

# Sledování role iontů kovů a metalothioneinu při vývoji prionových onemocnění

Alžběta Cardová<sup>a</sup>, Pavlína Sobrova<sup>a</sup>, Raymond Bujdoso<sup>b</sup>, Vojtěch Adam<sup>a,c</sup>, René Kizek<sup>a,c</sup>

<sup>a</sup> Ústav chemie a biochemie, Agronomická fakulta, Mendelova univerzita v Brně, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Česká republika

<sup>b</sup> Fakulta veterinárního lékařství, Univerzita v Cambridge, Madingley Road, Cambridge, CB3 0ES, United Kingdom

<sup>c</sup> Středoevropský technologický institut, Vysoké učení technické v Brně, Technická 10, 616 00 Brno, Česká republika

## Monitoring of the role of metal ions and Metallothionein in the prion diseases development

In this study we tried to describe the role of prion proteins in living organisms. PrP<sup>C</sup> is a metal binding protein and there is a presumption that the metals may play a role in the pathogenic conversion of PrP<sup>C</sup> to PrP<sup>Sc</sup>. Equally important link between prion diseases and metals is a protein Metallothionein (MT). The brain specific form of Metallothionein is MT-III. MT-III participates in formation of neurodegenerative diseases and maintains the metal balance in a brain. It was revealed that the lower level of MT-III can lead to the formation of neurofibrillary clusters characteristic of Alzheimer's disease. Recently, there are hypotheses that prion diseases may have common mechanisms of other neurodegenerative diseases such as Alzheimer's, Parkinson's or Huntington's disease. These hypotheses obviously ignited great scientific interest in the subject and the common features of these diseases are now intensively studied.

**Přijato k publikování:** 5. 3. 2014

**Klíčová slova:** metalothionein, metalothionein-III, MT-III, prionový protein, PrP<sup>C</sup>, PrP<sup>Sc</sup>, scrapie

## Úvod

Buněčné prionové proteiny (PrP<sup>C</sup>) se mohou po jejich přeměně na patologickou formu prionu (PrP<sup>Sc</sup>) stát infekčními a mohou způsobovat neurodegenerativní onemocnění nazývaná transmisivní spongiformní encefalopatie (TSE). TSE mohou postihnout jak člověka, tak zvířata a v současné době jich existuje 16 druhů. Prionová onemocnění je možné rozpoznat podle charakteristické změny morfologie mozkové tkáně. Veškerá tato onemocnění mají velmi dlouhou inkubační dobu, která znesnadňuje jejich výzkum, jsou fatální a prozatím také ireverzibilní. Vzhledem k tomu, že je PrP<sup>C</sup> kov-vázající protein, existuje předpoklad, že kovy mohou hrát roli v patogenní přeměně z PrP<sup>C</sup> na PrP<sup>Sc</sup>. Neméně důležitým pojítkem mezi prionovými onemocněními a kovy je i protein metalothionein. Jeho mozkově specifická forma metalothionein-III (MT-III) se účastní vzniku neurodegenerativních onemocnění a zajišťuje právě udržování koncentrace kovů v mozku. Bylo odhaleno, že při snížení hladiny MT-III dochází k formaci neurofibrilárních shluků charakteristických pro Alzheimerovu chorobu<sup>1</sup>. V poslední době existují i hypotézy o tom, že prionová onemocnění mohou mít společné mechanismy vzniku s dalšími neurodegenerativními chorobami, jako je Alzheimerova, Parkinsonova nebo Huntingtonova choroba<sup>2</sup>. Tyto hypotézy samozřejmě podnítily velký vědecký zájem

o toto téma a společné znaky těchto chorob jsou nyní intenzivně studovány.

## Buněčný prionový protein (PrP<sup>C</sup>)

PrP<sup>C</sup> je povrchový buněčný glykoprotein, který je exprimován především v mozku<sup>3</sup>. Mezi hlavní místa exprese PrP<sup>C</sup> patří například neurony, gliové buňky, leukocyty, ale také okolní tkáň zahrnující jednojaderné periferní krevní buňky<sup>4,5</sup>. Co se týče genetického hlediska, prionový protein je u člověka kódován vysoce konzervovaným genem PRNP, jež je lokalizován na chromozomu 20<sup>6</sup>. Pomocí zatím neobjasněného mechanismu se tento protein může stát infekčním.

## Patogenní forma prionového proteinu (PrP<sup>Sc</sup>)

Přirozená a infekční forma proteinu se od sebe liší pouze změněnou konformací<sup>7</sup>. Ve struktuře PrP<sup>C</sup> převládá konformace  $\alpha$ -šroubovice, zatímco u infekčního PrP<sup>Sc</sup> převládá konformace  $\beta$ -skládaného listu. Po shromáždění několika monomerů PrP<sup>Sc</sup> do uspořádaného jádra se přidávají další monomery PrP<sup>C</sup> a mění se v PrP<sup>Sc</sup>. Pokud se intermolekulární interakce takto pozměněných infekčních agregátů stanou silnými a tím pádem nevratnými, odolávají mechanismům buněčné smrti a šíří se z jedné buňky do druhé, kde k sobě váží další monomery, nazývají se

tyto částice priony<sup>8-10</sup>. Patogenní priony jsou v jádře stabilizovány a vytvářejí amyloid, což je patologická fibrilární forma proteinu struktury  $\beta$ -skládaného listu. Amyloid vzniká agregací původně solubilní formy proteinu s výrazně zastoupenou  $\beta$ -strukturou do formy fibrilární, která je rezistentní k degradaci proteázami. Pokud tento agregát fragmentuje, navyšuje se počet jader, která mohou přeměňovat další PrP<sup>Sc</sup><sup>11</sup>. Toxicita obtížně degradovatelného PrP<sup>Sc</sup> a nedostatek fyziologického PrP<sup>C</sup> pak zapříčiňují vznik progresivních neurodegenerativních chorob, známých jako transmisivní spongiformní encefalopatie (TSE).

### Esenciální kovy a vznik prionových onemocnění

Existují předpoklady, že do procesu přeměny PrP<sup>C</sup> na PrP<sup>Sc</sup> mohou být zapojeny ionty kovů. PrP<sup>C</sup> se účastní buněčné signalizace a může vázat či transportovat ionty mědi či zinku<sup>13,14</sup>. Pro správnou fyziologii mozku je nutná přísná regulace rovnováhy těchto iontů<sup>15</sup>. Z našeho pohledu je velice důležité zapojení kovů do procesů neurodegenerace a vývoje neurodegenerativních onemocnění<sup>16</sup>. V průběhu TSE hrají kovy roli při tvorbě oxidativních poškození mozku, akumulaci proteinových agregátů a při ztrátě neuronů. Zdá se, že ionty kovů a jejich chelátory mohou ovlivnit i biochemické vlastnosti PrP<sup>Sc</sup> a tím i jeho migraci při denaturační elektroforéze<sup>17</sup>. Tato vlastnost umožňuje i odlišení různých kmenů prionů a obecně odlišení PrP<sup>C</sup> od PrP<sup>Sc</sup><sup>18</sup>. Velkým rozdílem mezi PrP<sup>C</sup> a PrP<sup>Sc</sup> je i jejich preference vazeb s kovy. Zatímco PrP<sup>C</sup> má největší afinitu k mědi, v případě PrP<sup>Sc</sup> je preferována vazba se zinkem či manganem<sup>19</sup>. Dalším zajímavým zjištěním bylo, že právě po inkubaci PrP<sup>C</sup> s manganem či zinkem může protein získat částečnou rezistenci k proteázám<sup>20</sup>.

### Metalothionein

Zástupci proteinů ze skupiny metalothioneinů (MT) jsou přítomni téměř u všech žijících organismů<sup>22</sup>. Molekulární hmotnost MT se pohybuje okolo 7 kDa. Studie struktur a biologických funkcí ukázaly, že MT mohou vázat esenciální kovy (Zn, Cu) a toxické kovy (Cd, Hg), a také odhalily existenci 4 hlavních isoform MT<sup>23,24</sup>. Různé isoformy MT jsou strukturně identické, mají stejný počet cysteinových reziduí a vysokou afinitu ke kovům. MT-I a -II jsou exprimovány ve všech savčích tkáních. V mozku jsou MT-I a -II lokalizovány zejména v astrocytech, dále však i v epiteliálních

buňkách choroidního plexu, endotelu a meningeálních buňkách<sup>25,26</sup>. Úroveň exprese MT-I a MT-II v neuronech není vždy stejná<sup>27</sup>. MT-III je exprimován v mozku a původně byl pojmenován jako „inhibiční faktor růstu“<sup>1</sup>; jako MT-III byl pojmenován až později<sup>28</sup>. MT-III obsahuje oproti jiným MT sedm prídavných aminokyselin. Na rozdíl od jiných isoform má MT-III schopnost inhibice růstových vlastností neuronových kultur<sup>1</sup>. MT-IV je exprimován ve tkáních obsahujících buňky vrstevnatého dlaždicového epitelu, kde hraje roli při specifické diferenciaci tohoto epitelu<sup>29</sup>.

### Metalothionein-III (MT-III) a prionová onemocnění

Metalothionein-III je známý kov-vázající protein, který udržuje stálou koncentraci iontů kovů v mozku. Společnými vlastnostmi MT-III a PrP<sup>C</sup> je právě udržování rovnováhy kovových iontů v buňce, přičemž tento společný rys mimo jiné ukazuje na jejich možnou kooperaci při konformační změně PrP<sup>C</sup> na PrP<sup>Sc</sup> a při zrodu prionového onemocnění<sup>13,14,21,30</sup>. Prionová onemocnění sdílí mnoho podobných vlastností s dalšími chorobami, vznikajícími mechanismem nesprávného sbalování proteinů a projevujícími se ztrátou neuronů. V případě Parkinsonovy choroby jde o nesprávné sbalování proteinu  $\alpha$ -synukleinu, u Alzheimerovy choroby jde o amyloid  $\beta$  a protein Tau a u Huntingtonovy choroby je to protein huntingtin<sup>10</sup>. Toto zjištění vyprovokovalo mnoho snah o odhalení potenciální role MT-III při vzniku neurodegenerativních onemocnění<sup>30</sup>.

### Závěr

I přesto, že se výzkumu na toto téma věnuje mnoho vědeckých skupin, přesný proces patologické přeměny PrP<sup>C</sup> na PrP<sup>Sc</sup> není stále objasněn. Také odhalení role esenciálních kovů v procesech neurodegenerace je klíčové. Je evidentní, že kovy a také kov-vázající proteiny se na patologických přeměnách podílejí, avšak není jasné, jakým způsobem. Pokud by se podařilo jejich roli objasnit, bylo by v budoucnu možné i lepší zacílení léčby TSE.

*Tato práce byla financována z projektu CEITEC CZ.1.05/1.1.00/02.0068.*

## Literatura

1. Uchida Y., Takio K., Titani K., Ihara Y., Tomonaga M.: *Neuron*, 7, 337 (1991).
2. Yokoyama T., Mohri S.: *Current medicinal chemistry*, 15, 912 (2008).
3. Dormont D.: *FEBS letters*, 529, 17 (2002).
4. Cashman N. R., Loertscher R., Nalbantoglu J., Shaw I., Kascsak R. J., Bolton D. C., Bendheim P. E.: *Cell*, 61, 185 (1990).
5. Dodelet V. C., Cashman N. R.: *Blood*, 91, 1556 (1998).
6. Parchi P., Gambetti P.: *Current opinion in neurology*, 8, 286 (1995).
7. Legname G., Baskakov I. V., Nguyen H. O., Riesner D., Cohen F. E., DeArmond S. J., Prusiner S. B.: *Science*, 305, 673 (2004).
8. Prusiner S. B.: *Science*, 216, 136 (1982).
9. Prusiner S. B.: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95, 13363 (1998).
10. Brundin P., Melki R., Kopito R.: *Nature reviews. Molecular cell biology*, 11, 301 (2010).
11. Campana V., Sarnataro D., Zurzolo C.: *Trends in Cell Biology*, 15, 102 (2005).
12. Huang Z., Prusiner S. B., Cohen F. E.: *Current topics in microbiology and immunology*, 207, 49 (1996).
13. Gavier-Widen D., Stack M. J., Baron T., Balachandran A., Simmons M.: *Journal of veterinary diagnostic investigation : official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc.*, 17, 509 (2005).
14. Kozłowski H., Luczkowski M., Remelli M., Valensin D.: *Coordination Chemistry Reviews*, 256, 2129 (2012).
15. Cai L., Li X. K., Song Y., Cherian M. G.: *Current medicinal chemistry*, 12, 2753 (2005).
16. Bush A. I.: *Current Opinion in Chemical Biology*, 4, 184 (2000).
17. Wadsworth J. D., Hill A. F., Joiner S., Jackson G. S., Clarke A. R., Collinge J.: *Nature cell biology*, 1, 55 (1999).
18. Shaked Y., Rosenmann H., Hijazi N., Halimi M., Gabizon R.: *Journal of virology*, 75, 7872 (2001).
19. Wong B. S., Chen S. G., Colucci M., Xie Z. L., Pan T., Liu T., Li R. L., Gambetti P., Sy M. S., Brown D. R.: *Journal of Neurochemistry*, 78, 1400 (2001).
20. Brown D. R., Hafiz F., Glasssmith L. L., Wong B. S., Jones I. M., Clive C., Haswell S. J.: *The EMBO journal*, 19, 1180 (2000).
21. Lehmann S.: *Current Opinion in Chemical Biology*, 6, 187 (2002).
22. Coyle P., Philcox J. C., Carey L. C., Rofe A. M.: *Cellular and Molecular Life Sciences*, 59, 627 (2002).
23. Aschner M., Cherian M. G., Klaassen C. D., Palmiter R. D., Erickson J. C., Bush A. I.: *Toxicology and Applied Pharmacology*, 142, 229 (1997).
24. Takahashi S.: *Journal of Hematology & Oncology*, 5, (2012).
25. Penkowa M., Giralt M., Thomsen P. S., Carrasco J., Hidalgo J.: *Journal of Neurotrauma*, 18, 447 (2001).
26. Hidalgo J., Aschner M., Zatta P., Vasak M.: *Brain research bulletin*, 55, 133 (2001).
27. Campagne M. V., Thibodeaux H., van Bruggen N., Cairns B., Gerlai R., Palmer J. T., Williams S. P., Lowe D. G.: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 96, 12870 (1999).
28. Palmiter R. D., Findley S. D., Whitmore T. E., Durnam D. M.: *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89, 6333 (1992).
29. Quaipe C. J., Findley S. D., Erickson J. C., Froelick G. J., Kelly E. J., Zambrowicz B. P., Palmiter R. D.: *Biochemistry*, 33, 7250 (1994).
30. Kawashima T., Doh-ura K., Torisu M., Uchida Y., Furuta A., Iwaki T.: *Dementia and Geriatric Cognitive Disorders*, 11, 251 (2000).



Článek je volně šiřitelný pod licencí Creative Commons (BY-NC-ND).

Musí však být uveden autor a dokument nelze měnit a používat pro komerční účely.