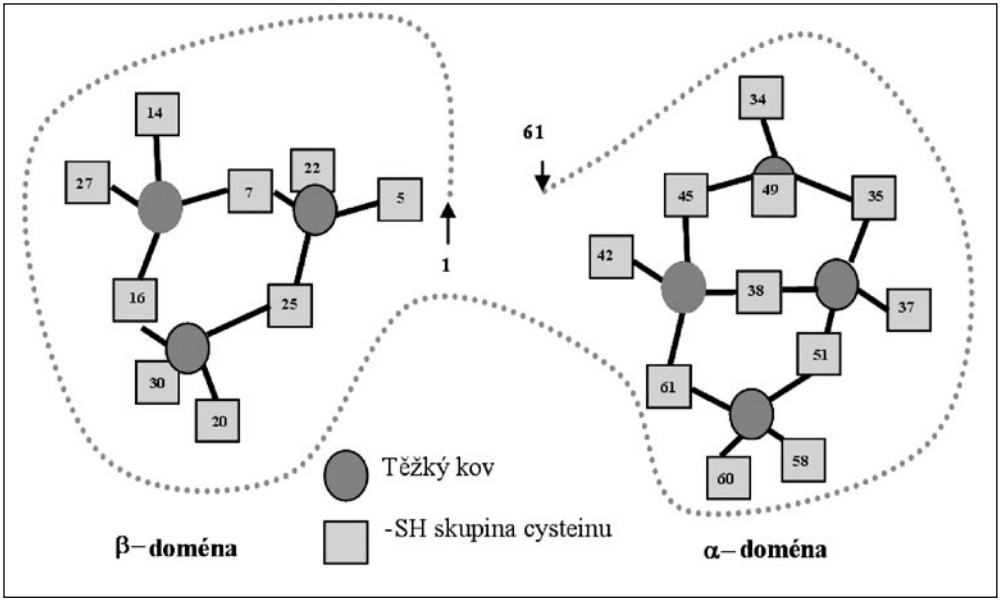
Metalothionein a jeho klinický význam

I. Fabrik, J. Kukačka, R. Průša, T. Eckschlager, V. Adam, R. Kizek

ÚVOD

Metalothionein náleží do rodiny metaloproteinů, které jsou široce rozšířeny v živočišné říši, nicméně podobné typy proteinů byly popsány i u bakterií, rostlin a hub. Jedná se o nízkomolekulární (6-10 kDa) na cysteiny bohaté proteiny, které neobsahují žádné aromatické aminokyseliny. Asi 30 % jeho hmotnosti tvoří aminokyselina cystein, která vytváří charakteristické rysy metalothioneinu. Právě díky sulfhydrylovým skupinám dokáže metalothionein vázat ionty kovů, 7 dvojmocných iontů nebo 12 jednomocných[1].

Zjednodušené schéma struktury metalothioneinu



FUNKCE METALOTHIONEINU

Fyziologických funkcí metalothioneinu bylo doposud rozpoznáno několik. Předně je to významný přenašeč iontů kovů, jak již bylo naznačeno v úvodu. Největší afinitu má k Cu^{+}, ale nejčastěji váže Zn^{2+}, čímž se velmi intenzivně zapojuje do o homestáze těchto iontů v organismu. Při intoxikaci jinými těžkými kovy jako Cd^{2+}, Pb^{2+}, či Hg^{2+}, dokáže tyto kovy navázat (za uvolnění Zn^{2+}), a tím je pro buňku zneškodnit. Následná detoxikace poté proběhne pravděpodobně v ledvinách. MT má také významnou antioxidativní roli. Spolu s GSH vytváří oxidačně redukční dvojici, která reguluje výskyt volných kyslíkových radikálů. Vytvářejí tak redukční prostředí, které pomáhá chránit nukleové kyseliny, fosfolipidové membrány a proteinové aparáty buňky před ionizujícími účinky vysokoenergetického záření a chemo-oxidačním působením toxických činidel. V poslední době se také stále více poukazuje na schopnost metalothioneinu regulovat expresi. Jako zásobník zinku dokáže přenášet esenciální kovy na transkripční faktory a tak je aktivovat. Aktivované transkripční faktory se váží na regulační sekvence DNA a spouští transkripci.

EXPRESE METALOTHIONEINU

Regulace exprese metalothioneinu je také spjata s výskytem iontů kovů. Transkripce je řízena pomocí regulačního úseku DNA zvaného MRE (metal responsive element) a může být zahájena po navázání transkripčního faktoru na tuto sekvenci. Nejlépe zmapovanou cestou exprese je přes MTF-1 (metal-regulatory transcription factor-1). Ten se v buňce nachází v inaktivovaném stavu s navázaným inhibitorem MTI. Po vstupu iontu kovu do buňky se tento ion naváže právě na inhibitor, čímž aktivuje MTF-1 a ten poté může po navázání na MRE zahájit transkripci metalothioneinu. Této expresní cesty se využívá při léčbě pacientů otrávených těžkými kovy, kterým se podává zinek. Ten přes výše zmíněnou kaskádu zahájí transkripci

genu pro metalothionein, který kromě zinku, váže také toxické ionty těžkých kovů a pomáhá tak při detoxikaci organismu.

METALOTHIONEIN A NÁDOROVÁ ONEMOCNĚNÍ

Vztah metalothioneinu k nádorovému onemocnění nebyl doposud uspokojivě osvětlen, nicméně protein hraje roli v kancerogenezi[2]. Pokusy s geneticky modifikovanými myšmi bez genu pro metalothionein ukázaly, že jsou citlivější ke vzniku nádorového onemocnění způsobeného těžkým kovem. Také se ukázalo, že proliferující buňky obsahují více metalothioneinu, čímž se nabízí spojitost s nádorovým bujením. Rozmnožující se buňky zřejmě potřebují zinek pro nově exprimované enzymy či pro regulační proteiny. Antioxidační aktivita metalothioneinu je využita při likvidaci kyslíkových radikálů vzniklých při zvýšené aktivitě mitochondrií dělících se buněk. Existuje řada studií vyhodnocující hladinu metalothioneinu u pacientů. Koncentrace proteinu (MT) je dávána do souvislosti s lokalizací tumoru, stádiem onemocnění, prognostickými vyhlídkami, ale i věkem pacienta, stravovacími návyky a podobně. V této oblasti je potřeba dále provádět intenzivní výzkum, aby se lépe pochopilo fungování nádorové buňky. Zvýšená hladina MT pravděpodobně indikuje změny v proliferaci buněk a zdá se, že je u některých nádorů známkou horší prognózy či pokročilejšího stadia[3, 4]. Naše výsledky průkazu MT v séru pacientů s nádory a dobrovolníků naznačují, že tento protein by mohl být u některých nádorů vhodným markerem.

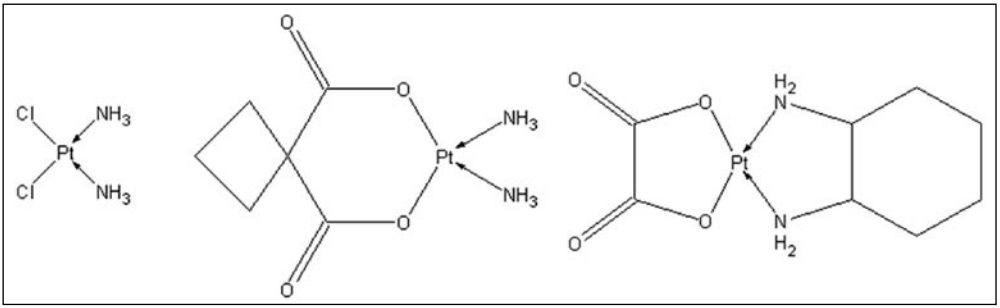
CYTOSTATIKA NA BÁZI PLATINY

Účinky nejznámějšího zástupce této skupiny látek, cisplatiny (cis-diammindichlorplatnatý komplex), byly objeveny náhodou, když Rosenberg a van Camp zkoumali vliv elektrického proudu na kolonii mikroorganismů (E. coli). Používali platinové elektrody, které při pokusu vytvářely cytostatikum, jehož účinky jsou i po téměř padesáti letech hojně využívány v onkologii.

MECHANISMUS ÚČINKU CISPLATINY

Uběhlo téměř 50 let od pozorování efektu cisplatiny na buňky, ale ani to nemění nic na faktu, že je dodnes hojně využívána. Nicméně kvůli mnoha vedlejším efektům léčby je dnes pomalu vytlačována deriváty platnatých komplexů druhé generace, jako je karboplatina, či ještě nověji komplex třetí generace, kam se řadí oxaliplatina.

Strukturní vzorce platinových léčiv (zleva cisplatina, karboplatina, oxaliplatina)



V čem spočívá léčebný efekt této látky? Díky mnoha studiím věnovaným tomuto tématu si dnes můžeme vytvořit představu o pravděpodobném účinku léčiva. Cisplatina se nejdříve musí aktivovat (odštěpením iontů chloru), což se děje až v intracelulárním prostoru. Takto aktivovaná cisplatina je již pro buňku nebezpečná. V jádře je schopná reagovat s purinovými bázemi (především guaninem), které po vzniku vazby vybočí z pravidelné struktury nukleových kyselin. Tím se spustí kaskáda metabolických pochodů, které v ideálním případě končí apoptózou buňky[5].

VZNIK RESISTENCE A JEJÍ MECHANISMUS

Bohužel, ne u všech tumorů je léčba úspěšná. V drtivé většině případů je neúspěch zapříčiněn vznikem rezistence nádorových buněk vůči cisplatině. Mechanismy buněčné obrany se dají rozdělit asi do tří skupin; transport cisplatiny mimo buňku, vazba cytostatika intercelulárními thioly a nakonec oprava poškozené DNA. MT spolu s glutathionem je schopen navázat cisplatinu svými –SH skupinami a tím ji pro buňku učinit neškodnou. Zvýšená hladina metalothioneinu u pacientů s nádorovým onemocněním tedy může vyvolat rezistenci k platinovým cytostatikům. Je tedy potřeba přistupovat k léčbě cytostatiky individuálně a nasadit co nejvhodnější léčbu. V buňkách rezistentních k cisplatině kultivovaných v přítomnosti tohoto cytostatika jsme skutečně prokázali vysoký obsah MT[6].

ZÁVĚR

Plné porozumění významu metalothioneinu pro tumorovou buňku je zatím cíl nedosažený, ale nikoliv nedosažitelný. Postupným odkrýváním mechanismů fungování buňky, jak nádorové, tak i zdravé, se dostáváme blíže k tomu, abychom jednoho dne dokázali nádorová onemocnění nejen včas diagnostikovat a vyléčit, ale účinně jim předcházet. Znalost významu hladiny metalothionenu nám v tom snad pomůže, protože je to protein, který je významně zapojen do procesu regulace buněčného dělení.

PODĚKOVÁNÍ

Práce na tomto projektu byla podpořena projektem Grantové agentury Akademie věd České republiky IAAA 401990701.

LITERATURA

1. R. Kizek, L. Trnkova, and E. Palecek, Analytical Chemistry 73, (20), 4801-4807 (2001).
2. V. Adam, and R. Kizek (Eds), Utilizing of bioelectrochemical and mathematical methods in biological research. Research signpost: T. Eckschlager, J. Hrabeta, V. Adam, R. Kizek: Metallothioneins and cancer 127-153, (2007).
3. J. Petrlova, O. Blastik, R. Prusa, J. Kukacka, R. Mikelova, M. Stiborova, V. Adam, O. Zitka, T. Eckschlager, and R. Kizek, Klinicka Onkologie 19, (2), 138-142 (2006).
4. I. Fabrik, V. Adam, S. Krizkova, J. Kukacka, R. Prusa, L. Trnkova, and R. Kizek, Klinicka onkologie 20, (6), 384-389 (2007).
5. R. Kizek, J. Vacek, V. Adam, and B. Vojtesek, Klin. Biochem. Metab. 12, (2), 72-78 (2004).
6. J. Hrabeta, T. Figova, T. Eckschlager, R. Prusa, O. Blastik, S. Krizkova, V. Adam, J. Cinatl, M. Michaelis, and R. Kizek, in XXXI. Brněnské onkologické dny, Brno, 2007.