

Metallotiyoninlerin Histofizyolojik Önemi

Nejdet ŞİMŞEK^{1*} Belma ALABAY²

¹ Atatürk Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Ilıca/Erzurum

² Ankara Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji Embriyoloji Anabilim Dalı, Dışkapı/Ankara

* e-posta: nsimsek-58@hotmail.com

Özet: Metallotiyoninler (MT) düşük molekül ağırlıklı (6000-7000 Da), 20 sistein molekülü içeren 61 amino asitli hücre içi proteinlerdir. MT proteini çinko, bakır, kadmiyum, civa, kurşun gibi metalleri bağlama yeteneğine sahiptir. Bu proteinler akciğer, böbrek, pankreas ve karaciğerin paransimal hücrelerinde, barsakların epitellerinde, sertoli hücrelerinde, timulin içeren timus epitel hücrelerinde, germinatif hücrelerde, miyoepitel hücrelerinde normal olarak bol miktarda bulunmaktadır. MT'lerin önemi; ağır metallerin ve iz elementlerin homeostazisinde, detoksifikasyonunda ve taşınmasında görev almaktadır. Ayrıca, MT'ler hem hücrelerin gelişmesinde hem de apoptozis ve nekrozis gibi hücre ölümleriyle de ilişkileri bulunmaktadır.

Anahtar kelimeler: Metallotiyoninler, ağır metaller, iz elementler

Histophysiological Importance of Metallothioneins

Summary: Metallothioneins (MTs) are a family of small (61 amino acids), cysteine-rich (20 residues) low-molecular-weight (6000–7000 Da) intracellular proteins. The MT proteins can be bound metal ions such as zinc, copper, cadmium, mercury, and lead. They are found in normal tissues such as myoepithelial cells, germinative cells, thymulin-containing thymic epithelial cells, Sertoli cells, epithelial cells of bowel, and parenchymal cells of liver, pancreas, kidney, and lung. Significant of the MTs are roles in heavy-metal homeostasis, detoxification, and transport such as Zn, Cu, Hg, Pb and Cd. Moreover, MTs are associated both cell proliferation and cell death such as necrosis and apoptosis

Key Word: Metallothioneins, heavy-metals, trace elements

GİRİŞ

Metallotiyoninler (MT), küçük molekül ağırlıklı (6000-7000 Da), 18-23 sisteinli, 61-68 aminoasitli (Coyle ve ark., 2002; Sozmen ve ark., 2005), sülfürden zengin, asidik pH'da metal bağlama yetenekleri artabilen, enzimatik olmayan, Zn, Cu ve Cd gibi ağır metallere affiniteli, hücre içi metal bağlayıcı proteinlerdir (Sanz-Nebot ve ark., 2003; Bay ve ark., 2006). Metallotiyoninler ilk defa Margoshes ve Vallee (1957) tarafından atların böbreklerindeki kadmiyum bağlayıcı protein olarak keşfedilmiştir. MT'lerin hayvanlarda, bitkilerde, bakterilerde ve mantarlarda değişik formları mevcuttur (Dameron ve Harrison, 1998). Genellikle primer biyolojik rollerinin yanısıra yüksek metal bağlayıcı ve redox yapma yeteneklerine sahiptirler. Bu proteinlerin yaşamsal rolü Cd, Hg gibi toksik metallerle, Cu ve Zn gibi iz elementleri bağlamasıdır. Çinkodan yoksun beslenmelerde, enfeksiyonlarda, yangıda, toksik metal alımında, oksijen radikalleri ve stress durumlarında (Coyle ve ark., 2002), Cu ve Zn gibi iz element homeostazisi ile Cd, Hg gibi ağır metallerin detoksifikasyonunda MT'lerin önemli rolleri olduğu belirlenmiştir (Kojima ve ark., 1999; Deng ve ark., 1999).

MT Çeşitleri ve Dokulardaki Dağılımı

MT'lerin memelilerde 15 farklı tipi bulunmaktadır. Bu farklılık sistein molekülünün biyokimyasal yerleşimine bağlı olarak oluşur ve her bir tip MT değişik metalleri bağlama yeteneğine sahiptir. MT'lerin 18 farklı metale

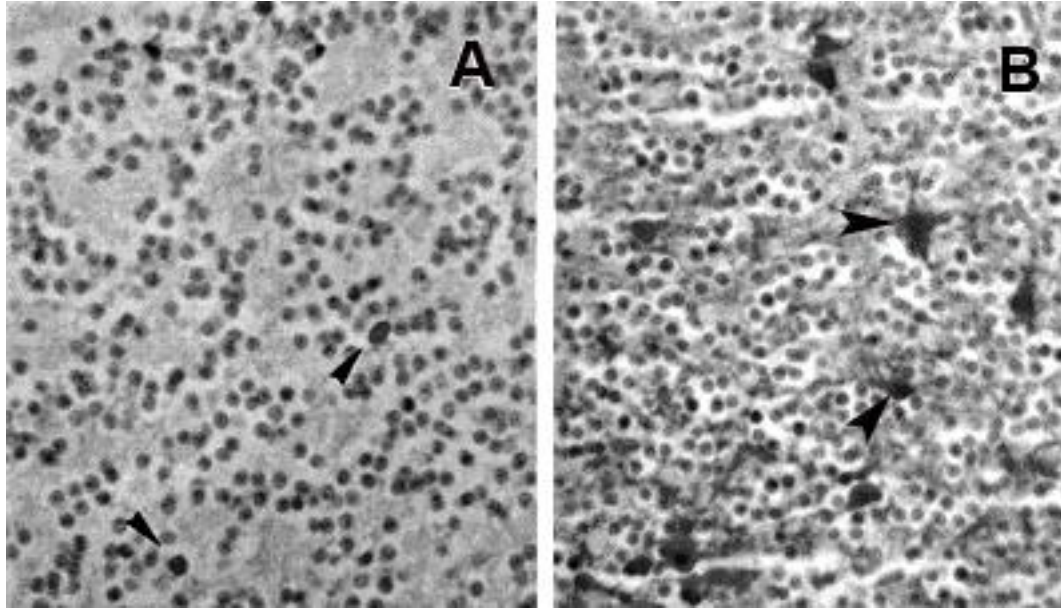
karşı affiniteleri olmakla birlikte Cu, Cd, Pb, Ag, Bi ve Zn'yi daha fazla bağlayabilmektedirler (Coyle ve ark., 2002). MT'ler 4 divalent metal bağlayıcı α (C terminal) zincirler ile, 3 divalent metal bağlayan β (N-terminal) zincirlerine sahiptir (Coyle ve ark., 2002; Sanz-Nebot ve ark., 2003). β zincirler Cd, Zn ve Cu gibi elementleri daha hızlı bağlayabilirken, α zincirler diğer elementlerin bağlanmalarında görev almaktadırlar (Coyle ve ark., 2002; Bay ve ark., 2006; El Ghazi ve ark., 2006). Memelilerde MT'ler genel olarak MT-1, 2, 3 ve 4 proteinleri olarak adlandırılırken (El Ghazi ve ark., 2006), insanlarda 10-17 MT geninin varlığından da bahsedilmektedir. İnsanlardaki MT'ler; hMT-1 (hMT-1 a, b, e, f, g, h, x), hMT-2 (hMT2a), hMT3 ve hMT4 formları olarak isimlendirilmektedir (Ebert ve ark., 2000). Metallotiyoninler vücutta pankreas, barsak, böbrek ve karaciğerde çok yoğun olarak bulunmaktadır (Tomita, 2000). Pankreastaki MT miktarı % 100 kabul edildiğinde karaciğer, ince barsak ve böbreklerde sırasıyla % 42, 30 ve 16 oranlarında yer almaktadır (McCormick, 1984). Genel olarak MT'lerin fizikokimyasal özellikleri aynı olmakla birlikte biyolojik fonksiyonları farklılık göstermektedir. MT-1 metallerin detoksifikasyonunda etkili iken, MT-2 daha çok hücre metabolizması üzerinde etkilidir. MT-1 ve 2 en çok pankreas, karaciğer, barsak ve böbreklerde olmak üzere vücutta bir çok organda geniş dağılım göstermektedir (Minami ve

ark., 2002). MT-1'in MT-2 ye göre birçok organda daha fazla bulunduğu da bildirilmektedir (Ohly ve ark., 2000). Başlıca beyinde yer alan ve sinir sistemi için özelleşmiş olan MT-3; testis, prostat, epididimis, dil, ovaryum, mide ve kalp gibi dokularda az da olsa bulunmaktadır (Coyle ve ark., 2002). MT-3; MT-1 ve 2 den 7 amino asit daha fazladır, ancak ağır metallere karşı bağlanma hızı daha yavaştır. MT-4; dil ve deri gibi organlarda, çok katlı yassı epitelin stratum korneum katmanında (Kojima ve ark., 1999) ve maternal decidualarda bulunmaktadır (Coyle ve ark., 2002). MT-3 beyin dokusunda growth inhibitory factor (GIF) olarak adlandırıldığı ve bu proteinin nöronal bozukluklarda (Alzheimer hastalığı gibi) %30 azalarak nöronal büyümeyi inhibe ettiği bildirilmektedir (El Ghazi ve ark., 2006).

Dokularda MT'lerin Tespit Yöntemleri

Metallotiyoninlerin histolojik olarak tespitinde bilinen immunhistokimyasal yöntemler

kullanılarak bu proteini içeren hücreler belirlenebilir (Şekil 1) (Zambenedetti ve ark., 1998; Deng ve ark., 1999; Tomita ve Matsubara, 2000). MT'ler dokularda gümüş doyurma (Solis ve ark., 2000) ve kadmiyum-hemoglobin affinite ölçüm metodları ile tespit edilebilmektedir (Zhou ve ark., 2002). MT-1 ve MT-2 iyon değiştirme kromatografi, yüksek performanslı likid kromatografi (HPLC), kapillar zone elektroforez (CZE) yöntemleriyle ayrıldıktan sonra atomik absorpsiyon spektrometre (AAS), kütle spektrometre (MS) ya da UV absorpsiyon yöntemleriyle de isimlendirilebilmektedir. Ayrıca ELISA yöntemiyle de belirlenebilmelerine rağmen henüz yaygın olarak kullanılmamaktadır. CZE; tespit yöntemi hızlı analiz (15 dakika), küçük örnek, aşırı duyarlılık, yüksek rezolüsyon gücü gibi avantajları nedeniyle çok tercih edilen bir metot olarak kullanılmaktadır (Minami ve ark., 2002).



Şekil 1: Beyin dokusunda MT I-II immun-pozitif astroisitler (ok başları).A: Kontrol ve B: Alzheimer hastalıklı grup (Zambenedetti ve ark., 1998).

MT'lerin Görevleri ve Bazı Organlardaki Dağılımı

Görevleri: Bakır, molibden, çinko gibi esansiyel metaller ile kadmiyum, civa, kurşun gibi esansiyel olmayan elementlerin organ, doku ve hücrelerde aşırı miktarda birikmesi toksikasyona sebep olmaktadır. Bu toksikasyonun önlenmesinde enzimatik düzeyde, translokasyon ve transkripsiyon aşamalarında metal bağlayıcı protein olan MT'lerin devreye girmeleri ile (Dameron ve Harrison, 1998) Zn ve Cu regüle edilmekte, Cd, Hg ve Pb gibi ağır metaller zararsız hale getirilmektedir (Brüwer ve ark., 2001).

Çinko canlılar için esansiyel iz elementlerin başında gelir. Protein sentezi, karbonhidrat ve enerji metabolizması, DNA ve RNA sentezi gibi önemli fonksiyonlara katılan çinko; birçok

enzimin, metallotiyoninlerin, interleukinlerin ve bazı hormonların biyolojik fonksiyonları için esansiyel niteliktedir. Özellikle Cd gibi ağır metallerin toksik etkilerine karşı engelleyici etkileri bulunan çinko, metallotiyoninler için de primer indükleyici bir elementtir (Horky ve ark., 2002). Her MT molekülü 7 Zn atomunu bağlayabilir (Davis ve Cousins, 2000). Yapısal ve katalitik 300'ün üzerinde enzim vasıtasıyla çinkonun intrasellular bağlanmasını sağlayarak metabolik regülasyonda görev alırlar (Coyle ve ark., 2002). Çinko depolayan ve MT'ler ile çok sıkı ilişkili olan intrasellular veziküller zincosome olarak adlandırılmaktadır. Bu veziküllerin hücrelerde taşınmasını sağlayan çinko transport (ZnT-1, 2, 3 ve 4) olarak adlandırılan proteinlerden özellikle ZnT-3 nöronlarda, ZnT-4 ise meme bezlerinde bulunur (Beyersmann, 2002).

T hücre fonksiyonlarında, doğal öldürücü hücre (natural killer cell -NK) aktivitesinde, interleukin (IL)-2 üretiminde çinkonun kullanılabilirliğine bağlı olarak MT'lerin rolü artmaktadır (Mocchegiani ve ark., 1997; Fleet ve ark., 1988).

Gastrointestinal kanaldan ve akciğerlerden emilebilen Cd, başlıca böbreklerde ve karaciğerde birikir. Bu metalin thiol gruplarına karşı affinitesi oldukça fazla olup detoksifikasyonunda ve taşınmasında MT ve glutathione gibi proteinler önemli rol oynamaktadır. Diyetlerde Ca azalması ve Zn'nun artması, Cd emilimini artırır. Bu emilimde Cd'un çoğu yüksek molekül ağırlıklı proteinlere bağlanarak, az bir miktarı da küçük molekül ağırlıklı olan MT ve diğer proteinlere bağlanarak taşınmaktadır (Swiergosz-Kowalewska, 2001). Cd'un çok az miktarı karaciğer ve böbreklerden MT gibi proteinlere bağlanarak atılabilir. Geriye kalan önemli miktar ise yaklaşık 10 yıl kadar vücutta kalabilmektedir. Organizmada Zn'nun yetersizliği Cd toksikasyonu riskinin artmasına neden olmaktadır (Onosaka ve ark., 2002). Barsaklardaki Cd konsantrasyonu karaciğer ve böbreklerdenkinden daha fazladır. Barsaklarda genellikle proksimal kısımlarda, böbreklerde ise medulladan daha çok kortekste birikim olmaktadır. Kortekste tubulus proksimalislerde daha fazla biriken Cd buralarda MT miktarının artmasına neden olmaktadır. Cd gastrointestinal kanaldaki Ca emilimini azaltarak kemiklerde dekalsifikasyona, kemiklerde ise Cd birikmesi kalsifikasyonu engelleyici etkiler oluşturmaktadır. Cd'a karşı antagonist etkili elementlerden olan Cu, Zn ve Fe karaciğer ve böbrekte MT sentezinin artmasına neden olarak Cd toksisitesini azaltmaktadır (Swiergosz-Kowalewska, 2001).

Hızlı üreyen hücrelerin hem çekirdeklerinde hem de sitoplazmasında MT artışı olmaktadır. MT'lerin çekirdekte artmasının sebebi henüz bilinmemekle birlikte oksidatif zararlardan DNA'yı koruyup olabileceği ya da bağlayacağı Zn molekülleriyle transkripsiyon faktörlerini ve kritik öneme sahip enzimleri regüle edebileceği bildirilmektedir. Hücre siklusuna önemli katkıları bulunan MT'ler, G₀ (G: growth- büyüme fazı) fazında bazal miktarda, G₁ geç dönemlerinde ve G₁ / S (synthesis-sentez fazı) geçiş döneminde bol miktarda bulunur. Ayrıca maksimum çekirdek büyümesi sırasında bazal miktarın 2-3 katına kadar çıkarken, S ve G₂ fazında ise bulunmamaktadır (Coyle ve ark., 2002). Hücre proliferasyonunu kolaylaştırdığı, göğüs kanserlerinde arttığı ve apoptozisin kontrolünde de görev aldığı bildirilmektedir (Bay ve ark., 2006). MT-1 ve 2 geni çıkartılmış (MT negatif) canlılarda hücre ölümünü etkileyen Bax ve tümör baskılayıcı protein olan p53 düzeyleri MT pozitif canlılardaki hücrelerden daha fazla düzeydedir. Lösemili çocukların periferik kanında, insanlarda karaciğer tümörlerinde ve laringeal hiperplastik lezyonlarda MT miktarının artışı apoptotik hücrelerde azalmaya neden olurken, MT'nin

miktarının azalmasıyla hücrelerdeki apoptozisin artışı arasında bir doğru orantının bulunduğu bildirilmektedir (Coyle ve ark., 2002). Enfeksiyonlarda, yaralanmalarda ve yangısal olaylarda uyarılan MT'ler sitokrom C aracılığıyla caspas 3 aktivasyonunu inhibe ederek apoptozisi azaltmaktadır (Beyersmann, 2002). Farelerde CCl₄, parasetamol, kemoterapi, U.V ışınların zararlarına karşı MT'nin antioksidant özelliğe sahip olduğu (Coyle ve ark., 2002), bu protein artışının göğüs kanserinin prognostik teşhisinde önemli kriterlerden olduğu da bildirilmektedir (Bay ve ark., 2006).

MT sentezini uyanan metaller organlarda farklı reaksiyon oluşturmaktadır. Kadmiyum karaciğerde, çinko ise pankreasta MT sentezinin artmasına neden olmaktadır (Solis ve ark., 2000). İnterleukinler, hidrojen peroksit, glukokortikoidler, glukagon, kateşolaminler, TNF- α , gamma interferonlar ve yangısal faktörler MT sentezinin artmasına direkt etkili olurken (Coyle ve ark., 2002), Fe ve dektran türevleri indirekt olarak etkilerini gösterirler (Fleet ve ark., 1988).

Karaciğerde Metalloiyonlar: Karaciğer MT'lerin en fazla olduğu organlardan biridir. İz element ya da ağır metallerin bu organda detoksifiye edilmesi açısından MT'lerin rol aldıkları organ olarak önem kazanmıştır. Karaciğerin savunmasında antioksidantlar, α -tokoferoller ve glutathione aktif rol oynamaktadır. Glutathione yapısına benzeyen ve potansiyel bir antioksidant olan MT karaciğer epitel hücrelerinin korunmasında önemli bir yer tutar (Zhou ve ark., 2002). Karaciğerdeki MT sentezi metallerin sayısı ile ilgili olduğu kadar, stres, hormon ve sitokinlerin oranına da bağlıdır (Coyle ve ark., 2002; Sozmen ve ark., 2005). Karaciğer karbonhidrat metabolizması MT oranlarıyla değişebilmektedir. Glukagon, IL-1, cAMP ve çoğunlukla plazma, kemik iliği ve hepatositlerde çinko konsantrasyonunun artması karaciğer MT-mRNA miktarının artmasına neden olmaktadır (Davis ve Cousins, 2000). Karaciğerde Cd'a bağlı olarak interlobuler ven ve merkezi vena etrafında MT sentezinin arttığı da bildirilmektedir (Swiergosz-Kowalewska, 2001). Hepatik MT'ler türlerde değişik oranlardadır. İnsan, keçi, köpek, kedi ve domuzlarda 400-700 μ g/g iken maymun, sığır ve koyunda 200 μ g/g, tavşan ve rodentlerde 2-10 μ g/g civarında MT bulunmaktadır (Coyle ve ark., 2002). Alkol kullanımı vücutta süperoksit, hidroksil radikal, hidrojen peroksit gibi oksijen serbest radikallerin ortaya çıkmasına neden olur. Kronik alkol alımının sebep olduğu makroveziküler steatozis (yağlı dejenerasyon), yangı ve nekroz hepatosit mitokondriyonlarında ve granülsüz endoplazmik retikulumunda fonksiyonel ve morfolojik değişiklikler oluşturmaktadır. MT'ler prooksidant-antioksidant oranındaki değişiklikler sonucu ortaya çıkan oksidantların etkilerini ortadan kaldırarak lipid

peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve oksidatif stres sonucu ortaya çıkacak fonksiyon bozukluklarını inhibe etmektedir (Zhou ve ark., 2002). Azoxymethane kullanılan farelerin karaciğer ve böbreklerde meydana gelen vena sentralis ve böbrek korteksinde özellikle distal tubuller ve henle kanallarında meydana gelen dejeneratif bozukluklarda MT sentezi kefir ve vitamin C tarafından artırılarak lezyonların şiddetinin azaltılabileceği bildirilmektedir (Sozmen ve ark., 2005). Morfolojik anormal karaciğer bozukluklarında karaciğerde Cu ve MT seviyelerinin artışıyla birlikte bakır tuzlarında bulunan hidrojen peroksit lipid, protein ve nükleik asitlere zarar vermektedir. Cu II içeren DNA zararlarına karşı Zn-MT kompleksi devreye girerek etkilerini azaltmaktadır. Karaciğerde biriken Cu bütün lizozomal enzimleri inhibe ederek, karaciğer Cu oranının yükselmesine ve Wilson hastalığının ortaya çıkmasına neden olmaktadır. MT'lerin yetersizliği çinkonun da kullanılabilirliğini azalttığı için dejenerasyonların önüne geçilememektedir (Hahn ve ark., 2001).

Pankreasta Metalloiyonlar: Pankreas ve safra salgılarında bol miktarda Zn ve MT bulunmaktadır (Kim ve ark., 2000). Hem ekzokrin pankreasta hem de endokrin pankreasta üretilen MT'ler (Minami ve ark., 1999) çinko tuzları ile bağlı halde bulunurlar (Ohly ve ark., 2000). Çinko, Langerhans adacıklarındaki hücrelerin yaşamsal faaliyetleri için gerekli bir elementtir. Pankreastaki beta hücrelerinin çok miktarda çinko içermesi insülin hormonunun salgılanmasını, depolanmasını ve biyosentezinin gerçekleşmesini sağlamaktadır. Çinkodan zengin beslenmelerde pankreas adacıklarında MT üretimi artarak beta hücrelerindeki fonksiyon bozukluklarının engellenmesi sağlanmaktadır (Kim ve ark., 2000). Aşırı çinkolu beslenmelerde MT-1 ve 2 çinkonun toksik etkilerine karşı da pankreası koruyabilmektedir. Ancak normalde nöronlarda bulunan MT-3'lerin pankreasta artması durumunda pankreatik nekrozis oluşur (Coyle ve ark., 2002). Pankreasın endokrin neoplazmalarında, insülinomalarda, glukonomalarda, pankreatik polipeptide-omalarda çinko ile MT arasında bir zincirin olduğu bildirilmektedir (Tomita, 2000). Genetik olarak diyabete predispose rodentlerde çinkolu beslenmelerin ekzokrin ve endokrin pankreasta bulunan MT'leri artırarak diyabetik ilaçların ortaya çıkardığı hidroksil zararlarına ve dokudaki yaralanmalara karşı koruyucu etki gösterebileceği bildirilmektedir (Yang ve Cherrian, 1994; Minami ve ark., 1999; Ohly ve ark., 2000). Çinko viral ve bakteriyel hastalıklar sırasında da beta hücrelerindeki MT'ler ile bir kompleks yaparak oksijen serbest radikallerin zararlarına karşı bu hücrelerin korunmasını sağlamaktadır (Sprietsma ve Schuitemaker, 1994).

Merkezi Sinir Sisteminde Metalloiyonlar: Merkezi sinir sistemi dokularında aktivite gösteren MT'lerin beyin için

spesifik formu MT-3 olmakla birlikte MT-1 ve 2'de sinir sisteminde bol miktarda bulunmaktadır. MT'ler sinir dokularında in-situ hibridizasyon (MT mRNA) ve immunhistokimyasal olarak (MT proteini) belirlenebilmektedir. MT-1, 2 ve 3 merkezi sinir sisteminin genel olarak aynı bölgelerinde bulunmalarına karşı hücresel dağılımları farklılık arz etmektedir (Coyle ve ark., 2002). MT-1 ve 2 hipotalamus, hipokampus ve serebral kortekste; ependimal hücrelerde, koroid pleksüs epitelinde, piamater ve astrositlerde, damarlar etrafında ve periventriküler alanlarda immunreaktif olarak bulunurlar. Buralara yerleşen MT'ler metallere karşı bariyer fonksiyonlarını yerine getirmektedir. MT-3, çinkodan zengin bölgeler olan hipokampus ve parahipokampusta daha fazla immunreaktivite göstermektedir (Kojima ve ark., 1999). MT-1, MT-3'e göre beyinde daha fazla bulunurken, MT-2, MT-3'e göre daha az yer almaktadır. Beyincikte MT-1 ve 2 yüksek miktarda iken MT-3 daha az miktarlarda bulunmaktadır. Ancak hipokampusta bu dağılım tersine seyretmektedir. Astrositlerde, nöronlarda ve vasküler endotel hücrelerinde MT konsantrasyonunun artması motor faaliyetlerinin artmasına neden olmaktadır (Coyle ve ark., 2002). MT'ler astrogliozisi ve bunların ürettiği neurotrofik growth faktörleri stimüle eder. Ayrıca beyinde myelinin önemli koruyucularındandır. Rejeneratif faktör olması nedeniyle yaralanmalar ve anjiyogeneziste beyinin yeniden neurorejenerasyonunda görev almaktadır. Beynin patofizyolojik durumlarında olduğu kadar normal fizyolojik fonksiyonları için de bu protein terapötik olarak kullanılmakta ve hatta beyin için esansiyel kabul edilmektedir (sinirsel travmalarda, dejenerasyonlarda, yangılarda, epilepside ve Alzheimer hastalığında) (Hahn ve ark., 2001). Çinko ve bakır beyinin normal fizyolojik fonksiyonları için gerekli iki elementtir. Bu metallerin gerektiği kadar beyinde tutulması ya da uzaklaştırılmasında MT'ler aktif rol almaktadır. Ayrıca Alzheimer hastalığına neden olan oksijen serbest radikallerin, hidroksil radikallerinin neden olduğu lipid peroksidasyonu sonucu hücre zarında meydana gelen yıkımların MT 1-2 tarafından önlenmektedir. Son yıllarda yapılan birçok çalışmada MT 3'ün bazı merkezi sinir sistemi hastalıklarında arttığı bazıları ise azaldığı (down sendromu, Parkinson hastalığı, meningitis azalabilir ya da artabilir) bu nedenle henüz fonksiyonlarının tartışmalı olduğu bildirilmesine rağmen MT-3 beyin dokusunda growth inhibitory factor (GIF) olarak adlandırılmaktadır. Bu proteinin nöronal bozukluklarda (Alzheimer hastalığı gibi) %30 azalarak nöronal büyümeyi inhibe ettiği (El Ghazi ve ark., 2006), MT 1 ve 2'nin amiloid tarafından oluşturulan stres faktörlerinde olduğu kadar astrositiozis ve mikroglioziste de miktarının arttığı, ancak MT 3'ün her hangi bir değişikliğe uğramadığı da vurgulanmaktadır (Şekil 1) (Zambenedetti ve ark., 1998; Hidalgo ve ark., 2006).

Barsaklarda Metalloiyonlar: MT'ler barsaklarda çinkonun emilimi ve salınımını regüle etmektedir. Barsaklardan çinko salınımının büyük miktarda azalmasına, karaciğerde çinkonun tutulmasına, vücuttan çinko kaybının önlenmesine ve alımının artmasına neden olmaktadır (Philcox ve ark., 2000). Barsak lumeninde yüksek konsantrasyonda çinkonun varlığı ve açlık mukozal hücrelerde MT sentezinin başlamasına sebep olur, ancak normal diyetle bulunan çinko MT sentezini etkilememektedir. Aşırı çinko içeren beslenmelerde MT çinko emilimini sınırlandırmakla birlikte çinko emilim ve konsantrasyonu normale göre daha yüksek miktardadır. Barsak duvarında çinko emilimi için gerekli olan MT miktarının ne kadar olacağı tartışmalıdır. MT'nin bazal düzeyi, taşıyıcı proteinler (ZnT_1 ile ZnT_4) aracılığıyla fazla çinkoyu ya da tamamının emilimini gerçekleştirerek ayarlanmaktadır. ZnT_1 dokularda geniş yayılım göstermekle birlikte, özellikle barsaklardaki mukozal ve yüzey epitel hücrelerinde bulunmaktadır (Coyle ve ark., 2002). Yangıya bağlı barsak hastalığı (IBD); periferik monosit ve barsak makrofajlarının serbest radikallerce zarar görmeleri sonucu ortaya çıkmaktadır. Barsak yaralanmaları sonucu ortaya çıkan oksijene bağlı serbest radikaller MT'ler tarafından önlenmesi açısından bu proteinlerin barsakların histolojik yapıları için ne kadar önemli olduğunu ortaya çıkarmaktadır. Ayrıca barsak kriplerindeki köken hücrelerin somatik mutasyonunda da önemli rol oynamaktadırlar (Brüwer ark., 2001).

Gebelikte Metalloiyonlar: Hem gebelik hem de postnatal dönem boyunca MT konsantrasyonu, dokularda mRNA düzeylerinin düşmesi ya da artmasına bağlı olarak şekillenmektedir. Farelerde gebelik süresince MT'ler hem embriyolarda hem de annede yüksek miktarlarda bulunmaktadır. Preimplantasyon döneminde embriyoda MT-1 ve MT-2 proteinleri bol iken fertilizasyon evresinde metal induksiyonunun olması blastosit aşamasındaki hücrede MT-1-mRNA'nın oluşmasını sağlamaktadır. Postimplantasyon aşamasındaki desidua hücrelerinde mRNA'ların sentezini sağlayan MT'lerin 4 farklı isoformu gebeliğin 10. gününde tespit edilebilmektedir. Placentada yükselmeye başlayan MT-1 ve 2 gebeliğin 16. gününde en üst düzeye çıkarken desidua hücrelerinde de azalmaya başlamaktadır. Aynı zamanda gebeliğin 12-16. günleri arasında hem maternal hem de fetal karaciğerde mRNA sentezleyen MT-1 ve 2 yüksek düzeyde bulunmaktadır. Prenatal 17. günde maksimum düzeye çıkan MT'ler, postnatal 12. günden sonra dereceli olarak azalmaya başlamaktadır. Prenatal dönemdeki fütüsün karaciğerinde 18. günde maternal seviyenin 4 ya da 5 katına yükselen karaciğer MT'leri, postnatal dönemde 4 haftalık iken düşmeye başlamaktadır. Prenatal dönemde

organların işlevsel önemi ve gelişmesi için esansiyel olan çinkonun maternal karaciğer ve plasentaya, fetal karaciğer ve diğer dokulara girmesi kolaylaşmaktadır. Buna zıt olarak Cd'un maternal olarak alınması durumunda bu toksik metalin plasentadan fütüse geçişini de engelleme yeteneğine sahip olan MT'ler; yavrunun yaşamsal faaliyetleri için tehlike arz eden metallere karşı bir bariyer işlevini yerine getirmektedir. Gebelik süresince anne ve yavrudaki çinko metabolizmasının dengede olması çok önemlidir. Ethanol, TNF- α , urethane, α -hederin, melphalan, 2 ethyl hexanol ve arsenik gibi geniş teratojenik özelliklere sahip maddeler organların oluşma döneminde anneden fütusa çinko geçiş metabolizmasının bozulmasına yol açmaktadırlar. Bu teratojenler MT sentezine neden olsa da zararlı etkilerin ortadan kaldırılması mümkün olmamaktadır (Coyle ve ark., 2002). Gebelik süresince yangı, steroid hormonlar, sitokinler özellikle interleukin 6 MT salınımını hızlandıran faktörlerdendir. Özellikle gebelikte diyetlerle verilen çinkonun artması hepatik MT artmasına neden olarak yavru ve annede oluşabilecek bozukluklar en aza indirilmektedir (Philcox ve ark.,2000).

Sonuç Olarak

Metalloiyonlar; endojen antioksidatif bir protein olması, proteinlerle redoks yapabilmesi ve metal bağlayıcı özellikleri nedeniyle biyosistemde önemli fonksiyonların yerine getirilmesini sağlamaktadır. Bu hücre içi proteinler;

1. MT'ler vücutta Zn ve Cu gibi iz elementlerin homeostazisi, Cd, Pb, Hg gibi ağır metallerin detoksifikasyonunda aktif görev almaktadırlar.

2. Çeşitli nedenlerle ortaya çıkan hidroksil radikaller ve oksijen serbest radikallerin oksidatif etkilerine karşı hücre yaralanmalarını önlemesi nedeniyle doğal anti-oksidatif proteinler olarak devreye girmektedirler.

3. Merkezi sinir sisteminde bol miktarda bulunan MT'ler; vücutta meydana gelecek iz element yetersizliklerinde ve ağır metal toksikasyonlarında, bu metallere kompleks oluşturarak beyinde bir bariyer görevi yaparlar.

4. Gebelik dönemlerinde; annede ve yavru iz element kullanılabilirliğinin artmasını ve ağır metallerin tutulmasını sağlayarak yavrunun normal gelişimini tamamlaması ve meydana gelecek teratojenik etkilerin en aza indirilmesini sağlamaktadırlar.

5. Hücre bölünmelerinde etkili olan Zn ve Cu gibi iz elementlerle kompleks yaparak hücre proliferasyonuna direkt olarak etkileri bulunmaktadır.

6. Histolojik ve patolojik dokularda programlanmış hücre ölümü olan apoptozisi kontrol altında tutmaktadırlar.

7. Beyin, pankreas, barsak, karaciğer ve böbrekte meydana gelen yangısal hastalıkların (Alzheimer, epilepsi, sclerozis, diyabet, IBD,

Wilson hastalığı gibi) birçoğunun önlenmesinde ve tedavisinde bu proteinin önemli derecede etkilerinin olduğu, bu nedenlerle birçok hastalıkla mücadelede ve metabolik faaliyetlerin sürmesinde bu proteinlerin kullanımının faydalı olacağı bildirilmektedir.

KAYNAKLAR

- Bay, B-H., Jin, R., Huang, J., Tan, P-H. (2006). Metallothionein as a Prognostic Biomarker in Breast Cancer. *Exp. Biol. Med.* 231, 1516–1521.
- Beyersmann, D. (2002). Homeostasis and Cellular Functions of Zinc, *Mat.-wiss. U. Werkstofftech.* 33, 764–769.
- Brüwer, M., Schmid, K.W., Metz, K.A., Krieglstein, C.F., Senninger, N., Schürmann, G. (2001). Increased Expression of Metallothionein in Inflammatory Bowel Disease, *Inflamm. res.* 50, 289–293.
- Coyle, P., Philcox, J.C., Careya, L.C., Rofea, A.M. (2002). Metallothionein: The Multipurpose Protein CMLS, *Cell. Mol. Life Sci.* 59, 627–647.
- Dameron, C.T., Harrison M.D. (1998 suppl). Mechanisms for Protection against Copper Toxicity 1–3 *Am.j.Clin Nutr* 67:1091S–7S.
- Davis, S.R., Cousins, R.J. (2000). Metallothionein Expression in Animals: A Physiological Perspective on Function, *J. Nutr.* 130: 1085–1088,
- Deng, D.X., Cai, L., Chakrabarti, S., Cherian, M.G. (1999). Increased Radiation-induced Apoptosis in Mouse Thymus in the Absence of Metallothionein, *Toxicology* 134, 39–49.
- Ebert, M.P.A., Guñther T., Hoffmann, J., Yu, J., Miehke, S., Schulz, H.U., Roessner, A., Korc, M., Malfertheiner, P. (2000). Expression of Metallothionein II in Intestinal Metaplasia, Dysplasia, and Gastric Cancer, *Cancer Research* 60, 1995–2001.
- Fleet, J.C., Qureshi, M.A., Dietert, R.R., McCormick, C.C. (1988). Tissue- Specific Accumulation of Metallothionein in Chickens as Influenced by the Route of Zinc, *J.Nutr.* 118: 176–182.
- El Ghazi, I. Martin, B. L., Armitage I.M.(2006). Metallothionein-3 Is a component of a Multiprotein Complex in the Mouse Brain. *Exp. Biol. Med.*, 231,1500–1506.
- Hahn, S.H., Yoo, O.J., Gahl, W.A. (2001). Effect of Metal Ions on the Stability of Metallothionein in the Degradation by Cellular Fractions in vitro Experimental and Molecular Medicine, 33, 32–36.
- Hidalgo, J., Penkowa, M., Espejo, C., Martí-Nez-Ca' Ceres, E.M. Carrasco, J., Quintana, A., Molinero, A., Florit, S., Giralt, M., Ortega-Aznar A. (2006). Expression of Metallothionein-I, -II, and -III in Alzheimer Disease and Animal Models of Neuroinflammation. *Exp. Biol. Med.*, 231,1450–1458.
- Horky, D., Lauschova, I., Illek, J., Pechova,A., Sindelar, M. (2002). Distribution of Exogenous Heavy Metals in the Hepatocytes of Calves: A Morphometric Study *Microscopy Research And Technique* 56, 451–453.
- Kim, B.J., Kim, Y.H., Kim, S., Kim, J.W., Koh, J.Y., Oh, S.H., Lee, M.K., Kim, K.W., Lee, M.S. (2000). Zinc as a paracrine Effector in Pancreatic Islet Cell Death, *Diabetes* 49, 367–372.
- Kojima, S., Shimada, A., Morita, T., Yamano, Y., Umemura, T (1999). Localization of Metallothioneins-I & -II and -III in the Brain of Aged Dog. *J. Vet. Med. Sci.* 61, 343–349.
- McCormick, C.C. (1984). Induction and Accumulation of Metallothionein in Liver and Pancreas of Chicks Given Oral Zinc: A Tissue Comparison. *J. Nutr.* 114, 191–203.
- Mocchegiani, E., Verbanac, D., Santarelli, L., Tibaldi, A., Muzzioli, M., Radosevic-Stasic, B., Milin, C. (1997). Zinc and Metallothioneins on Cellular Immune Effectiveness During Liver Regeneration in Young and Old Mice, *Life Sciences* 61, 1125–1145.
- Margoshes, M, Vallee, B. (1957). A cadmium protein from equine kidney cortex. *J Am. Chem. Soc.* 79, 4813–4814.
- Minami, T., Kubo, K., Ichida, S. (2002). Determination of Metallothionein-1 / Metallothionein-2 Ratios in the Mouse Liver and Pancreas by Capillary Zone Electrophoresis using a Polyacrylamide-coated Capillary at Neutral pH. *Journal of Chromatography B*, 779, 211–219.
- Minami, T., Shimizu, M., Tanaka, H., Okazaki, Y., Cherian, M.G. (1999). Metallothionein does not Protect Mouse Endocrine Cells from Damage Induced by Alloxan. *Injection Toxicology*, 132, 33–41.
- Onosaka, S., Tetsuchikawahara, N., Min, K-S. (2002). Paradigm Shift in Zinc: Metal Pathology. *Tohoku J. Exp. Med.* 196, 1–7.
- Ohly, P., Dohle, C., Abel, J., Seissler, J., Gleichmann, H. (2000). Zinc Sulphate Induces Metallothionein in Pancreatic Islets of mice and Protects Against Diabetes Induced by Multiple Low Doses of Streptozotocin. *Diabetologia*, 43, 1020–1030.
- Philcox, J.C., Sturkenboom, M., Coyle P., Rofe, A.M. (2000). Metallothionein in Mice Reduces Intestinal Zinc Loss during Acute Endotoxin Inflammation, but Not during Starvation or Dietary Zinc Restriction. *J. Nutr.* 130, 1901–1909.
- Sanz- Nebot, V., Andón, B., Barbosa, J.(2003). Characterization of metallothionein isoforms from rabbit liver by liquid chromatography coupled to electrospray mass spectrometry. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.* 796, 379–393.

- Solis-Heredia, M.J., Quintanilla-Vega, B., Sierra-Santoyo, A., Hernandez, J.M., Brambila, E., Cebrian, M.E., Albores, A. (2000). Chromium Increases Pancreatic Metallothionein in the Rat. *Toxicology*, 142, 111–117.
- Sozmen, M., Erginsoy, Sd., Cenesiz, S., Devrim, A.K. (2005). The Protective Effect of Kefir and Vitamin C on Azoxymethane Induced Toxicity and Induction of Metallothionein in Mice. *Scand. J. Lab. Anim. Sci.* 32, 211–220.
- Sprietsma, J.E., Schuitemaker, G.E. (1994). Diabetes can be Prevented by Reducing Insulin Production, *Med Hypotheses* 42, 15–23.
- Swiergosz-Kowalewska, R. (2001). Cadmium Distribution and Toxicity in Tissues of Small Rodents. *Microscopy Research and Technique* 55, 208–222.
- Tomita, T. (2000). Metallothionein in Pancreatic Endocrine Neoplasms. *Mod. Pathol.*, 13, 389–395.
- Tomita, T., Matsubara, O. (2000). Immunocytochemical Localization of Metallothionein in Human Pancreatic Islets. *Pancreas*, 20, 21–24.
- Yang, J., Cherian, M.G. (1994). Protective Effects of Metallothionein on Streptozotocin-induced Diabetes in Rats. *Life Sci.* 55, 43–51.
- Zambenedetti, P., Giordano, R., Zatta, P. (1998). Metallothioneins are Highly Expressed in Astrocytes and Microcapillaries in Alzheimer's Disease. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 15 (1998) 21-60
- Zhou, Z., Sun, X. and Kang, Y.J. (2002). Metallothionein Protection against Alcoholic Liver Injury through Inhibition of Oxidative Stres. *Exp. Biol. Med.*, 227, 214–222.