

Livsvigtige metalioner

Ioner af kobber, jern og zink har vigtige funktioner i nerveceller og i hjernen. I den første af to artikler beskrives nogle af de vigtigste, mens den følgende artikel omtaler sygdomme, der karakteriseres ved anormale metalionniveauer i hjernen

Af GCP-kordinator, B.Sc. (Farmaci) Lene Stevner og professor emeritus, dr.scient Ole Farver

Fremskridt inden for sundhedssektoren og i medicinsk behandling har på dramatisk vis øget levealderen. Men netop derfor rammes stadigt flere af aldersrelaterede neurodegenerative sygdomme som amyotrofisk lateral sclerose (ALS), Alzheimers- (AD), Creutzfeldt-Jakobs- (CJD) og Parkinsons sygdom (PD). Disse lidelser er kendetegnet ved et fremadskridende tab af nerveceller, proteinsammenvoksning og kraftigt oxidativt stress. Et stort oxygenforbrug, et relativt lavt antioxidantniveau og ringe regenerativ kapacitet gør hjernevæv sårbart over for oxidativ nedbrydning.

Metalioner kan stabilisere proteiners struktur, kan optræde i flere oxidationstrin og kan indgå i de aktive centre i metalloenzymmer. De samme faktorer som regulerer proteinfoldning, vekselvirkning med membraner og metalionbinding, kan forårsage neurodegenerative sygdomme, hvor amyloid-proteiner aflejres i hjernen. I AD sker en sammenklumpning af β -amyloid peptid ($A\beta$), i CJD akkumuleres prion proteinet, PrP, i PD



Beskyttet mod bestråling af en metertyk betonmur, opsamles og analyseres resultaterne fra eksperimenterne.

aflejres α -synuclein (AS), mens superoxiddismutase (SOD) udfældes i ALS. Overgangsmetaller spiller en vigtig rolle i alle disse sygdomme.

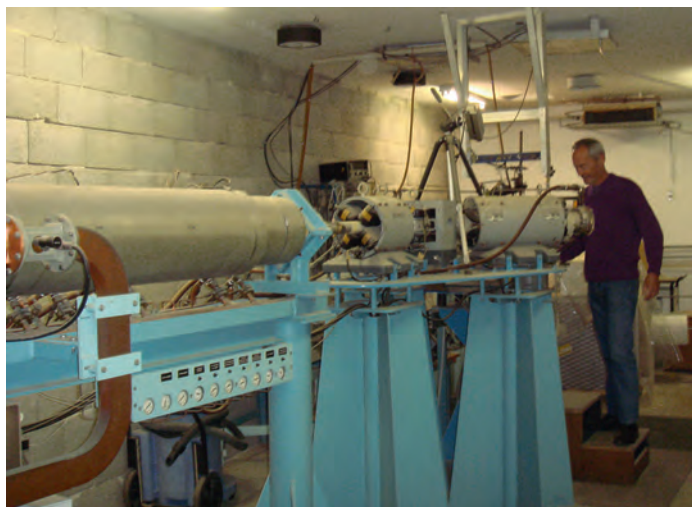
Hjernen opkoncentrerer metalioner

Hjernen opkoncentrerer metalioner, især Mn, Fe, Cu og Zn. En hyppig misforståelse er, at de neurologiske lidelser hvor overgangsmetaller synes at spille en rolle, skyldes en rent toksisk virkning. Med andre ord, metallerne inducerer en række skadelige virkninger på proteiner og forårsager sygdommen. Det er en myte. Der er mere end tilstrækkeligt af disse ioner i hjernevævet til at ødelægge eller påvirke mange proteiner eller stofskiftet. Derfor må hjernen have et effektivt system til at forhindre en ophobning af neurotoksiske metalioner. Blod-hjernebarrieren er svær at passere for plasmaets metalioner, og transporten styres af energifælgende katalytiske processer (f.eks. Wilsons ATPase). Beskadigelse af blod-hjernebarrieren eller uorden i den energifælgende transport er to karakteristi-

DANDIAG

20 års ekspertise i salg og service af Biohit produkter

Dandiag A/S | Mårkærvej 9 | 2630 Tåstrup
T: 4343 3057 | www.dandiag.dk | dandiag@dandiag.dk



En metode til at undersøge lynhurtige radikalreaktioner er puls-radiolyse. På universitetet i Jerusalem er udstyret bygget op omkring en 6 m lang accelerator. Her skydes korte pulser af elektroner (i nanosekunder) ind i proteiner.

ske eksempler på, hvorledes neurodegenerative forstyrrelser kan ændre metalionbalancen og føre til unormal proteinfunktion. Men idéen om et toksisk angreb som årsag til en defekt metalion-protein vekselvirkning er forkert.

Metalioner og proteiner

Der er to karakteristiske processer, som fører til neurodegenerative sygdomme. Reaktion mellem metalion og protein kan føre til sammenvoksning af proteinmolekyler, hvilket enten kan skyldes den redoxinaktive zinkion eller redoxaktive jern- og kobberioner. Den anden reaktion er metalionkatalyseret oxidation af proteiner.

Der findes grundige undersøgelser af mekanismer, der kontrollerer omsætningen af metalioner i hjernen, to omtales her: Opbevaring af zink i metallothionein og inkorporering af kobber i cellulære proteiner.

Metallothionein og glutathion

Metallothionein (MT) er et svovlholdigt protein der binder stærkt til kobber og zink. Hovedparten af cellens zink findes bundet til MT, der med et indhold af cystein virker stærkt reducerende ($E^0 \sim -370$ mV vs. SHE) og let kan oxideres af disulfider, hydrogenperoxid og peroxynitrit. MT-metabolismen er tæt knyttet til glutathion, der er det vigtigste redskab til fjernelse

Metaller i nerveceller

Tungere metaller som mangan, jern, kobber og zink har ikke tidligere vakt synderlig opmærksomhed, og det er først nu, at forskere i neurovidenskab er begyndt at undersøge omsætning af metalioner i nerveceller. I det sidste tiår er det blevet klart, at der er en sammenhæng mellem disse metaller og dannelse af eller forsvaret mod radikaler.

Hjerneforskere har ikke ofret mange tanker på koordinationskemi, da uorganisk kemi ikke har stået så højt på deres pensum som molekylærbiologi og cellefysiologi. Metalioner i metabolismen er blevet afføjet med betegnelsen "spormetaller". Det er uretfærdigt, da jern-, kobber- og zinkioner optræder i nerveceller i koncentrationer som f.eks. magnesium (0.1-0.5 mM). Metalioner spiller en central rolle i neurokemi, da de indgår i livsnødvendige kemiske processer i hjernen. Men undertiden er deres indvirkning ekstremt skadelig, idet reaktioner med proteiner fører til neurologiske lidelser.

New ! Antec ROXY™ EC-LC MS



ROXY™ EC/LC System :

Compatibility with any MS
Compatibility with MS via contact closure
Clarity software for system control
Automatic screening by using a specially modified autosampler
(screening of xenobiotics is possible)

System flexibility

Different system configurations
High yield sample conversion
Fast screening of multiple samples
Phase I and/or II metabolic studies



Liquidhandlere, SPE, HPLC / GPC / LC- kromatografi fra Gilson Inc.
Spektrofotometre fra Scinco & Picodrop.
TLC / HPLC udstyr fra CAMAG.
Reaktionsudstyr fra Radleys.
ProteinPro, OligoPro & MicroPro fra AATI
Salg og service af Gilson pipetter.
Akkrediteret kalibrering af alle fabrikater pipetter

Biolab A/S · Sindalsvej 29 DK-8240 Risskov
Telefon 8621 2866 E-mail: sales@biolab.dk

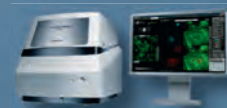
OLYMPUS

Compact Laser Scanning Microscope FV10i

Benefit from

- Extremely compact with "built in" dark room
- Easy to use - a wizard will guide you through the process
- Maximum optical performance and state of the art configuration
- Allows you to work with:
 - 4 different fluorochromes at the same time
 - Time laps imaging of living cells
 - Multi-area time-lapse with z-stacks
 - Bright field images of your sample
 - Advanced software for analysis, measurement and 3D rendering

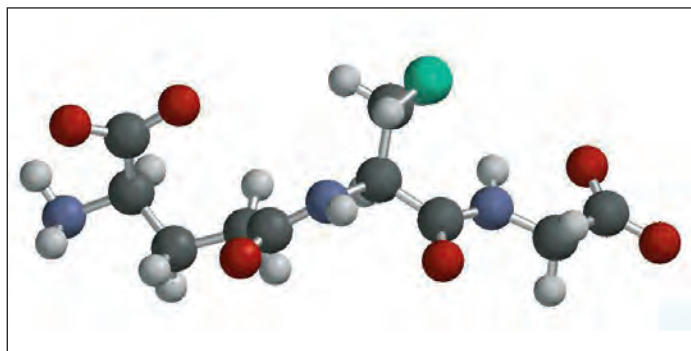
Attend at our workshop at Århus Universitet November 17th and at Panum Institut November 19th. Please contact Marie-Louise Lyster on telephone 44 73 47 65.



OLYMPUS DANMARK A/S

Phone: 44 73 48 00
E-mail: mikroskoper@olympus.dk
www.olympus.dk

O L Y M P U S M I C R O S C O P Y



Glutathion, er et γ Glu – Cys – Gly tripeptid. N-atomerne er vist med blåt, oxygen rødt og svovlatomet på Cys ses som en grøn kugle. Ved oxidation til GSSG kobles to GSH-molekyler sammen via en S-S-bro.

af reaktive oxygenholdige forbindelser i cytosolen. Reduceret glutathion (GSH) oxideres til GSSG af H_2O_2 . Reaktionen katalyseres af det selenholdige glutathionperoxidase.

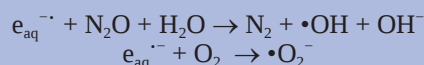
GSH medierer zinktransport til MT, mens GSSG oxiderer MT og frigør Zn^{2+} . Den fine balance mellem cellens redoxstatus, koncentrationen af biologiske, chelerende stoffer og cellens energetiske tilstand bestemmer zinks fordeling i hjerneceller. MT er ikke blot et protein, der afgifter tungmetaller, men er en del af det elegante system, som transporterer zink rundt i cytosolen styret af oxidativt stress og energifluktuationer. Modulering af zinkniveauet i det nanomolære område ved hjælp af MT bestemmer aktiviteten af flere enzymer.

Kobberchaperonen

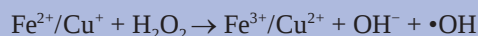
En af de vigtigste opdagelser vedr. kobbermetabolismen i hjer-

Radikaler

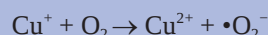
Prisen for at leve i en oxygenholdig atmosfære er dannelsen af frie radikaler – som bl.a. spiller en vigtig rolle for de biologiske processer, hvor nerveceller ødelægges. Reaktionen mellem proteiner og radikaler kan studeres ved puls-radio-lyse-teknikken, hvor nanosekund pulse af elektroner skydes ind i opløsningen. Elektronerne kan enten direkte reagere med redoxaktive centre eller omdannes til oxygenholdige radikaler, $\bullet OH$ og $\bullet O_2^-$



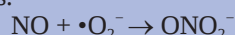
De frie radikaler reagerer med organisk materiale. De forårsager skader som celleforandringer eller angreb på proteiner. I organismen kan hydroxylradikalet dannes ved Fenton-reaktionen



Kobber(I) kan også producere superoxidradikalet:



De oxiderende molekyler, hydrogenperoxid og de to radikaler benævnes ROS (Reaktive Oxiderende Specier). Også peroxynitrit, ONO_2^- (ikke at forveksle med den isomere nitration) produceres.

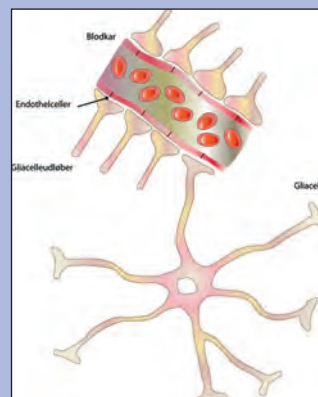


Blod-hjerne barrieren (BHB)

BHB adskiller vævet og de utallige blodkar i hjernen og består af de tæt sammenhængende endothelceller. Vand-opløselige stoffer og salte kan kun vanskeligt trænge igennem BHB i modsætning til fedtopløselige stoffer.

Transporten af essentielle næringsstoffer f.eks. glukose, proteiner, men også kobber og andre vigtige metaller som jern og zink kan kun ske vha. specielle energikrævende mekanismer.

Mellem hjernens blodkar og dens neuroner sidder hjernens "bindemiddel", gliacellerne. De har bl.a. til formål at transportere næringsstoffer fra blodkarrene til nervecellerne og affaldsstoffer den modsatte vej. Endvidere bekæmper de bakterier og virus, fjerner døde neuroner og agerer som fysisk støtte for nervecellerne. Gliacellerne sidder omkring blodkarrene og er fasthæftet oven på BHB.



neceller er kobberchaperonen (CCS) for superoxiddismutase. En chaperone er et protein, der hjælper proteiner med at folde korrekt. Visse chaperoner kan desuden indsætte metalioner på de rette pladser i metalloenzymer og hermed eliminere faren for frie metalioner i celler. Kobber optages i metalloproteiner ved at Wilsons og Menkes ATP-aser leverer energien til at føre



Chaperonen består af en kobberbindende del (magenta, α -helix) og en 8-strengt β -sheet sektion (blå). Kobberionerne afleveres af de to cysteiner (vist med gult i første sektion) mens den anden sektion sørger for at SOD folder korrekt. Den tredimensionale struktur af CCS er nært beslægtet med SOD, men er uden katalytisk effekt.

ekstracellulært kobber ind i celler. Ved lavt cellulært kobberindhold er det CCS, der transporterer kobber til SOD, og cellerne kan så holde antioxidantaktiviteten i gang.

Man kan undre sig over, at chaperonen er nødvendig, når Cu^{2+} bindes til SOD med en stabilitetskonstant på ca. $10^{15} M^{-1}$. Men kobberioner er toksiske for cellen, og koncentrationen er derfor ekstremt lav; der er i gennemsnit mindre en én fri kobberion pr. celle. CCS sørger for kobberinkorporering i SOD i skarp konkurrence med andre chelatmolekyler som MT, der ellers

ville gøre cellens kobberindhold utilgængelig for SOD. Cellernes indhold af CCS, Cu-ATPase og MT understreger, hvor vigtigt det er at eliminere redoxaktive frie kobberioner. Uorden i kobbertransport reguleringen i cellen kan medvirke til mange neurodegenerative tilstande. Så selvom kobber er livsvigtigt og afgørende for adskillige enzyms funktion (tyrosinase, ceruloplasmin, cytochrom c oxidase og dopamin β -hydroxylase), vil frie eller fejlagtigt anbragte Cu^{2+} katalysere dannelsen af skadelige radikaler som OH. For stort indhold eller kobberioner i forkerte omgivelser mistænkes for at være ansvarlig for flere neurodegenerative sygdomme.

Kobber er tilgængeligt

Det forsvindende indhold af frie kobberioner i cytosolen bevirker ikke, at kobber er utilgængeligt for andre enzymer end SOD. Kobber findes koordineret bl.a. til metallothioneiner med forskellig affinitet. Bindingerne er labile og metalionindholdet kan undergå fluktuationer ved ændring i cellernes redoxtilstand. Kobberkoncentrationerne i neuroner kan variere kolossalt og forårsage abnorme processer. Metabolismen af kobber er ikke fuldt klarlagt, og Cu^{2+} frigjort ved neurotransmission ($\sim 15 \mu\text{M}$) eller under ATPase transport kan være tilstrækkelig stor til reaktion med ekstracellulære makromolekyler som A β -peptidet i Alzheimers sygdom.

E-mail-adresser

Lene Stevner: less@life.ku.dk

Ole Farver: of@farma.ku.dk

KEMIKRYDS											
2009-10	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	S	12 2	O	-	M	E	T	H	O	X	Y
3	M	E	S	K	A	L	I	N	13	14 4	I
5	A	6	M	I	7	N	H	2	S	O	3
	↓	8	I	T		15 9	2	16 10	C	17	11
12	L	13	U	I	14	I	S	L	A	Y	18 15
16	U	19 17	M	N		20	21 18	E	P	22 19	P
20	F	R	23	24	21	K	A	R	A	M	E
22	T	Ø	R	V	25 23	R	R	26	27 24	N	A
25	B	29 26	A	30 27	H	31	32 28	A	C	29	T
30	O	S	33 31	H	C	H	O	32	6	34 33	L
34	B	O	W	M	O	R	E	35	H	2	O
36	L	D	A	35 37	O	S	C	36 38	5	37 39	V
40	E	38 41	S	I	H	4	D	2	O	T	E
42	R	B	2	S	43	Y		44	H	O	R

Løsning til kemikryds 10

Det hemmelige ord som Carsten Krogh havde gemt i kemikryds nr. 10 var: Maltwhisky



Løbende vandkontrol

Det nye pH meter Orion 2100 kombinerer målinger af pH/ORP og ledningsevne i et præcist og driftssikkert multiinstrument til online kontrol af bl.a. procesvand.

Orion 2100 fås med den anerkendte ROSS pH proceselektrode, som giver dig hurtig svartid, driftssikkerhed og markedets bedste nøjagtighed.

BUHL BØNSØE

Hassellunden 11A · DK-2765 Smørum · Tlf.: 45 95 04 10 · www.buhl-bonsoe.dk

www.buhl-bonsoe.dk/ph

