trewit

Metalothionein a jeho vztah k metabolismu iontů těžkých kovů

Metalothioneiny jsou velmi významnou skupinou proteinů vyskytující se v rámci celé živočišné říše. Jejich biologická úloha není doposud plně objasněna. Za jejich velmi významnou roli lze považovat regulaci hladiny esenciálních kovů (jako je zinek, měď a další). Je třeba s nimi do budoucna počítat při hledání optimální minerální výživy zvířat.

Při hledání vhodné minerální výživy zvířat se musí zohlednit nejen zdraví a welfare zvířat, ale i dopad na životní prostředí, produktivitu a kvalitu výroby. Množství přijatého minerálního prvku je zcela jistě ovlivněno vnějšími a vnitřními faktory.

Je známo, že mezi vnější faktory můžeme zařadit:

i) množství prvků (v anorganické podobě) aplikovaných do krmiv;
ii) rozpětí mezi nedostatečnou a toxickou hladinou je často malé;
iii) optimální hladina pro každý prvek kolísá v závislosti na obsahu ostatních prvků a dalších chemických látek;
iv) obsah minerálních látek v základních krmných surovinách může silně kolísat. Navíc velmi významnou úlohu, a možná mnohem větší, hrají faktory vnitřní. Ty jsou dány každému jedinci individuálně a vycházejí z jejich genomu a jsou tvořeny proteiny a peptidy.

Hladina iontů kovů a metabolismus

Obecně platí, že akutní otrava je spojena většinou s jednorázovým příjmem vyšší koncentrace iontů kovů a může bezprostředně organismus ohrozit na životě, zatímco otrava chronická je spojena s dlouhodobou expozicí relativně nízké koncentrace podávaného iontu kovu. Vliv těžkých kovů na metabolickou aktivitu je významným ukazatelem nebezpečnosti těžkých kovů. Podle tohoto kriteria byly ionty těžkých kovů rozděleny na dvě základní skupiny

i) toxické,
ii) esenciální.

Na obrázku 1 je ukázán rozdíl mezi těžkými kovy toxickými a esenciálními. U iontů kovů, které jsou potřebné pro organismus (esenciální), pozorujeme nejdříve s jejich zvyšující se koncentrací pozitivní nárůst metabolické aktivity (do koncentrace optima). Při dalším zvyšování koncentrace kovu nedochází ke změně metabolické aktivity (oblast luxusu). Další zvyšování koncentrace kovu vede k toxicitě (pokles metabolické aktivity; červená křivka).

Toxické těžké kovy

Toxické těžké kovy již ve velmi nízké koncentraci vyvolávají závažnou, většinou nevratnou negativní metabolickou změnu, která vede ke smrti organismu. Mezi toxické těžké kovy řadíme především olovo, kadmium, rtuť, arsen a řadu dalších. Toxické těžké kovy vstupují do organismů především kontaminovanou potravou a vodou. Mohou kompetitivně inhibovat vazebná místa v apoenzymech a tím narušit biochemické procesy. Tak například, olovo v nízkých dávkách vykazuje neurotoxické působení u dětí s následným snížením IQ, má nepříznivý vliv na imunitní systém a v prenatálním období též zasahuje do metabolismu kolagenu. U dospělých se zátěž olovem může projevit zvýšením rizika vzniku neurotických poruch a zvýšením krevního tlaku. Kadmium ovlivňuje agregační aktivitu trombocytů, prostacyklinu v endoteliálních buňkách, stimuluje proteinkinázu C a fosfodiaforázy. Kadmium také narušuje antioxidační ochranu organismu (inhibice superoxiddismutázy). Mezi další takové těžké kovy patří rtuť. Je známo, že kovová rtuť je prakticky netoxická, ale její organické formy jsou velmi jedovaté. Při otravě ryb v japonském zálivu Minamata a následné otravě lidí zemřelo 71 osob.

Tabulka 1 – Přehled vybraných esenciálních těžkých kovů a jejich význam v organismech

Kov	Protein
Zinek	Je známo asi 200 proteinů, z toho tvoří převážnou část enzymy jako jsou karboxypeptidasy, alkalické fosfatasy, anhydrasy nebo aminopeptidasy. Deficience: malý vzrůst, špatná hojitelnost ran
Měď	Enzym tyrosinasa, dále ceruloplasmin, monoaminoxidasa, superoxiddismutasa a cytochromoxidasa. Deficience: hypercholesterolemie, leukopenie, demineralizace kostí, anemie, Menkeho syndrom Toxicita: Wilsonova choroba - dysartrie, dysfagie, celková rigidita a tremor
Chrom	Cr^{3+} může být vázáno transferinem, v případě iontu Cr^{6+} dochází k redukci na trojmocnou formu v červených krvinkách.
Ostatní	Selen váže glutathionperoxidasa. Železo je obsaženo v molekulách hemoglobinu, myoglobinu, cytochromu a také ferritinu či transferrinu. Mangan ovlivňuje redoxní procesy.

Esenciální těžké kovy

Mezi esenciální těžké kovy zpravidla řadíme železo, měď, zinek, selen, chrom a mangan. V případě vyššího příjmu esenciálních těžkých kovů se výrazně zvyšuje riziko vzniku volných kyslíkových radikálů. Tuto okolnost zdůrazňujeme proto, že vyšší příjem esenciálních těžkých kovů zlepší aktivitu organismu. Řada vědeckých pracovišť se zabývá hodnocením hranice esenciality a toxicity těžkých kovů.

Řízení hladiny iontů kovů

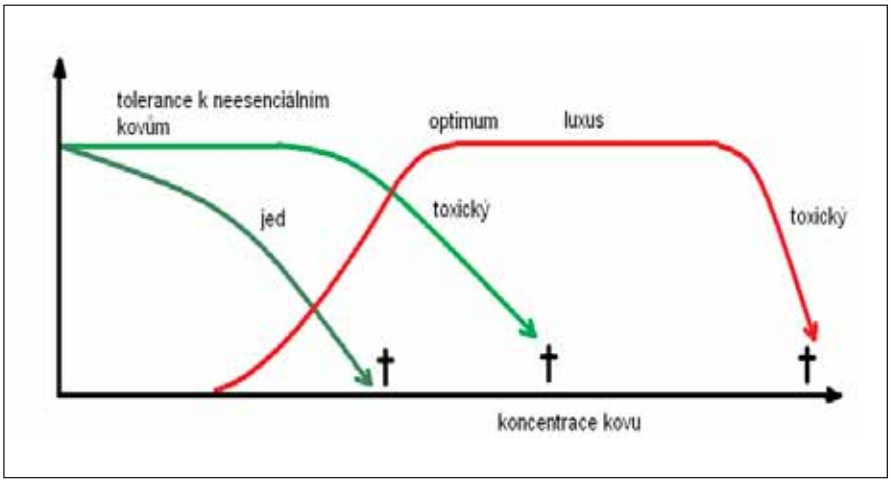
Rovnováha iontů těžkých kovů vstupujících do organismů je ovlivněna především koncentrací těžkých kovů v tělních tekutinách. Změny koncentrace těžkýcch kovů v tělních tekutinách souvisí s jejich vylučováním především ledvinami a případně změnou v resorpci sliznicí střeva. Bohužel je stále velmi málo známo o mechanismech regulace hladiny jak v ledvinách, tak ve střevu. Navíc je zřejmé, že na udržení této rovnováhy prostřednictvím hospodaření s elektrolyty a vodou, se podílí hormony. Především se této hormonální regulace účastní mineralokortikoidy. V současné době není vůbec jasné, jak do tohoto procesu vstupují peptidy a proteiny schopné vázat těžký kov.

Známé proteinové přenašeče kovů

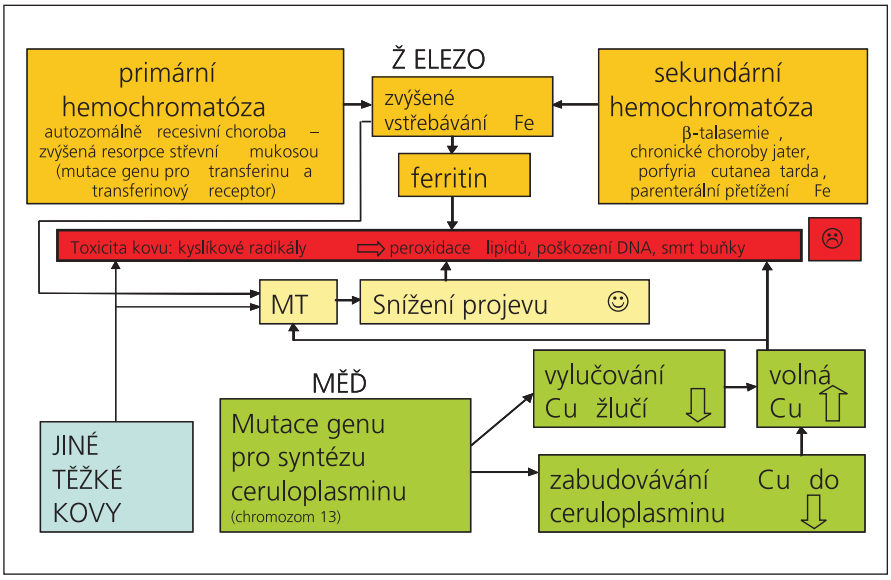
Je známa interakce iontů kovů s albuminem (pravděpodobně dochází k nespecifickým reakcím), ale také s celou skupinou proteinů vázající specificky pouze jeden kov (ferritin váže železo, ceruloplazmin váže měď). Hlavním transportérem železa je plazmatický protein **transferrin**, který dvěma vazebnými místy váže kov v trojmocné podobě. Tento protein předává železo **ferritinu**, který jej v organismu skladuje. Mutace v genu pro tyto specifické proteiny vede k závažným metabolickým poruchám. Například primární hemochromatóza (HHC) je dědičná, autosomálně recesivní porucha metabolismu železa (gen byl lokalizován na krátkém raménku chromozomu 6p21.3).

Z dosud poznaných 37 alelických variant *HFE* genu jsou s HHC významně asociovány dvě: C282Y a H63D. Mutace **C282Y** vzniká záměnou guaninu za adenin v pozici 845. Výsledkem je náhrada aminokyseliny (AMK) cysteinu za tyrosin v pozici 282 proteinu.

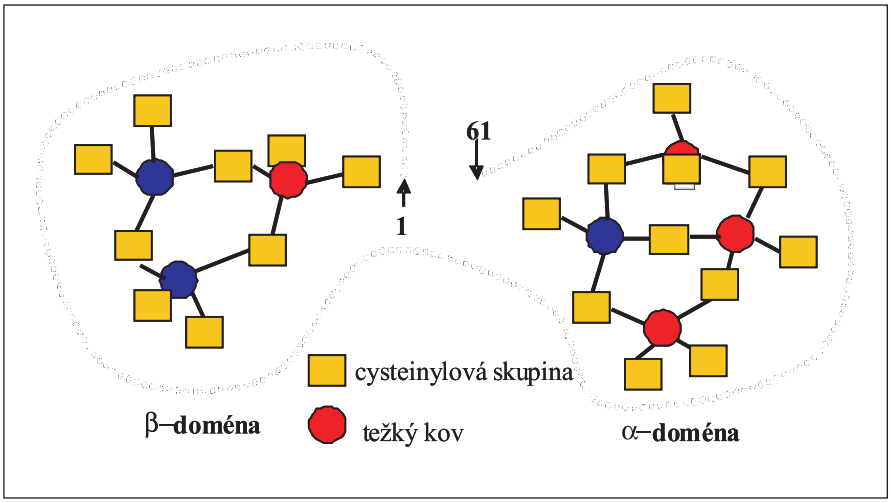
H63D mutace vzniká záměnou cytosinu za guanin v pozici 187. Výsledkem je náhrada histidinu za aspartát v pozici 63 proteinu. Nefunkční protein vede k akumulaci železa v játrech, pankreatu, srdci, kloubech a hypofýze. Neléčená HHC může končit fatálně cirhózou, primárním hepatomem, diabetem nebo kardiomyopathií. Vyskytují se i sekundární hemochromatózy, které vznikají poruchami zužitkování železa při plně funkčním proteinu. Mezi ně patří zvýšené vstřebávání Fe při poruchách erytropoézy (β-talasemii a sideroblastické anemii), při jaterních chorobách (alkoho-



Obr. 1 – Na organismy působí ionty kovů – 1. toxicky (takové látky označujeme jako jedy). Již velmi nízká koncentrace vyvolá závažnou, většinou nevratnou negativní metabolickou změnu, která vede ke smrti organismu (tmavě zelená). 2. chronicky (světle zelená). Méně toxické ionty kovů vyvolávají v organismech závažné negativní metabolické změny (nemusí končit smrtí organismu). U iontů kovů, které jsou potřebné pro organismus (esenciální), pozorujeme nejdříve pozitivní zvyšování metabolické aktivity, až do koncentrace optima. Při dalším zvyšování koncentrace kovu nedochází ke změně metabolické aktivity (fáze nadbytku – luxusu). V určité koncentraci kovu však dochází k prudké negativní metabolické aktivitě (červená).



Obr. 2 – Schéma proteinové regulace esenciálních těžkých kovů na buněčné úrovni, pravděpodobný vliv metalothioneinu



Obr. 3 – Schéma předpokládané struktury metalothioneinu

lická cirhóza), ale rovněž při nadměrném příjmu Fe (obr. 2).

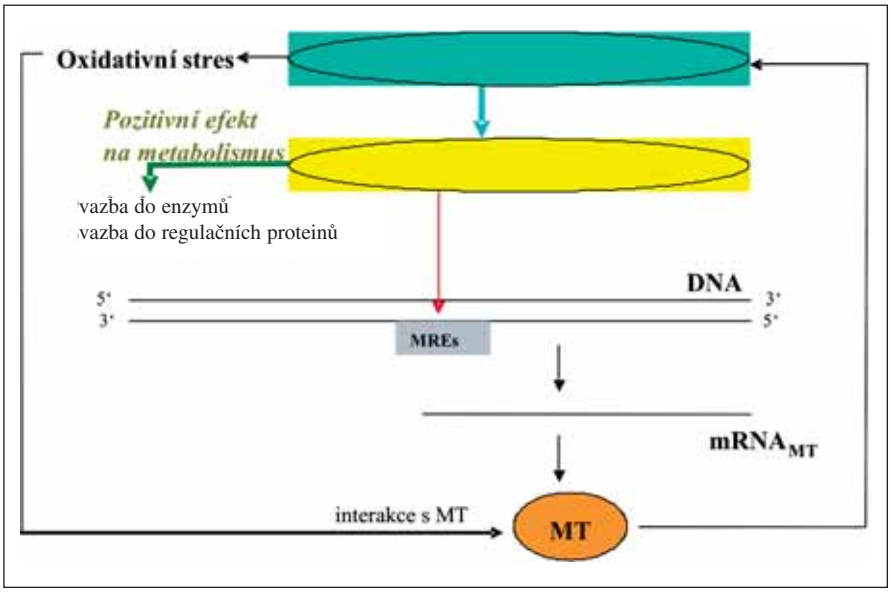
Hlavním proteinem pro transport a ukládání mědi je **ceruloplazmin**, který přenáší v cytoplazmě asi 90 % mědi, vykazuje oxidázovou aktivitu a podílí se také na vylučování mědi z organismu. Při poškození genu pro jeho syntézu na dlouhém raménku chromozomu 13. dochází ke zhoršení zabudování mědi do struktury ceruloplazminu a ke snižování vylučování mědi žlučí. Roste tak koncentrace volné mědi v játrech a vzniká Wilsonova choroba, jejíž projevy připomínají chronickou hepatitidu, cirhózu, ale i akutní selhání jater.

Metalothionein – univerzální přenašeč iontů kovů

Metalothionieny jsou charakteristické jak svým unikátním obsahem iontů kovů, tak obsahem síry. Je známa různá afinita k jednotlivým iontům kovů, a ty mohou představovat až 20 % hmotnosti MT. Savčí formy MT jsou charakteristické molekulovou hmotností v rozmezí 6 až 7 kDa. Většinou obsahují 60 až 68 aminokyselinových zbytků. V centrální části, většinou s dvaceti **cysteiny**, a celkovou vazbou sedmi jednomocných nebo dvoumocných iontů kovů. Aromatické kyseliny obyčejně chybí. Všechny cysteiny jsou v redukované podobě a jsou koordinované s ionty kovu, a vytvářejí tak metal-thiolátové klastery. Prostorová struktura byla odvozena na základě 2D NMR spektroskopie a rentgenové krystalografie. Ačkoliv aminokyselinové sekvence u různých druhů mohou být rozdílné, jejich prostorové uspořádání je však velmi podobné. Všechny MT mají krátký lineární úsek, na který jsou vázány dvě separátní proteinové domény. Domény obsahují klastery s vysokou afinitou ke kovům (minerálům). Kovy jsou vázány do společných tetrahedrálních Me (II)-Cys jednotek. Do této vazby jsou zapojeny všechny cysteiny přítomné v doménách (obr. 3).

Metalothioneiny se vyskytují skrz celou živočišnou říši a jsou také známé z vyšších rostlin, eukaryotických mikroorganismů a řady prokaryot. U živočichů je jejich výskyt pozorován především v tkáních jako jsou játra, ledviny, slinivka a střevo. Jsou pozorovány značné rozdíly v koncentraci MT v závislosti na různém druhu, tkáni, stádium vývoje, potravních zvyklostech a dalších dosud ne zcela známých a identifikovaných faktorech. Ačkoliv je MT cytoplazmatický protein, může být akumulován v lyzosomech a v průběhu vývoje být pozorován v jádře.

Na DNA se nachází regulační oblast označená jako "metal responsive element (MRE)". MRE odpovídá za vazbu transkripčního aktivačního faktoru (MTF-1) regulujícího MT-genovou expresi. Na schématu 4 je ukázána možná role MT při aplikaci minerálních látek do krmiva zvířat. Ionty minerálních prvků jsou pravděpodobně začleněny do aktivních center enzymů, váží se do regulačních proteinů, a tak pozitivně působí na celkový stav zvířete. Hladinu těchto látek však může výrazným způsobem ovlivnit zvýšená syntéza MT. Ten následně vyváže jednotlivé ionty, které mohou být z organismu vyloučeny. Je tedy na zváženou, zda je přidávání esenciálních kovů do krmiva ve zvýšené koncentraci žádoucí a ekonomické.



Obr. 4 – Schéma možné regulace iontů těžkých kovů (minerální složky krmiva)

Literatura

R. Kizek, 21. století 3 (2006) 93. Další literatura je k dispozici u autorů.

Tento příspěvek byl prezentován na konferenci Výživa zvířat – Proteiny 2006. Příspěvek vznikl za podpory GA ČR 525/04/P132 a Výzkumného záměru MŠMT 6215712402.

Bc. Ondřej Blaštík[1], Mgr.Vojtěch Adam[1], Doc. RNDr. Miroslava Beklová[2], CSc., Doc. Ing. René Kizek[1], Ph.D.
[1]Ústav chemie a biochemie, MZLU v Brně
[2]Ústav veterinární ekologie a ochrany životního prostředí, VFU Brno

Přísun mléka zvyšuje odstavovou hmotnost

L-karnitin je důležitá látka pro energetický metabolizmus a proto se stále více používá ve výživě prasnic. Dr. Weber z Výzkumného centra pro chov zvířat v německém Idenu popisuje zkušenosti s použitím tohoto vitamínu u prasnic a s jeho vlivem na početnost a hmotnost vrhů v německých podmínkách.

Je zřejmé, že biologický vývoj v plodnosti prasnic udělal v posledních letech znatelné pokroky. Vzrostl nejen počet narozených nebo odstavených selat na prasnici a rok, ale také se zvýšila tolik potřebná mléčnost prasnic. Jestliže průměrná mléčnost prasnice byla před 20 lety 6 až 8 litrů denně, dnes se nachází na úrovni 10 až 12 litrů. Ve standardně vybalancované krmné dávce pro takováto zvířata je však vhodné se zaměřit i na detaily, které jsou adekvátní úrovni výživy moderních genotypů prasnic. Tím je i L-karnitin, jehož potřebu v krmných směsí pro prasnice dnes potvrzuje nejen věda, ale i praktičtí výživáři.

Důležitý pro metabolizmus

V lidské výživě se L-karnitin používá již přes deset let ve vrcholovém sportu,

Obsahy L-karnitinu v různých krmných surovinách

Surovina	Obsah L-karnitinu (mg/kg)
pšenice	5
ječmen	10
kukuřice	5
sójový šrot	20
rybí moučka	120
syrovátka	500