتاتیون پراکسیداز را از گلبولهای قرمز حیوانات مزبور مجزا کرده و مشاهده کردند که حاوی ^{75}Se میباشد و سلینیوم رادیواکتیو در تمام طول تصفیه آنزیم همراه پروتئین وجود داشت.

گروهی دیگر از پژوهشگران (۷) از طریق تجزیه بوسیله فعال کردن بانوترونها (**Neutron Activation Analysis**) نشان دادند که گلوکوتاتیون پراکسیداز متبلور محتوی سلینیوم می‌باشد.

هر دودسته از پژوهشگران نشان دادند که یک ملکول گرم از آنزیم فوق (با وزن مولکولی ۸۴۰۰۰) دارای ۴ اتم گرم سلینیوم میباشد. مع الوصف با وجود کوششهای زیادی که بعمل آمده است تاکنون شکل شیمیائی سلینیوم در این آنزیم و نقش دقیق آن در عمل کاتالیزوری آنزیم مزبور شناخته نشده است تنها حدس زده میشود که امکان دارد ظرفیت عنصر سلینیوم حین فعل و انفعالات تغییر نماید اگر این حدس درست باشد احتمالا سلینیوم بطور مستقیم در واکنش زوج اکسیداسیون و احیاء که در آن گلوکوتاتیون اکسید شده و پراکسید احیاء میشود شرکت مینمایند (بجدول زیر رجوع شود).

نکروز کیدی میشوند یا تجویز ترکیبات سلینیوم بهبودی می‌یابند. این موضوع بوسیله پژوهشگران انستیتوی بهداشت ملی امریکا (۱) به اثبات رسیده است.

۲- گروه دیگری از پژوهشگران در لدرلی **Lederlie** (۲) نشان داده‌اند که تجویز سلینیوم مرغهای خانگی را از استعداد ابتلای به دفع ترشحات زیاد (بیماری **Exudative diathesis**) محافظت مینماید.

۳- مطالعات گروههای مختلف دانشمندان علوم تغذیه حیوانات در ایالت ارگون (**Oregon**) (۳) امریکا و همچنین در زلاند نو (۴) نشان داد که بیماری عضله سفید **White Muscle disease** که نوعی بیماری دیستروفی عضلانی است و مخصوصا در حیوانات جوان کشنده است بوسیله افزودن عنصر سلینیوم بقوای حیوانات قابل پیشگیری است. علاوه بر این معلوم شده است در مناطقی که وقوع این بیماری در بین دامها زیاد است محتوای سلینیوم خاک بسیار کم است.

با وجودیکه اهمیت بیولوژیکی سلینیوم با مطالعاتی که فوقا ذکر شد در مورد حیوانات عالی (پستانداران) تا حدودی باثبات رسیده بود. در مورد اهمیت عنصر مزبور در زیست - شناسی موجودات ذره بینی (باکتریها) مطالعات زیادی بعمل نیامد و توجهی بدان شد و حتی نخستین مشاهدات در مورد باکتریها که نشان داد عنصر سلینیوم برای فعالیت بیولوژیکی آنزیم ویژه باکتریها بنام فرمات دئیدوژناز **Formate dehydrogenase** یک عامل اصلی بشمار میرود (۵) جلب توجه ننمود. بدبختانه همین امر سبب شد که به اهمیت و نقش عنصر سلینیوم دیرتر پی برده شود. زیرا چون موجودات زنده ذره بینی نماینده ساده ترین شکل زیست شناسی میباشد. اصول علم مزبور را در آنها بمراتب بهتر و زودتر از حیوانات عالی می‌توان تحقیق نمود و تعمیم داد. بهر حال، چند سال بعد لزوم عنصر سلینیوم برای سنتز حیاتی آنزیم فرمات دئیدوژناز در مورد کلی باسیل (**E. Coli**) بوسیله پژوهشگران در آزمایشهای دیگر باثبات رسیده علاوه بر این نشان داده شد که سلینیوم رادیواکتیو در درون پروتئین آنزیم فوق الذکر استقرار می‌یابد. بنابراین آشکار شد که حداقل یکی از نقشهای بیوشیمیائی سلینیوم وجودش بعنوان یک جزء اصلی در پروتئینهای کاتالیز است. بلافاصله بعد از کشف فوق نشان داده شد که آنزیم دیگری بنام گلوکوتاتیون پراکسیداز **Glutathione**

جدول شماره ۱

آنزیمهای محتوی سلنیوم و واکنش‌هایی که عمل کاتالیزور را در آنها انجام می‌دهند.

واکنش کاتالیز شده	نام آنزیم
$\text{HCOOH} + \text{A} \rightarrow \text{A} \cdot \text{H}^2 + \text{CO}^2$	۱- فرمات دئیدروژناز
$\gamma\text{GSH} + \text{H}^2\text{O}^2 \rightarrow \text{GSSG} + 2\text{H}^2\text{O}$	۲- گلوتاتیون پراکسیداز
$\text{CH}^2 - \text{COOH} + \text{R}(\text{SH})^2 + \text{Pi} + \text{ADP} \rightarrow$ $^1\text{NH}^2$	۳- گلیسین ردوکتاز
$\text{CH}^3\text{COOH} + \text{NH}^3 + \text{R} \begin{array}{c} \text{S} \\ \\ \text{S} \end{array} + \text{ATP}$	

۴- مولکول کوچک سلنیوپروتئین عضله * شناخته نشده است

میدهند بنابراین این آنزیم در تجزیه پراکسیدهای آلی در کبد بویزه در حیوانات دچار کمبود سلنیوم نقش سهمی را بعهده دارد. حتی با وجود یک آب اکسیژنه را نمیتواند احیاء نماید. برعکس گلویتاتیون -S- ترانسفراز B ترانسفراز A تنها بعنوان پراکسیداز دارای فعالیت بسیار اندک است. سنتز آنزیمهای سلنیوم دار بوسیله باکتریها:

دو آنزیم سلنیوم دار مربوط به باکتریها که تا امروز شناسائی شده است می‌توانند واکنش‌های زوج اکسیداسیون و احیاء را کاتالیز نمایند (۸). این دو آنزیم عبارتند از فرمات دئیدروژناز *Formate dehydrogenase* و گلیسین ردوکتاز *Glyline Reductase* و واکنش‌هایی که بوسیله آنها کاتالیز میشود در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

آنزیم فرمات دئیدروژناز در تمام موجودات زنده اعم از گیاهان و حیوانات، باکتریها وجود دارد ولی این آنزیم بمحض اینکه در معرض اکسیژن قرار گیرد، بسرعت فعالیت خود را از دست میدهد بنابراین عده قلیلی از آنها را می‌توان بطور کاملاً خالص بدست آورد. حتی مشخصات کامل این عده قلیل نیز بطور کامل تعیین نشده است. در حال حاضر شکل آنزیمهای وابسته به سلنیوم و همچنین طرز توزیع آنها در طبیعت کاملاً شناخته نشده است. تاکنون توانسته‌اند فرمات دئیدروژنازهای وابسته به سلنیوم را در کولی باسیل (*E. Coli*)

* پروتئینی بوزن مولکولی ۱۰۰۰۰۰ دالتون که در عضله قلب و عضلات نیمه وتری *Semi tendinosus* حیوانات دچار بیماری عضله سفید حاصل از کمبود سلنیوم وجود ندارد در واکنش‌های فوق *GSSG* و *GSH* به ترتیب گلوتاتیون احیاء شده و اکسید شده می‌باشند.

گلویتاتیون پراکسیداز مقدار زیاد دریافت‌های پستانداران توزیع شده است و کبد یکی از غنی‌ترین منابع آن می‌باشد. در کبد انسان و موش سفید سالم، آنزیم محتوی سلنیوم در حدود ۲۵ درصد پروتئین‌های محلول عضو مزبور را تشکیل میدهد. تحقیقات جدید نشان داده است که در کبد آنزیم گلویتاتیون پراکسیداز بدون سلنیوم وجود دارد که بر روی پراکسیدهای آلی مختلفه تأثیر دارد ولی بر روی آب اکسیژنه اثر نمیکند. در این باره مشاهداتی بعمل آمده است بقراریز:

گلویتاتیون S ترانسفراز B هموزن که بنام لیگاندین *ligandin* معروف است فعالیتی مشابه با فعالیت گلویتاتیون پراکسیداز دارد.

با اینهمه فعالیت مخصوص این آنزیم و قتیکه ماده کومن هیدرو پراکسید (*Cumene Hydroperoxide*) را تحت تأثیر قرار میدهد تنها ۵ تا ۱۰ درصد فعالیت گلویتاتیون پراکسیداز حاوی سلنیوم است. این نوع گلویتاتیون فقط ۵٪ پروتئین‌های محلول کبد را در مورد انسان و موش سفید تشکیل

و چه در باکتری سالم نسبت به اکسیژن بسیار حساس است. چون نموبسیاری از باکتریها بستگی به قدرت آنان برای تولید فرمات دئیدرزناز فعال ندارد در این نوع موارد نمیتوان گفت که محصول سلولی حاصله از کشت اینگونه باکتریها نشانه فعالیت فرمات دئیدرزناز یا مقدار سلینم موجود در محیط

کشت است مثلا نمو *C. Thermoaceticum* و *E. Coli* در محیط‌هایی که ماده تخمیرپذیر آنها گلوکز است با افزایش سلنیوم به محیط کشت بطور قابل ملاحظه‌ای تحت تأثیر قرار نمیگیرد در صورتیکه میدانیم تولید فرمات دئیدرزنازی که از لحاظ کاتالیزور بودن فعال است موقعی انجام میشود که مقدار کافی سلنیوم در محیط موجود باشد. باکتریهایی که باعث تخمیر اسیدهای آمینه میشوند مانند *C. Sticklandii* و *C. Lentoputrescens* که بطور وفور در محیط‌های کمپلکس شامل عصاره مخمر آب‌جو و مخلوطی از پپتیدها و اسیدهای آمینه نمو مینمایند نیز از ایجاد مقادیر قابل توجه فرمات دئیدرزناز یا گلیسین ردوکتاز امتناع می‌ورزند مگر اینکه محیطهای مزبور را با افزایش ۵/۵ تا ۱ میکرومول سلنیوم تقویت نمائیم.

با در نظر گرفتن اینکه مقادیر بسیار جزئی سلنیوم که بعنوان آلوده کننده معمولا در اجزاء مختلفه محیطهای کشتی وجود دارد برای تولید یک سلنوپروتئین عمده که با غلظت بسیار کم مورد احتیاج سلولهاست کافی است این سؤال پیش می‌آید که ممکن است باکتریهای مزبور سلنواگزیمهای دیگری را که برای رشد آنها از اهمیت بیشتری برخوردارند تولید نمایند. پاسخ این سؤال هنوز نامعلوم است زیرا برای رسیدن باین پاسخ لازم است آزمایشهایی انجام گیرد که در آنها مواد شیمیایی کاملا خالص و تصفیه شده برای تهیه محیطهای کشت بکار رود. درباره توانائی موجودات ذربینی نسبت به کاربرد اشکال مختلفه شیمیایی سلنیوم اطلاعات بسیار اندک و محدودی در دست است. ترکیبات دیگری علاوه بر سلنیتها که بعنوان منابع سلنیوم سهل‌الحصول در مورد باکتریهای *C. Sticklandii* بکار می‌رود عبارتند از: سلنات‌ها و سلنوسیستئین و یک ترکیب آمفوتریک ناشناس که از محیط کشت باکتریهای مزبور مجزا شده است. کاربرد سلنات‌ها بوسیله *C. Sticklandii* و همچنین *M. Vanniellii* احتمالا نیاز به جذب تابع انرژی و دستگاههای فعال‌کننده

و انواع مختلف باکتریهای غیر هوازی از نوع کلستری دیوم (از قبیل *C. Sticklandii*, *Clostridium thermoaceticum* (*C. Lentoputrescens*, *C. Formicoaceticum*

و در موجودات ذره‌بینی مولدگار متان بنام *Methanococcus Vanniellii* بیابند.

فقدان ظاهری فرمات دئیدرزناز وابسته به سلنیوم در بعضی از موجودات ذره‌بینی بدین علت است که موجودات مزبور در محیطهای کشت غنی که برای رشد سلولی بکار می‌روند و فاقد سلنیوم هستند نمو مینمایند. بدینگونه محیط‌ها بایستی بمقدار ۱/۵ تا ۱ میکرومول سلنیوم بشکل سلنیت یا مایع دیگر سلنیوم اضافه نمود تا بتوان مقدار قابل ملاحظه‌ای فرمات دئیدرزناز بدست آورد. محیطهای کشت با حداقل اجزاء که برای تهیه آنها از آب مقطر استفاده میشود متحلا دارای کمبود سلنیوم می‌باشند. حتی در مواردی که سلنیوم بقدر کافی در محیط کشت برای سنتز آنزیم وجود دارد. عدم کشف فعالیت آنزیمی بعلت آنست که هنگام جمع‌آوری سلولها بعلت قرار گرفتن در معرض اکسیژن فعالیت آنزیم بسرعت نقصان می‌یابد از دست رفتن فعالیت بعلت اکسیژن ممکن است مسئله دشواری را بوجود آورد بویژه هنگامی که با استفاده از سانتریفیوژ در شرایط عادی آزمایشگاهی دستجات کوچک باکتریها را جدا می‌سازند. مثلا اگر کشت شامل سلولهای باکتری *C-Sticklandii* در بطریهای ۵۰ میلی لیتری که با هوا ارتباط دارند سانتریفیوژ نمائیم سلولهای رسوب کرده بندرت فعالیت فرمات دئیدرزناز را نشان میدهند حتی اگر آنها را در تمامیونهای بدون اکسیژن که بآنها مقداری تیول اضافه کرده ایم بحالت تعلیق درآوریم. برعکس اگر باکتریهای نامبرده را از محیطهای کشت مشابهی که در محیط‌ات رشد نموده‌اند جمع‌آوری نمائیم فعالیت آنزیمی فرمات دئیدرزناز در آنها زیاد است. اگر باکتریهای مزبور را در مجاورت ترکیبات سلنیوم که با $Se^{۷۵}$ نشاندار شده است در تحت شرایط واحد رشد دهیم جزء فرمات دئیدرزناز هر دوی این محیطها رادیواکتیو می‌باشد نهایت فعالیت کاتالیتیک آنزیم مزبور موقعی محفوظ خواهد ماند که آنرا در پناه اکسیژن نگهداریم. فعالیت فرمات دئیدرزناز سایر باکتریهای بی‌هوازی چه بصورت عصاره میکربی

توده خشک سلولهای باکتری *C-Sticklandii* بطور روزانه می‌تواند مسموم کننده باشد.

ترکیب و خواص کمپلکس گلیسین ردوکتاز:

سلنو پروتئین گلیسین ردوکتاز یکی از سه جزء پروتئینی است (۹) که برای کمک به انجام واکنش‌های شیمیایی نشان داده شده در جدول شماره ۱ لازم است. در خارج از سلول باکتری که ساده‌تر از داخل سلول است یک ترکیب دی‌تیول بعنوان احیاء کننده بکار میرود. ولی در درون سلول دهنده الکترون یک ترکیب پیریدین نوکلئوتاید احیاء شده است (DPNH) و یک سری از پروتئین‌های ناقل الکترون برای انتقال هم‌ارزهای احیاء کننده به کمپلکس گلیسین ردوکتاز لازم است.

احیاء گلیسین به اسات و آمونیاک یک عمل *Exergonic* است (واکنشی که با آزاد شدن انرژی توأم است) و در مرحله بقاء انرژی وابسته به واکنش ATP تولید میشود.

دوتا از پروتئین‌های کمپلکس گلیسین ردوکتاز توأم با غشاء سلول میکربی هستند و با عمل سونیکاسیون (قرار گرفتن در معرض امواج ورا صوتی) یا بوسیله مواد پاک کننده (detergents) بحالت محلول در می‌آیند. یکی از پروتئین‌ها شامل فسفات پیریدوکسان بعنوان گروه پروستتیک (Prosthetic) است.

جزء سوم یک سلنو پروتئین با ۲۰۰۰۰ دالتون و در مقابل حرارت پایدار است و در حقیقت یک پروتئین اسیدی است که با سانی از کمپلکس گلیسین ردوکتاز تجزیه میشود. این سلنو پروتئین شامل یک اتم‌گرم سلنیوم بشکل بقایای سلنوسیتئین میباشد. همچنین در همین پلی‌پپتید بقایای سولفورسیستئین وجود دارد. این سه بقایا فوق‌العاده واکنش‌پذیر میباشند و اگر پروتئین احیاء شده در معرض اکسیژن قرار گیرد بسرعت اکسیده میشود. این خاصیت بانقش سلنو پروتئین که در تمام واکنش‌های زوج اکسیداسیون و احیاء ناقل الکترون است کاملاً مطابقت دارد. چون سلنو پروتئین یک پلی‌پپتید کوچک بوده و در مقابل گرما مقاوم است. از این خصوصیات آشکار میشود که ترکیب مزبور در واکنش‌ها نوعی عمل ناقل را انجام میدهد تا کاتالیزور و کمک کننده به واکنش.

تشخیص هویت قسمت حساسی از مولکول سلنو پروتئین کلسترییدیوم که شامل سلنیوم است تا قبل از کسب تجزیه لازم در تهیه و تعیین مشخصات ترکیبات شناخته شده سلنیوم مسئله

مشابه با دستگاههایی که با سولفات‌ها واکنش مینمایند دارد. ولی سلنیت‌ها را بسادگی میتوان با ایجاد واکنش با مقدار زیادی از تیول‌هایی که به محیط کشت اضافه نمود هاند احیاء نموده و به سلنید (H^2Se) تبدیل نمود. پاسخ بساین سؤال که آیا عمل احیاء بوسیله آنزیم احیاء کننده سلنیت نیز همراه با واکنش فوق‌الذکر نیز صورت میگیرد معلوم نیست. سلنو آمینواسیدها مانند سلنوسیتئین و سلنومتیونین بوسیله عده‌ای از باکتریها بکار میروند. ولی این مواد کمتر بعنوان منبع سلنیوم مؤثر میباشند. جزء سلنو پروتئین گلیسین ردوکتاز همانند جزء مربوط به فرمات دئیدرژناز تنها وقتی بمقدار کافی تولید میشود که غلظت سلنیوم در محیط در حدود ۰/۱ تا ۱ میکرومول باشد.

در شرائطی که در حدود ۳ گرم (وزن مرطوب) از سلولهای *C.Sticklandii* در هر لیتر از محیط تولید میشود مقدار کافی سلنیوم لازم برای این موجود زنده ذره‌بینی که بصورت سلنیت بایستی به محیط اضافه شود در حدود ۱ میکرومول است در چندین آزمایش که در آنها بمقدار یک میکرومول از سلنیت نشاندار شده یا ^{75}Se بکار رفته بود معلوم شد که در حدود ۳۰ تا ۴۰ درصد از سلنیوم موجود در محیط در داخل سلولها استقرار یافته بود. در حدود ۳۰ درصد از این مقدار بصورت یک سلنو پروتئین واحد که جزئی از کمپلکس گلیسین ردوکتاز بود وجود داشت. فرمات دئیدرژناز که بهمین نحو نشاندار میشود بقدر کافی از باکتریهای *C-Sticklandii* بدست نیامد تا بتوان تخمین زد که تا چه حد مسئول ۷۰٪ باقی سلنیوم استقرار یافته در سلولهاست؟

بر پایه وزن خشک سلولهای *C-Sticklandii* محتوی در حدود ۴۰ میلیگرم سلنیوم در هر کیلوگرم میباشد و ۱۲ میلیگرم از این مقدار در درون یک پروتئین واحد یعنی سلنو پروتئین گلیسین ردوکتاز با وزن ملکول ۱۲۰۰۰ است اگر موجود زنده‌ای که بعنوان منبع پروتئین برای تغذیه انسان یا حیوانات بکار میرود بتواند مقدار مشابهی از سلنیم را در درون توده سلولی جا دهد، تعیین غلظت نسبی موجود مزبور در غذا بمنظور اجتناب از مسمومیت با سلنیوم واجد اهمیت است. بفرض اینکه در حدود ۱ میلیگرم سلنیوم روزانه حد سمی بودن برای یک فرد بالغ است بنابراین استعمال ۲۵ گرم

مشکلی بود (۱۰) زیرا در بسیاری از روش‌هایی که شیمی دانهای متخصص در پروتئین‌ها بمنظور مجزا کردن ترکیبات آلی گوگرد - داریکار می‌بردند باعث تجزیه کامل ترکیبات سلنیوم می‌گردید و بنابراین بکار بردن این روش‌ها بی‌فایده بود.

اگر سلنیوپروتئین نشاندار شده با ^{75}Se را بوسیله ماده بوروئیدرید (Borohydride) احیاء نموده و با معرف‌های مختلف در شرایط کاملاً بی‌هوازی (Anaerobic) الکلیه نمایند، مشتقات مناسب پایداری حاصل می‌شود. این ترکیبات الکلیه شده رادیواکتیو را می‌توانند بطریق یدرولیز اسیدی یا هضم پرتئولیتیکی از پروتئین مربوطه آزاد نمایند و بوسیله تبادل یونی استاندارد و روش‌های کروماتوگرافی مجزا سازند. ثابت شده است که این ترکیبات از نظر تعدادی از مشخصات همانند مشتقات نظیر تهیه شده از سلنوسیتئین حقیقی (Authentic) است. علاوه بر این باثبات رسیده است که شکل غیر حفاظت شده سلنوامینواسیدها در پروتئین در مقابل یدرولیز اسیدی غیر مقاوم است از این مطالعات نتیجه شده است که فعالیت بیولوژیکی سلنیوپروتئین گلیسین ردوکتاز بستگی به وجود بقایای سلنوسیتئین در زنجیره پولی پپتیدی دارد. دلائل مقدماتی منی‌براینکه فرمات دئیدرژنار سلولهای باکتری C-Sticklandii نیز شامل سلنوسیتئین می‌باشد وجود دارد. اما فرآورده‌های کاملاً خالص این آنزیم مورد تجزیه قرار نگرفته است. تشخیص هویت قسمت‌های حساس مولکولی شامل سلنیم سلنیوپروتئین‌های پستانداران هنوز گزارش نشده است.

خواص فرمات دئیدرژناز وابسته به سلنیم:

درواکنش جدول شماره ۱ پذیرنده نهایی الکترون بمنظور اکسیداسیون فرمات‌ها به A نموده شده است و محصول احیاء شده نیز به $A.H^2$ نشان داده شده است. بسته به دستگاه بیولوژیکی مورد نظر A ممکن است یک نیترا ت فومارات، گاز کرینیک، پروتونها، ناقلین متوسط الکترون مانند پیریدین نوکلئوتاید‌ها، سیتوکرومها و پروتئین‌های آهن و گوگرد دار باشد.

در خارج از سلول باکتری، رنگ‌های مصنوعی از قبیل ویولوژنها (Viologen) فتازین، متوسولفات و تری‌فنیل تترازولیوم کلراید اغلب بعنوان پذیرنده الکترون در مورد آنزیم‌هایی که فرمات‌ها را اکسیده می‌کنند بکار می‌روند.

نمو کلی باسیل (E. Goli) بطور بی‌هوازی با نیترا ت بعنوان پذیرنده الکترون در محیط‌هایی که در آنها مولیبیدن، سلنیوم و آهن وجود دارد منجر به سنتز یک دستگاه انتقال الکترون فرمات دئیدرژناز - فرمات ردوکتاز وابسته به غشاء می‌گردد. تصفیه و تعیین مشخصات جزء فرمات دئیدرژناز این دستگاه (۱۱) نشان داده است که این آنزیم بطور قابل ملاحظه‌ای کمپلکس بوده و دارای وزن مولکولی ۶۰۰۰۰۰ می‌باشد و از نظر مقادیر نسبی مولار شامل اجزاء زیر است:

الف: Heme ۴ (سیتوکروم نوع b)

ب: ۳/۸ مولیبیدن

ج: ۳/۸۴ سلنیوم

د: ۵۶ آهن غیر Heme

ه: ۵۲ گروه سولفاید غیر مقاوم در مقابل اسید

اگر آنزیم کامل را یک واحد (یکان) فرض نمائیم شامل سه واحد فرعی با وزن‌های مولکولی ۱۱۰۰۰۰، ۳۲۰۰۰ و ۲۰۰۰۰ دالتون می‌باشد و چنین بنظر میرسد که واحدهای فرعی مزبور بصورت مضارب ۴ وجود دارند. واحد فرعی با وزن مولکولی ۱۱۰۰۰۰ دالتون شامل سلنیوم است.

مطالعات با آنزیم نشاندار شده با ^{75}Se نشان داده است که نمیتوان با دی‌الیاز شدید در PH ۱۱/۵، رسوب با اسید تری کلرواستیک ۱۰% یا بوسیله عمل نمودن باتیولها و یا KCN، سلنیم موجود در آنزیم را مجزا نمود. ولی عمل با آب اکسیژنه منجر به حذف سلنیم شده است.

چون همین خواص پایداری در سلنیوپروتئین گلیسین ردوکتاز مشاهده میشود امکان دارد که قسمت حساس مولکولی شامل سلنیم در فرمات دئیدرژناز E. Goli نیز یک سلنیو سیستمین باشد.

محل مراکز آهن و گوگرد، مولیبیدن و دستجات Heme

هنوز گزارش نشده است. فرمات دئیدرژناز باکتریهای

C-Thermoaceticum (۱۲ و ۱۳) و M Vanniellii از نظر اندازه نصف فرمات دئیدرژناز E. Coli می‌باشد. آنزیم باکتریهای فوق‌الذکر فاقد Heme بوده ولی شامل سلنیوم، مولیبیدن و مراکز متعددی از آهن و گوگرد می‌باشد. چنین بنظر میرسد که در این آنزیم‌ها مولیبیدن تا حدی بوسیله تنگستن قابل جانشینی است. زیرا نمونه این باکتریها در حضور تنگستات نشاندار شده با ^{185}W (رادیواکتیو) منجر به سنتز فرمات

نتیجه:

الیگوالمان سلنیوم در حال حاضر بعنوان یک جزء لاینفک یکی از آنزیمهای موجودات هوازی و بیستانداران یعنی گلوکاتیتون پراکسیداز و دو آنزیم مربوط به باکتریها یعنی گلیسین ردوکتاز و فرمات دئیدرژناز شناخته شده است. علاوه بر این نشان داده شده است که در ردوکتاز سلنیوم بصورت بقایای سلنوسیستئین بیکی از بولی‌پپتیدهای کمپلکس آنزیمی اتصال دارد. پژوهشهای فعلی مربوط به این مسئله است که چگونه این بقایای سلنو سیستئین سنتز میشود؟ آیا بقایای مزبور بهنگام افزایش طول زنجیره پولی‌پپتید در مکان مخصوص بخود قرار میگیرد یا بعدا بوسیله واکنش پس از انتقال این موضوع عملی میشود؟ و این مسئله نیز هنوز معلوم نشده است که بقایای مزبور چه نقشی را ایفا میکند که آنرا در عمل کاتالیز مؤثر میسازد.

اگر قسمت حساس مولکول گلوکاتیتون پراکسیداز و فرمات دئیدرژناز نیز از بقایای سلنوسیستئین تشکیل یافته است بنابراین طریق سنتز و عمل سلنوآمینواسیدها در هر سه نوع آنزیم ممکن است مشابه باشد. واکنش پذیری استثنائی ترکیبات سلنیوم و بعضی از خواص نیمه رسانائی و فوتو شیمیائی آنها ممکن است پایه و اساس کاربرد آنها بعنوان اجزاء کمک کننده شیمیائی آنزیمها باشد. پژوهشهای آینده این موضوع را روشن خواهد کرد (۱۴).

دئیدرژناز نشاندار شده با ^{185}W که از نظر عمل کاتالیزوری فعال است میگردد.

چون فلز تنگستن حتی در حضور مولیبدن نمو باکتریهای غیرهوازی فوق‌الذکر را تحریک مینماید، تصور میکنند که ممکن است فرمات دئیدرژناز محتوی تنگستن مسئول این عمل باشد. بنابراین امکان اینکه تنگستن فعالیت کاتالیتیک بیشتر و پایداری زیادتیر و یا هر دو را به آنزیم می‌بخشد مورد توجه قرار گرفته است. در باکتری *E. Coli* تنگستن دارای اثر مخالفی است و منجر به سنتز یک فرمات دئیدرژناز غیر فعال میگردد.

بعلت اینکه هنوز مقدار کافی از این آنزیمها که در مقابل اکسیژن فوق‌العاده غیر مقاومند تهیه و فراهم نشده است نقش دقیق سلنیوم و اجزاء فلزی فرمات دئیدرژناز هنوز تعیین نگشته است. هر چند معقول بنظر میرسد تصور کنیم که فلزات انتقالی و سلنیوم بصورت عوامل انتقال دهنده برگشت پذیر الکترون عمل مینمایند.

سلنیوم حتی از گوگرد بعنوان جزئی از پروتئین انتقال دهنده کاملاً بی‌هوازی الکترون مناسب‌تر است زیرا بعنوان مثال پتانسیل اکسید و ردوکیون سلنوپروتئین بمقدار زیادی پائین تر از پتانسیل نظیر اسیدهای آمینه گوگرد دار است.

References

- 1- Schwarz K. and Faltz C.M., *J. Am. Chem. Soc.*, 79: 3222, 1957.
- 2- Patterson E.L., Milstrey R. and Stokstad E.L.R., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 95: 617, 1957.
- 3- Schubert J.R., Muth O.H., Oldfield J.E. and Remmert L.F., *Fed. Pro* 20: 689, 1961.
- 4- Hartley W.J. and Grand A.B., *Fed. Proc.*, 20: 679, 1961.
- 5- Pinsent J., *Biochem. J.*, 57: 10, 1954.
- 6- Rotruck J.T., Pope A.L., Granther H.E., Swanson A.B. Hateman D.G. and Hoekstra W.G., *Science*, 179: 588, 1973.

- 7- Flohe L., Gunzler W.A., and Schock H.H., *FEBS Lett.*, 32: 132, 1973.
- 8- Stadtman T.C., *Science*, 183: 915, 1974.
- 9- Turner D.C., and Stadtman T.C., *Arch. Biochem. Biophys.* 154: 366, 1973.
- 10- Cone J.E., Martin del Rio R., and Stadtman T.C., *Proc. Nat Acad. Sci. U.S.A.* 73: 2659, 1976.
- 11- Enoch H.G., and Lester R.L., *J. Biol. Chem.* 250: 6693, 1975.
- 12- Andreesen J.R., and Lyungdahl L.G., *J. Bact.* 116: 867, 1973.
- 13- Ljungdahl L.G., and Andreesen J.R., *FEBS Lett.* 54: 279, 1975.