

*Teaduspreemia keemia ja molekulaarbioloogia  
alal tööde tsükli „Vase metabolism ja selle  
regulatsiooni võimalused“ eest*

Peep Palumaa



Foto: Birgit Püvi

## VASE METABOLISM JA SELLE REGULATSIOONI VÕIMALUSED

Vask on organismis asendamatu biometall, mis toimib redoksreaktsioonide katalüsaatorina paljudes olulistest biokeemilistest protsessidest. Kuigi vask on hädavajalik, võivad kontrollimatud vaskioonid tekitada reaktiivseid hapniku radikaale ja muutuda toksiliseks. Seetõttu on rakuline vase ainevahetus rangelt reguleeritud ning spetsiifilised valgud, mida nimetatakse vase šaperoonideks, osalevad rakuliste vase transporterite ja ensüümide metalleerimises. Rakulise vase jaotuse termodünaamiline taust on teada ning vaske suunatakse rakkudes sihtmolekulideni vastavalt laugetele afiinsusgradientidele. Vase ainevahetus on häiritud Wilsoni, Menkesi ja Alzheimeri tõve puhul, mida iseloomustab vastavalt vase liiasus, defitsiit ja valesti jaotus. Wilsoni ja Menkesi haigust saab ravida vastavalt vase kelaatorite ja toidulisanditega. Alzheimeri tõve puhul otsitakse endiselt tõhusaid molekulaarseid tööriistu vase ainevahetuse korrigeerimiseks. Üks looduslik vitamiinisarnane vaske siduv ühend –  $\alpha$ -lipoehape – on näidanud positiivseid tulemusi rakukultuurides ja Alzheimeri tõvega seotud puuviljakärbeste mudelites ning on paljutõotavaks kandidaadiks vase ainevahetuse reguleerimiseks Alzheimeri tõve puhul.

### Vask meie organismis

Elu toimimine sõltub ligikaudu 21 keemilisest elemendist. Nende hulgas on nii makro- kui ka mikroelemente, mille sisaldus organismis on alla 0,1%. Vaatamata ülimaldala sisaldusele on mikroelemendid eluks hädavajalikud ja elu keemias kasutatakse ära nende unikaalseid keemilisi omadusi.

Vaske (Cu) on keskmises inimorganismis ligikaudu 70 mg. Iga päev vajame toiduga vaid umbes üht milligrammi vaske. Vase puhul kasutab organism ära peamiselt tema redoksomadusi<sup>23</sup> ja võimet katalüüsida molekulaarse hapniku osalusel toimuvaid keemilisi reaktsioone. Molekulaarne hapnik –  $O_2$  – on kõigile aeroobsetele (hapnikku tarbivatele) organismidele ülioluline, kuna selle redutseerimise kaudu toodetakse eluks vajalikku energiat. Valguline kompleks,

<sup>23</sup> Ingliskeelse sõna *redox* eestikeelne toorvaste, mis hästi lühikeses vormis esitleb korraga kaht vastastikust keemilist protsessi: oksüdeerumist ehk elektronide loovutamist (kitsamas mõttes ka ühinemist hapnikuga) ja redutseerumist ehk elektronide endaga liitmist. Mõlemad protsessid on alati koos, kui üks ainetest oksüdeerub, siis teine redutseerub – toim.

milles toimub molekulaarse hapniku redutseerimine, on tsütokroom C oksüdaas (CCO),<sup>24</sup> mis korraldab nelja elektroni ning prootoni ülekannet molekulaarsele hapnikule. Protsessi tagajärjel tekib ohutu reaktsiooniprodukt – vesi. Selles elektronide ülekande reaktsioonis osalevad kolm CCO-ga seotud vaseiooni ja üks rauaioon. Koos tsingiga (Zn) osaleb vask Cu,Zn-superoksiiddismutaasi<sup>25</sup> (Cu,Zn-SOD) koostises rakkude kaitses kõrge reaktsioonivõimega superoksiidi radikaalide vastu.

Vask on vajalik ka sidekoe valkude elastiini ja kollageeni keemilises modifitseerimises, mida viib läbi lüsiini oksüdaas, juuste valgu keratiini ristsidemete formeerimisel sulfhüdruüli oksüdaasi toimel, pigment melaniini tootmisel türosinaasi abil ja raua ainevahetuses tseruloplasmiini (TP) abil. Ajus on vaskensüümidel oluline roll noradrenaliini ja neuropeptiidide sünteesis (dopamiini  $\beta$ -hüdrosülaas ja peptiidüülglytsiini  $\alpha$ -amideeriv monoooksügenaas). Vask osaleb ka närvikiudude müeliniseerumises, ööpäevase rütmi reguleerimises, vere hüübimises ja angiogeneesis. Kokku on vaske sisaldavaid ensüüme teada pisut üle 20.

Vaatamata sellele, et vask on oluline mikroelement, võib ta olla ka potentsiaalselt toksiline. Nimelt saavad „vabad“ või nõrgalt seotud vaskioonid vastastikmõjus hapniku metaboliitidega,<sup>26</sup> nagu vesinikperoksiid, tekitada reaktiivseid hapniku ühendeid, sealhulgas kõrge reaktsioonivõimega hüdrosüülradikaale. Hüdrosüülradikaalid võivad reageerida valimatult valkude, nukleiinhapete või lipiididega, põhjustades pöördumatuid kahjustusi. Potentsiaalse toksilisuse tõttu on vaseioonid bioloogilistes süsteemides rangelt kontrollitud. Selle eest kannavad hoolt vase transpordi valgud, rakusisesed vase saatjavalgud ehk šaperoonid, metallotioneiinid<sup>27</sup> ja veres leiduvad vaske siduvad valgud, nagu seerumi albumiin. Nende valkude kontrollitud sisalduse ja talitlustega tagatakse vase normaalne jaotus organismis. Nende valkude funktsioneerimise häired põhjustavad vase metabolismi muutusi, näiteks defitsiiti, liigset akumuleerumist või valesti jaotumist. Kuna vase puhul on tegu bioloogiliselt väga aktiivse elemendiga, siis kaasnevad tema metabolismi häiretega mitmesugused haigused (Balsano jt, 2018). Klassikalised vase liigse akumuleerumise ja defitsiidi näited on vastavalt Wilsoni (WT) ja Menkesi tõbi (MT). Vase valesti jaotumine on omane Alzheimeri tõvele (AT).

<sup>24</sup> Tsütokroomid on teatavad valkude kompleksid, mis osalevad rakkude hingamisahelas (ühes elektronide transpordiahelas), toimivad rakusiseste biokatalüsaatoritena, moodustavad kollaseid koepigmente ning redokssüsteeme. Oksüdaasid on ensüümid, mis katalüüsivad molekulaarse hapniku muundamist kas veeks või vesinikperoksiidiks (mida vanasti kutsuti vesinikülihappendiks) – toim.

<sup>25</sup> Superoksiiddismutaasid on ensüümid, mis katalüüsivad superoksiid-aniooni muundamist hapnikuks ja vesinikperoksiidiks – toim.

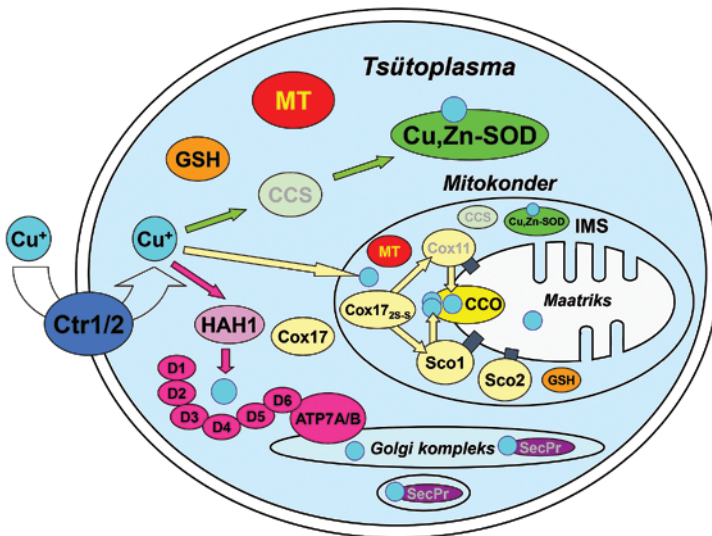
<sup>26</sup> Metaboliit ehk ainevahetussaadus on organismis metabolismi tagajärjel tekkinud aine – toim.

<sup>27</sup> Teatavad rakusisesed metalle siduvad valgud – toim.

## Rakuline vase metabolismism

Vask siseneb eukarüootsete rakkudesse<sup>28</sup> ühevalentse Cu(I) ionide kujul kõrge afiinsusega<sup>29</sup> transmembraansete vase transporterite Ctr1/2 kaudu. Kuigi rakkudes leidub ainult kaks peamist vaskensüümi, CCO ja Cu,Zn-SOD, on vase ainevahetus raku väga keeruline (joonis 1).

Vase sisse- ja väljavoolu süsteeme reguleeritakse organismis rangelt. Lisaks sellele osalevad vase metabolismis spetsiaalsed valgulised šaperoonid. Vase šaperoonid seonduvad Cu(I) ionidega ja transpordivad neid kas rakkusisestele vaskensüümidele või transmembraansetele vase transporteritele. Tsütoplasmas esinevad vase šaperoonid HAH1 ja CCS toimetavad vase oma partneritele, nimelt Cu(I)-ATPaasidele – ATP7A (Menkesi proteiin) või ATP7B (Wilsoni proteiin). Need asuvad trans-Golgi võrgustiku<sup>30</sup> membraanis ja Cu,Zn-SOD-le (Robinson, Winge, 2010). Cox17 on vase šaperoon CCO-le, mis transpordib Cu(I) ioone



**Joonis 1.** Rakuline vase ainevahetus. Lühendid: Ctr1/2 – vase transpordi valk 1 ja 2; MT – metallotioneiin; CCS – vase šaperoon Cu,Zn-SOD-le; HAH1 – vase šaperoon ATP7A või ATP7B-le; D1–D6 – ATP7A/B vase seondumise domeenid; Cox11, Cox17, Sco1 ja Sco2 – vase šaperoonid tsütokroom C oksüdaasile (CCO); GSH – glutatioon; SecPr – sekretoorsed vase valgud.

<sup>28</sup> Päristuumne rakk, üks kahest peamisest elusorganismidel esinevast raku tüübist, millel on eristunud rakutuum ja membraansed rakuorganellid – toim.

<sup>29</sup> Võime seostuda või luua vastastikmõju teiste ainete molekulidega.

<sup>30</sup> Ka Golgi kompleks (GK), Golgi keha ja Golgi aparaat; enamikus eukarüootsetes rakkudes leiduv, tsütoplasma võrgustikuga seotud rakuorganell, kus toimub valkude töötlemine, spetsiaalsetesse vesiikulitesse pakkimine ning seejärel lõplikesse sihtkohtadesse saatmine – toim.

Sco1, Sco2 ja Cox11 vase šaperoonidele, mis asuvad mitokondri sisemembraanis. Sco1/2 annavad Cu(I) ioonid omakorda edasi CCO vase A saidile ning Cox11 toimib vase doonorina CCO vase B saidile (Cobine jt, 2006; Robinson, Winge, 2010). Lisaks vase šaperoonidele on rakuline tsütosool rikas tsüsteiinirikastest valkudest – metallotioneiniinidest (Vaher jt, 2001) – ja sisaldab millimolaarses kontsentratsioonis glutatiooni<sup>31</sup> (GSH) (Wu jt, 2004), mis mõlemad seovad Cu(I) ioone ning on samuti vase ainevahetuse olulised regulaatorid.

Vaskioonide jaotumist rakus reguleerivad nii termodünaamilised kui ka kineetilised tegurid. Kasutades elektropihustus-ionisatsiooni massispektromeetria (ESI-MS) meetodikat, määrasime Cu(I)-seondumise konstandid kõigile olulistele rakulistele vase valkudele (Banci jt, 2010; Smirnova jt, 2018). Uuringute tulemuste kohaselt jäävad rakuliste vase valkude Cu(I)-komplekside disotsiatsioonikonstandid<sup>32</sup> vahemikku  $10^{-17}$ – $10^{-20}$  mooli (M) ning vase ioone suunatakse sihtmärkvalkudesse suhteliselt laugete afiinsusgradientide<sup>33</sup> abil. Vase šaperoonide ja nende partnervalkude Cu(I)-seostumise afiinsuste vahe on ligikaudu 10-kordne (Banci jt, 2010). Samuti selgus, et metallotioneiniinidel on väga kõrge Cu(I)-seondumise afiinsus ning nad osalevad liigsete vaseioonide sidumises redoksinaktiivsetesse kompleksidesse (Meloni jt, 2007). Kõrge afiinsusega valgukompleksidesse seondumise tõttu on „vabade“ ehk valkudega mitteseondunud Cu(I) ionide rakusisene kontsentratsioon normaalingimustes äärmiselt madal – väiksem kui üks vase aatom raku kohta (Rae jt, 1999). Kirjeldatud mehhanismid kaitsevad seega rakke kontrollimatu vaskkatalüüsitud hapniku radikaalide tekke vastu. Samas teevad need vajalikuks vase ioonide toimetamise sihtmärkvalkudesse spetsiifiliste valk-valk interaktsioonide kaudu, mis ongi vase šaperoonide peamine ülesanne.

## Vask rakuvälises keskkonnas

Rakuvälises oksüdatiivses keskkonnas, milleks on peamiselt veri, esineb vask kahevalentsete Cu(II) ioonidena. Vere kaudu toimub vaskioonide transport ja jaotumine organite ja rakkude vahel. Kirjanduse kohaselt esineb veres kolm vaske siduvat valku, milleks on tseruloplasmiin (TP, ~70%), seerumi albumiin (HSA, ~15%) ja alfa-2-makroglobuliin ( $\alpha$ 2M, ~5–10%). Ülejäänud ~5% vasest on seostunud Cu,Zn-SOD3, hüübimisfaktorite V ja VIII, amiini ja diamiini oksüdaaside ning mõnede teiste vaskensüümidega (Linder, 2016).

Hiljutises uuringus üritasime määrata Cu(II)-seondumise afiinsused TP, HSA ja  $\alpha$ 2M valkudele, kasutades ühtset vedelikkromatograafiaga seotud induktiiv-

<sup>31</sup> Kolmest aminohappest koosnev antioksidant – toim.

<sup>32</sup> Suurus, mis iseloomustab tasakaaluolekut seostunud ja vabas olekus olevate ainete vahel – toim.

<sup>33</sup> Teiste ainete seostumise võime muutumine – toim.

selt sidestatud plasma massispektromeetria (LC-ICP MS) põhiste meetodikat (Kirsipuu jt, 2020). Ühtse lähenemise kasutamine on oluline, kuna selle kaudu on võimalik tuletada ekstratsellulaarse vase jaotumist. HSA, CP ja  $\alpha$ 2M omaste Cu(II)-seondumise afiinsuste määramiseks kasutati nende konkurentsi madala molekulmassiga Cu(II)-siduvate ühenditega, mille puhul Cu(II)-seondumise afiinsused on teada (Kirsipuu jt, 2020). Kasutades nitrilotriäädikhapet (NTA) (joonis 2), mis moodustab Cu(II) ioonidega 1 : 1 kompleksi, määrati  $K_D$  väärtuseks  $9,0 \times 10^{-13}$  M, kuid eksperimendid aminohappe histidiiniga (His), mis moodustab Cu(II) ioonidega 2 : 1 kompleksi, saadi  $K_D$  väärtuseks  $3,50 \times 10^{-14}$  M (Kirsipuu jt, 2020).  $K_D$  väärtuse erinevust, mis määrati konkurentsil NTA ja His-iga, võib seletada asjaoluga, et seondumisskeemis ei arvestatud võimalikku kolmikkompleksi moodustumist HSA, Cu(II) ioonide ja His-i vahel. Seega tuleks NTA abil määratud  $K_D$  väärtust pidada täpsemaks HSA Cu(II)-seondumise afiinsuse hinnanguks.

Uuringud näitasid, et TP seondub pH 7,4 ehk arterites tavalise vere happelisuse taseme juures Cu(II) ioonidega äärmiselt tugevasti ning väga tugev Cu(II) ioone siduv aine – etüleendiamiin-tetraäädikhape (EDTA) (joonis 2) – suudab selle kompleksi lagundada ainult mittefüsioloogilistes tingimustes (pH 11) ja millimolaarsete kontsentratsioonide juures (Kirsipuu jt, 2020). Cu•TP kompleksi stabiilsus pH 7,4 juures on tõenäoliselt tingitud metalliioonide paiknemisest valgu sisemuses, mis takistab nende dissotsiatsiooni. Seda järeldust toetavad struktuuriandmed, mis näitavad, et Cu•TP kompleksis paiknevad vaskioonid ei ole solvendiga otseses kontaktis (Samyгина jt, 2013). Cu•TP kompleksi kineetiline inertsus ei võimalda määrata tseruloplasmiini Cu(II)-seondumise afiinsust, mis kinnitab varasemaid järeldusi, et tseruloplasmiiniga seondunud vaskioonid on füsioloogilise pH juures valguga praktiliselt pöördumatult seotud (Linder, 2016).

Katsed  $\alpha$ 2M-ga näitasid, et *in vitro* tingimustes see valk ei seo Cu(II) ioone (Kirsipuu jt, 2020). Saadud termodünaamilised ja kineetilised andmed on olulised vase jaotumise mõistmiseks nii inimese vereplasmas kui ka teistes rakuvälistes keskkondades, nagu näiteks seljaajuvedelikus.

### **Vase metabolism Wilsoni tõve puhul**

Wilsoni tõbi (WT), mille esinemissagedus on ligikaudu 1 : 30 000 (Czlonkowska jt, 2018), põhjustab funktsioonikaoga mutatsioonide esinemine P-tüüpi vase ATP-aasis, ATP7B. ATP7B on ekspresseeritud peamiselt maksas (Bull jt, 1993; Tanzi jt, 1993) kus ta transpordib organismis leiduva üleliigse vase sappi organismist väljutamiseks. Defektiivne ATP7B talitus vähendab vase väljutamist organismist ja põhjustab vase akumulierumist algul maksas ning seejärel ajus, kus vase kontsentratsioonid võivad olla 5–20 ja 10–15 korda suurenenud (Czlonkowska jt, 2018). Kõrge vase kontsentratsioon viib maksas maksatsirroosi või maksavähi tekkele, ajus aga neurodegeneratsioonile ja mitmete

neuropsühhiaatriliste sümptomite, nagu liikumishäired (treemor, tahtmatud liigutused), krambid jt, tekkeni (Roberts, Schilsky, 2008; Patil jt, 2013). Tõve sümptomid algavad tavaliselt vanuses 5–35 aastat. Ilma ravita need süvenevad ning muutuvad lõpuks maksa, neerude või hematoloogiliste komplikatsioonide tõttu fataalseks. Tsütotoksilisus<sup>34</sup> tekib peamiselt liigse vase poolt põhjustatud oksüdatiivsetest kahjustusest (Barber jt, 2021).

### **Vase metabolism Menkesi tõve puhul**

Menkesi tõbi (MT) on suhteliselt haruldane geneetiline haigus, mille esinemissagedus varieerub sõltuvalt uuritavast populatsioonist ja on vahemikus 1 : 50 000 kuni 1 : 360 000 (Tümer and Moller 2010). MT põhjuseks on funktsioonikaoga mutatsioonid teise P-tüüpi vase transporter ATP7A geenis (Tanzi jt, 1993). ATP7A on ekspresseeritud enamikus kudedes, kuid ta mängib olulist rolli soolestiku rakkudes – enterotsüütides. Normaalses olukorras transpordib ATP7A vase raku tsütoplasmast trans-Golgi võrgustikku, kus see lülitatakse sekreteeritavate vaskensüümide koostisse, mis transporditakse verre. MT korral on ATP7A funktsioneerimine ja vase transport soolestiku enterotsüütides verre häiritud. Tekkiv kehasisese vase defitsiit mõjutab peamiselt maksa ja aju (Tümer, Moller 2010). Vasepuudus toob kaasa vaskensüümide, nagu CCO, Cu,Zn-SOD, lüsüüloksüdaasi, türosinaasi, dopamiin  $\beta$ -hüdrosülaasi jt aktiivsuse vähenemise, mis avalduvad MT kliinilistes tunnustes (Tümer, Moller, 2010). Tõbi on progresseeruv haigus, mis viib tavaliselt surmani enne kolmandat eluaastat, vaid vähesed patsiendid elavad viieaastaseks (Tümer, Moller 2010).

### **Vase metabolism Alzheimeri tõve korral**

Alzheimeri tõbi (AT) on kõige levinum neurodegeneratiivne haigus, moodustades umbes 75% dementsuse juhtudest (Anand jt, 2014). Haigusele on iseloomulik ajju kogunevate rakuväliste amüloid- $\beta$  ( $A\beta$ ) peptiidide ladestuste ehk amüloidsete naastude ja rakusiseste hüperfosforüleeritud tau valgu ladestuste ehk neurofibrillaarsete kämpude teke, oksüdatiivsed kahjustused ja närvirakkude surm (Selkoe, 2011). Järkjärguline närvirakkude hukkumine aju teatud piirkondades hävitab aeglaselt mälu ja kognitiivseid võimeid ning viib lõpuks surmani. Amüloidse kaskaadi hüpoteesi kohaselt on  $A\beta$  peptiidi agregeerumine ja amüloidsete naastude moodustumine võtmetähtsusega sündmus, mis omakorda põhjustab neurofibrillaarsete kämpude teket ja rakkude surma (Hardy, Higgins 1992; Selkoe, Hardy, 2016).

AT puhul on organismi vase ainevahetus rikutud ja vase jaotumine muutunud. Arvukate sõltumatute uuringute metaanalüüsid näitavad, et AT korral on vase

---

<sup>34</sup> Tsütotoksilisus tähendab toksilisust ehk mürgine olemist mingit sorti rakkude suhtes. Nii näiteks on metallid, kemikaalid või madude mürgid paljude rakkude jaoks toksilised – toim.

tase veres märkimisväärselt kõrgeenenud (Bucossi jt, 2011; Li jt, 2017; Squitti jt, 2021), kuid samaaegselt on vase tase aju kudedes langenud (Schrag jt, 2011). Täppisuuringud on kinnitanud, et AT korral on vase tase seitsmes uuritud aju piirkonnas oluliselt (53–70%) langenud ning sarnane MT puhul täheldatavaga, mida iseloomustab samuti neurodegeneratsioon (Xu jt, 2017).

On teada, et inimese vananedes vase tase veres tõuseb (Madaric jt, 1994) ja väheneb ajukoes (Bonilla jt, 1984), kuid AT puhul on need muutused märgatavalt suuremad. Kuna vananemine on AT peamine riskitegur, siis on mõistlik oletada, et kuigi vase taseme tõus veres ja sellega samaaegne vähenemine ajukoes on vanusest tingitud tavapärased protsessid, siis teatud piiri ületamisel võib see vase tasakaalu häire viia AT patoloogiani. Sellise stsenaariumi kohaselt võib vase ainevahetuse normaliseerimine olla tõhus meede AT ennetamiseks.

### **Wilsoni ja Menkesi tõve teraapia**

Erinevalt paljudest teistest geneetilistest haigustest on WT ja MT kliinilised sümptomid ravimite abil leevendatavad, sest nende haiguste puhul esinevat ebainormaalset vase ainevahetust saab korrigeerida (Litwin jt, 2019; Vairo jt, 2019).

WD ravi põhineb peamiselt vase sidumisel madalamolekulaarsete liganditega, mis soodustavad vase väljutamist organismist. Sellist tüüpi ravimeid nimetatakse ka vase eemaldamise ravimiteks. Neist kaks on saanud USA toidu- ja ravimiametilt (Food and Drug Administration, FDA) ka ametliku heakskiidu.

Esimene suukaudselt manustatav vaske siduv ravim on D-penitsillamiin (joonis 2), mis sai FDA loa terapeutiliseks kasutamiseks juba 1956. aastal. Ravim suurendab vase väljutamist uriiniga, kuid sellega kaasneb mitmeid kõrvalnähtusid (Roberts, Schilsky, 2008). Teine suukaudne vaske komplekseeriv ravim on trientiin (joonis 2), mis sai FDA heakskiidu 1982. aastal. Trientiin suurendab samuti vase uriiniga väljutamist ning seda talutakse paremini kui D-penitsillamiini (Walshe 1982).

Kolmas vase eemaldamise ravim on tetratiomolübdiaat, mis tuli kasutusele 1984. aastal ja mida on seni kasutatud piiratud arvul WT patsientidel. Esialgsed uuringud ammoniumtetratiomolübdiaadiga ja II faasi kliiniline uuring bis-koliintetratiomolübdiaadiga näitavad, et ravim toimib kiiresti, parandab maksa funktsioneerimist ning leevendab ka WT neuroloogilisi sümptomeid (Rodriguez-Castro jt, 2015).

WT raviks on minevikus kasutatud veel kahte vaske komplekseerivat ühendit. Briti anti-Lewisite'i ehk dimerkaptopropanooli kasutati Suurbritannias 1951. aastal. Dimerkaptosuktsinaati on manustatud sadadele patsientidele Hiinas (Li jt, 2016; Aaseth jt, 2015). Lääne meditsiinis kasutatakse neid ravimeid peamiselt arseeni-, elavhõbeda- ja pliiimürgituste korral.

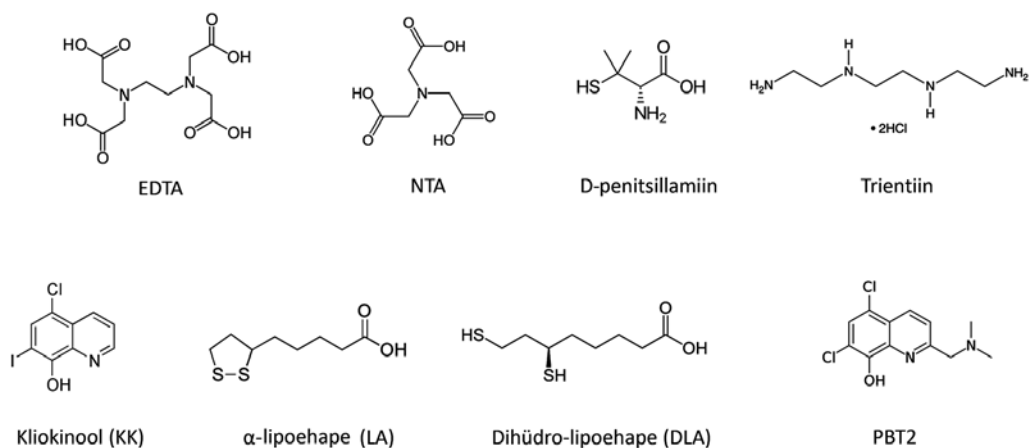


MT raviks kasutatakse vase komplekside manustamist, mille eesmärk on varustada vaskensüüme vasega. Testitud vaseühenditest on kõige tõhusamaks osutunud vask-histidiini kompleks (Kreuder jt, 1993; Christodoulou jt, 1998). Kliinilised andmed näitavad, et hoolika arstiabi ja vase komplekside varajase manustamisega võib haiguse kulgu oluliselt mõjutada ja patsientide eluiga pikendada 13 aastat või isegi rohkem (Tümer, Moller, 2010).

## Vase metabolismiga seotud Alzheimeri tõve ravistrateegiad

Muutunud vase metabolismi rolli AT tekkes on intensiivselt uuritud ning on välja pakutud ka hüpotees metalli ionide põhjuslikust rollist. Selle hüpoteesi alusel on välja töötatud ka metallide kelateerimise<sup>35</sup> teraapia AT raviks (Fasae jt, 2021). Peamine eesmärk on leida ravimeid, mis mõjutavad vase jaotumist ajus ning aitavad leevendada tõvele iseloomulikku vase ainevahetuse häiret.

AT raviotstarbelisi vase metabolismi muutmise katseid on tehtud mitmel viisil. Testitud on nii vase lisamist, kelateerimist kui ka ümbersuunamist; nii laboratoorses katsetes kui ka kliinilistes uuringutes. Vase lisamist testiti vaskorotaadiga (Kessler jt, 2008b; Kessler jt, 2008a), kelateerimist D-penitsillamiiniga (Squitti jt, 2002) ja vase ümbersuunamist vase ionofooridega<sup>36</sup> kliokinooli (KK, 5-kloro-8-hüdrosü-7-jodokinoliin) ja selle derivaadiga PBT2 (Barnham jt, 2004; Bush 2008) (joonis 2).



**Joonis 2.** Vase metabolismi uuringuteks ja regulatsiooniks kasutatud ligandid.

<sup>35</sup> Sõnast kelaator ehk metallide eemaldaja – toim.

<sup>36</sup> Klass ühendeid, mis suudavad seonduda ionidega ja transportida neid nt läbi rakumembraani – toim.

Kliinilistes uuringutes ei näidanud vaskorotaadi lisamine 12-kuulise ravi-perioodi järel mingit mõju AT sümptomite progresseerumisele (Kessler jt, 2008a). D-penitsillamiin soodustas vase vabanemist organismist ja vähendas oksüdatiivset stressi, kuid ei mõjutanud haiguse kliinilist progresseerumist kuue-kuulise katseperioodi vältel (Squitti jt, 2002). KK-d testiti 36 patsiendiga II faasi kliinilises uuringus (Sampson jt, 2014). Test ei näidanud pärast 9-kuulist ravi-perioodi statistiliselt olulist erinevust ravi- ja platseebogrupi vahel (Sampson jt, 2014; Jenagaratnam, McShane, 2006). KK arendamisest loobuti, kuna see osutus toksiliseks (Jenagaratnam, McShane, 2006). KK edasiarendatud versiooni PBT2 testiti kahes kliinilises uuringus (Adlard, Bush 2018). Ühes neist näitas PBT2 soodsat ohutusprofiili (Sampson jt, 2014) ja vähendas A $\beta$ 42 kontsentratsiooni seljaajuvedelikus (Lannfelt jt, 2008). Algselt järeldati, et BTP2 ei paranda AT patsientide kognitiivset võimekust (Lannfelt jt, 2008), kuid hilisem tulemuste analüüs tuvastas teatud kognitiivsete võimete paranemise (Adlard, Bush, 2018; Faux jt, 2010). Põhjalikumalt läbi viidud teine BTP2 uuring näitas, et pärast 12-nädalast ravi oli see ühend ohutu ja hästi talutav. Järeldati siiski, et usaldus-väärse tõestuse saamiseks ravimi kognitiivse toime kohta on vaja läbi viia suuremaid ja pikemaid uuringuid (Sampson jt, 2014).

Kirjeldatud uuringud on suurel määral katse ja eksituse teel tehtud katsed, mis ei põhine terviklikul arusaamal organismi vase ainevahetusest ega ligandite vaskioonide seostumisomadustest, samuti olid vanemad katsed suunatud peamiselt organismist amüloidsetesse naastudesse ladestuva vase eemaldamisele.

### **Uus lähenemine Alzheimeri tõvega kaasneva vase metabolismi normaliseerimiseks**

Hiljutises uuringus pakkusime välja uued molekulaarsed tööriistad AT vase ainevahetuse normaliseerimiseks. Need ühendid põhinevad süstemaatilisel teadmisel AT ravimkandidaatide vaskioonide seostumisomadustest, millest sõltub nende potentsiaal AT häiritud vase ainevahetuse normaliseerimiseks.

Senini on AT raviks välja pakutud eelistatavalt Cu(II) ioone siduvaid vaske komplekseerivaid ühendeid (Robert jt, 2015; Liu jt, 2019). Need ühendid toimivad rakuvälises keskkonnas, nagu veres ja seljaajuvedelikus. AT puhul võivad sellised ravimid küll alandada rakuvälist kõrgeenenud vase taset, kuid nende kasutamine võib viia ka soovimatu rakusisese vase taseme alanemiseni. Seetõttu ei sobi sellised ligandid rakuvälisest ruumist liigse vase ülekandmiseks rakusisesesse ruumi, mis on vajalik vase taseme normaliseerimiseks AT puhul.

Alternatiivse lähenemisena pakkusime välja AT vase ainevahetuse normaliseerimise Cu(I) ioonidega seonduvate ligandite abil. Need seovad vaskioone ainult rakusiseses keskkonnas ja neil on potentsiaal nihutada vase jaotumise tasakaalu rakuvälisest keskkonnast rakusisesesse. Sealjuures peavad Cu(I) ligandite Cu(I)-

sidumise afiinsused olema mõõdukad, et vältida vase eemaldamist rakusisestelt vase valkudelt. Rakusiseste vase valkude Cu(I)-seostumisomadused olid teada meie varasemast uuringust (Banci jt, 2010). Meie laboratooriumis määrati ka mitmete vaske komplekseerivate ühendite, sealhulgas WT ravimite ja loodusliku ühendi  $\alpha$ -lipoehappe (LA) (joonis 2) redutseeritud vormi Cu(I)-seostumise afiinsused (Smirnova jt, 2018). Selgus, et dihüdrolipoehappe (DLA) (joonis 2) omab märkimisväärset Cu(I)-seostumise afiinsust, mis on tugevam kui GSH-l, kuid nõrgem kui rakusisestel vase transportvalkudel ja vaskensüümidel (Banci jt, 2010; Smirnova jt, 2018). LA tiolrühmad on rakusisestelt redutseeritud vormis, kuid rakuvälises keskkonnas oksüdeeruvad nad disulfiidiks. Need omadused muudavad LA sobivaks kandidaadiks vase toomiseks rakusisesesse keskkonda, seejuures häirimata rakusiseste vase valkude funktsioneerimist.

### **Alfa-lipoehappe potentsiaal Alzheimeri tõve ravis**

Oleme läbi viinud kaht tüüpi katseid, et uurida LA rolli rakulise vase ainevahetuse reguleerimisel ja selle sobivust AT raviks. Esiteks katsetasime LA toimet SHSY-5Y rakukultuuridel ja näitasime, et LA lisamine suurendab märkimisväärselt rakusisestelt vase taset. Seejärel kasutasime transgeenseid AT puuviljakärbse mudeleid ning näitasime, et LA suudab leevendada nende mutantide fenotüüpi kärbeste liikumisaktiivsust iseloomustavas nn negatiivse geotaksise eksperimendis. Saadud tulemused toetavad LA vase metabolismi reguleerivat efekti ja näitavad selle sobivust AT ennetamiseks või raviks (Metsla jt, 2022).

### **Alfa-lipoehappe potentsiaal Wilsoni tõve puhul**

Kasutades WT rakulist mudelit, milleks olid väljalülitatud ATP7A valguga rasvarakud, uurisime LA mõju rakkude morfoloogiale, vase ja teiste elementide sisaldusele ning proteoomile (Kabin jt, 2023). Leidsime, et WT mudelrakkudel on oluliselt muutunud kuju ehk morfoloogia ja neil on kõrgem vasesisaldus. Katsetest selgus, et LA neutraliseeris liigse vase kahjuliku toime ja taastas rakkude normaalse oleku. Vase mõju oli tagasipööratav ka aine poolt, mis sidus vaske rakuvälises keskkonnas ja ei andnud seda rakkudele üle. Sellega selgus, et LA toimemehhanism erines ravimite omast. LA ei vähendanud vase taset rakkudes, kuid suurendas seleeni sisaldavate valkude biosünteesi, mis on tähtsad redoksregulaatorid (Kabin jt, 2023). Täiendavatest katsetest selgus, et LA parandab rakkude redokstasakaalu ja toimib antioksidandina (Kabin jt, 2023). Seega võib LA toetada vaske kelateerivate ravimite mõju WT puhul, vähendades rakkude oksüdatiivset stressi.

### **Järeldused**

Organismi vase ainevahetus on keerukalt reguleeritud ning selle häired on seotud mitmete haigustega, nagu Wilsoni, Menkesi ja Alzheimeri tõbi. Wilsoni

ja Menkesi tõbe saab ravida vastavalt vase kelaatorite või vasekompleksidega. Alzheimeri tõve puhul otsitakse ravivat ligandit, mis suudaks vähendada rakuvälist vase taset ja samal ajal suurendada rakusisest taset. Selle eesmärgi saavutamiseks on kasutatud mitmeid sünteetilisi ionofoore, sealhulgas kliokinooli ja PBT2. Üks paljulubav ligand Alzheimeri tõve vase ainevahetuse normaliseerimiseks on looduslik ühend alfa-lipoehape, mille efektiivsust on tõestatud nii raku- kui ka puuviljakärbse katsetes. LA võib toetada ka vaske kelateerivate ravimite mõju Wilsoni tõve puhul, vähendades rakkude oksüdatiivset stressi.

## **Tänuõnad**

Tahan tänada kõiki endiseid ja tänaseid metalloproteoomika labori liikmeid, tänu kellele on osutunud võimalikuks suhteliselt uue, metalloproteoomika valdkonna loomine ja arendamine Eesti teadusmaastikul.

## **VIITED**

Aaseth, J., Skaug, M. A., Cao, Y., Andersen, O. 2015. Chelation in metal intoxication-Principles and paradigms. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 31, 260–266, <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2014.10.001>

Adlard, P. A., Bush, A. I. 2018. Metals and Alzheimer's disease: How far have we come in the clinic? *Journal of Alzheimers Disease*, 62(3), 1369–1379, <https://doi.org/10.3233/jad-170662>

Anand, R., Gill, K. D., Mahdi, A. A. 2014. Therapeutics of Alzheimer's disease: Past, present and future. *Neuropharmacology*, 76A, 7–50, <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2013.07.004>

Balsano, C., Porcu, C., Sideri, S. 2018. Is copper a new target to counteract the progression of chronic diseases? *Metallomics*, 10(12), 1712–1722, <https://doi.org/10.1039/c8mt00219c>

Banci, L., Bertini, I., Ciofi-Baffoni, S., Kozyreva, T., Zovo, K., Palumaa, P. 2010. Affinity gradients drive copper to cellular destinations. *Nature*, 465(7298), 645–648, <http://dx.doi.org/10.1038/nature09018>

Barber, R. G., Grenier, Z. A., Burkhead, J. L. 2021. Copper toxicity is not just oxidative damage: Zinc systems and insight from Wilson disease. *Biomedicines*, 9(3), 316, <https://doi.org/10.3390/biomedicines9030316>

Barnham, K. J., Masters, C. L., Bush, A. I. 2004. Neurodegenerative diseases and oxidative stress. *Nature Reviews in Drug Discovery*, 3(3), 205–214, <https://doi.org/10.1038/nrd1330>

Bonilla, E., Salazar, E., Villasmil, J. J., Villalobos, R., Gonzalez, M., Davila, J. O. 1984. Copper distribution in the normal human brain. *Neurochemical Research*, 9(11), 1543–1548, <https://doi.org/10.1007/bf00964589>

Bucossi, S., Ventriglia, M., Panetta, V., Salustri, C., Pasqualetti, P., Mariani, S., Siotto, M., Rossini, P. M., Squitti, R. 2011. Copper in Alzheimer's disease: a meta-analysis of serum, plasma, and cerebrospinal fluid studies. *Journal of Alzheimers Disease*, 24(1), 175–185, <https://doi.org/10.3233/jad-2010-101473>

Bull, P. C., Thomas, G. R., Rommens, J. M., Forbes J. R., Cox, D. W. 1993. The Wilson disease gene is a putative copper transporting P-type ATPase similar to the Menkes gene. *Nature Genetics*, 5(4), 327–337, <https://doi.org/10.1038/ng1293-327>

Bush, A. I. 2008. Drug development based on the metals hypothesis of Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimers Disease*, 15(2), 223–240, <https://doi.org/10.3233/jad-2008-15208>

Christodoulou, J., Danks, D. M., Sarkar, B., Baerlocher, K. E., Casey, R., Horn, N., Tumer, Z., Clarke, J. T. 1998. Early treatment of Menkes disease with parenteral copper-histidine: long-term follow-up of four treated patients. *American Journal of Medical Genetics*, 76(2), 154–164.

Cobine, P. A., Pierrel, F., Winge, D. R. 2006. Copper trafficking to the mitochondrion and assembly of copper metalloenzymes. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1763(7), 759–772, <https://doi.org/10.1016/j.bbamcr.2006.03.002>

Czlonkowska, A., Litwin, T., Dusek, P., Ferenci, P., Lutsenko, S., Medici, V., Rybakowski, J. K., Weiss, K. H., Schilsky, M. L. 2018. Wilson disease. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1), 21, <https://doi.org/10.1038/s41572-018-0018-3>

Fasae, K. D., Abolaji, A. O., Faloye, T. R., Odunsi, A. Y., Oyetayo, B. O., Enya, J. I., Rotimi, J. A., Akinyemi, R. O., Whitworth, A. J., Aschner, M. 2021. Metallobiology and therapeutic chelation of biometals (copper, zinc and iron) in Alzheimer's disease: Limitations, and current and future perspectives. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 67, 126779, <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2021.126779>

Faux, N. G., Ritchie, C. W., Gunn, A., Rembach, A., Tsatsanis, A., Bedo, J., Harrison, J., Lannfelt, L., Blennow, K., Zetterberg, H., Ingelsson, M., Masters, C. L., Tanzi, R. E., Cummings, J. L., Herd, C. M., Bush, A. I. 2010. PBT2 rapidly improves cognition in Alzheimer's disease: additional phase II analyses. *Journal of Alzheimers Disease*, 20(2), 509–516, <https://doi.org/10.3233/jad-2010-1390>

Hardy, J. A., Higgins, G. A. 1992. Alzheimer's disease: the amyloid cascade hypothesis. *Science*, 256(5054), 184–185, <https://doi.org/10.1126/science.1566067>

Jenagaratnam, L., McShane, R. 2006. Clioquinol for the treatment of Alzheimer's disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, CD005380, <https://doi.org/10.1002/14651858.cd005380.pub2>

Kabin, E., Dong, Y., Roy, S., Smirnova, J., Smith, J. W., Ralle, M., Summers, K., Yang, H., Dev, S., Wang, Y., Devenney, B., Cole, R. N., Palumaa, P., Lutsenko, S.

2023.  $\alpha$ -lipoic acid ameliorates consequences of copper overload by up-regulating selenoproteins and decreasing redox misbalance. *Proceedings of the National Academy Sciences of the USA*, 120(40), e2305961120, <https://doi.org/10.1073/pnas.2305961120>

Kessler, H., Bayer, T. A., Bach, D., Schneider-Axmann, T., Supprian, T., Herrmann, W., Haber, M., Multhaup, G., Falkai, P., Pajonk, F. G. 2008a. Intake of copper has no effect on cognition in patients with mild Alzheimer's disease: a pilot phase 2 clinical trial. *Journal of Neural Transmission (Vienna)*, 115(8), 1181–1187, <https://doi.org/10.1007/s00702-008-0080-1>

Kessler, H., Pajonk, F. G., Bach, D., Schneider-Axmann, T., Falkai, P., Herrmann, W., Multhaup, G., Wiltfang, J., Schafer, S., Wirths, O., Bayer, T. A. 2008b. Effect of copper intake on CSF parameters in patients with mild Alzheimer's disease: a pilot phase 2 clinical trial. *Journal of Neural Transmission (Vienna)*, 115(12), 1651–1659, <https://doi.org/10.1007/s00702-008-0136-2>

Kirsipuu, T., Zadoroznaja, A., Smirnova, J., Friedemann, M., Plitz, T., Tõugu, V., Palumaa, P. 2020. Copper(II)-binding equilibria in human blood. *Scientific Reports*, 10(1), 5686, <https://doi.org/10.1038/s41598-020-62560-4>

Kreuder, J., Otten, A., Fuder, H., Tumer, Z., Tonnesen, T., Horn, N., Dralle, D. 1993. Clinical and biochemical consequences of copper-histidine therapy in Menkes disease. *European Journal of Pediatrics*, 152(10), 828–832, <https://doi.org/10.1007/bf02073380>

Lannfelt, L., Blennow, K., Zetterberg, H., Batsman, S., Ames, D., Harrison, J., Masters, C. L., Targum, S., Bush, A. I., Murdoch, R., Wilson, J., Ritchie, C. W. 2008. Safety, efficacy, and biomarker findings of PBT2 in targeting A $\beta$  as a modifying therapy for Alzheimer's disease: a phase IIa, double-blind, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet Neurology*, 7(9), 779–786, [https://doi.org/10.1016/s1474-4422\(08\)70167-4](https://doi.org/10.1016/s1474-4422(08)70167-4)

Li, W. J., Chen, C., You, Z. F., Yang, R. M., Wang, X. P. 2016. Current drug managements of Wilson's disease: From west to east. *Current Neuropharmacology*, 14(4), 322–325, <https://doi.org/10.2174/1570159x14666151130222427>

Li, D. D., Zhang, W., Wang, Z. Y., Zhao, P. 2017. Serum copper, zinc, and iron levels in patients with Alzheimer's disease: A meta-analysis of case-control studies. *Frontiers Aging Neuroscience*, 9, 300, <https://doi.org/10.3389/fnagi.2017.00300>

Linder, M. C. 2016. Ceruloplasmin and other copper binding components of blood plasma and their functions: an update. *Metallomics*, 8(9), 887–905, <https://doi.org/10.1039/C6MT00103C>

Litwin, T., Dziezyc, K., Czlonkowska, A. 2019. Wilson disease-treatment perspectives. *Annals of Translational Medicine*, 7(Suppl 2), S68, <https://doi.org/10.21037/atm.2018.12.09>

- Liu, Y., Nguyen, M., Robert, A., Meunier, B. 2019. Metal ions in Alzheimer's disease: A key role or not? *Accounts of Chemical Research*, 52(7), 2026–2035, <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.9b00248>
- Madaric, A., Ginter, E., Kadrabova, J. 1994. Serum copper, zinc and copper/zinc ratio in males: influence of aging. *Physiological Research*, 43(2), 107–111.
- Meloni, G., Faller, P., Vasak, M. 2007. Redox silencing of copper in metal-linked neurodegenerative disorders: reaction of Zn<sub>2</sub>metallothionein-3 with Cu<sup>2+</sup> ions. *Journal of Biological Chemistry*, 282(22), 16068–16078, <https://doi.org/10.1074/jbc.m701357200>
- Metsla, K., Kirss, S., Laks, K., Sildnik, G., Palgi, M., Palumaa, T., Tõugu, V., Palumaa, P. 2022.  $\alpha$ -Lipoic acid has the potential to normalize copper metabolism, which is dysregulated in Alzheimer's disease. *Journal of Alzheimers Disease*, 85(2), 715–728, <https://doi.org/10.3233/jad-215026>
- Patil, M., Sheth, K. A., Krishnamurthy, A. C., Devarbhavi, H. 2013. A review and current perspective on Wilson disease. *Journal of Clinical and Experimental Hepatology*, 3(4), 321–336, <https://doi.org/10.1016/j.jceh.2013.06.002>
- Rae, T. D., Schmidt, P. J., Pufahl, R. A., Culotta, V. C., O'Halloran, T. V. 1999. Undetectable intracellular free copper: the requirement of a copper chaperone for superoxide dismutase. *Science*, 284(5415), 805–808, <https://doi.org/10.1126/science.284.5415.805>
- Robert, A., Liu, Y., Nguyen, M., Meunier, B. 2015. Regulation of copper and iron homeostasis by metal chelators: a possible chemotherapy for Alzheimer's disease. *Accounts of Chemical Research*, 48(5), 1332–1339, <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.5b00119>
- Roberts, E. A., Schilsky, M. L. 2008. Diagnosis and treatment of Wilson disease: an update. *Hepatology*, 47(6), 2089–2111, <https://doi.org/10.1002/hep.22261>
- Robinson, N. J., Winge, D. R. 2010. Copper metallochaperones. *Annual Reviews in Biochemistry*, 79, 537–562, <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-030409-143539>
- Rodriguez-Castro, K. I., Hevia-Urrutia, F. J., Sturniolo, G. C. 2015. Wilson's disease: A review of what we have learned. *World Journal of Hepatology*, 7(29), 2859–2870, <https://doi.org/10.4254/wjh.v7.i29.2859>
- Sampson, E. L., Jenagaratnam, L., McShane, R. 2014. Metal protein attenuating compounds for the treatment of Alzheimer's dementia. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, (2), CD005380, <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005380.pub5>
- Samygina, V. R., Sokolov, A. V., Bourenkov, G., Petoukhov, M. V., Pulina, M. O., Zakharova, E. T., Vasilyev, V. B., Bartunik, H., Svergun, D. I. 2013. Ceruloplasmin: macromolecular assemblies with iron-containing acute phase proteins. *PLoS One*, 8(7), e67145, <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067145>

- Schrag, M., Mueller, C., Oyoyo, U., Smith, M. A., Kirsch, W. M. 2011. Iron, zinc and copper in the Alzheimer's disease brain: a quantitative meta-analysis. Some insight on the influence of citation bias on scientific opinion. *Progress in Neurobiology*, 94(3), 296–306, <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2011.05.001>
- Selkoe, D. J. 2011. Alzheimer's disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 3(7), pii: a004457, <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a004457>
- Selkoe, D. J., Hardy, J. 2016. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Molecular Medicine*, 8(6), 595–608, <https://doi.org/10.15252/emmm.201606210>
- Smirnova, J., Kabin, E., Jarving, I., Bragina, O., Tõugu, V., Plitz, T., Palumaa, P. 2018. Copper(I)-binding properties of de-coppering drugs for the treatment of Wilson disease.  $\alpha$ -Lipoic acid as a potential anti-copper agent. *Scientific Reports*, 8(1), 1463, <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19873-2>
- Squitti, R., Rossini, P. M., Cassetta, E., Moffa, F., Pasqualetti, P., Cortesi, M., Colloca, A., Rossi, L., Finazzi-Agro, A. 2002. d-Penicillamine reduces serum oxidative stress in Alzheimer's disease patients. *European Journal of Clinical Investigation*, 32(1), 51–59, <https://doi.org/10.1046/j.1365-2362.2002.00933.x>
- Squitti, R., Ventriglia, M., Simonelli, I., Bonvicini, C., Costa, A., Perini, G., Binetti, G., Benussi, L., Ghidoni, R., Koch, G., Borroni, B., Albanese, A., Sensi, S. L., Rongioletti, M. 2021. Copper imbalance in Alzheimer's disease: meta-analysis of serum, plasma, and brain specimens, and replication study evaluating ATP7B gene variants. *Biomolecules*, 11(7), <https://doi.org/10.3390/biom11070960>
- Tanzi, R. E., Petrukhin, K., Chernov, I., Pellequer, J. L., Wasco, W., Ross, B., Romano, D. M., Parano, E., Pavone, L., Brzustowicz, L. M., Devoto, M., Peppercorn, J., Bush, A.I., Sternlieb, I., Pirastu, M., Gusella, J. F., Evgrafov, O., Penchaszadeh, G. K., Honig, B., Edelman, I. S., Soares, M. B., Scheinberg, I. H., Gilliam, T. C. 1993. The Wilson disease gene is a copper transporting ATPase with homology to the Menkes disease gene. *Nature Genetics*, 5(4), 344–350, <https://doi.org/10.1038/ng1293-344>
- Tümer, Z., Moller, L. B. 2010. Menkes disease. *European Journal of Human Genetics*, 18(5), 511–518, <https://doi.org/10.1038/ejhg.2009.187>
- Vaher, M., Romero-Isart, N., Vasak, M., Palumaa, P. 2001. Reactivity of Cd<sub>7</sub>-metallothionein with Cu(II) ions: evidence for a cooperative formation of Cd<sub>3</sub>Cu(I)<sub>5</sub>-metallothionein. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 83(1), 1–6, [https://doi.org/10.1016/s0162-0134\(00\)00183-5](https://doi.org/10.1016/s0162-0134(00)00183-5)
- Vairo, F. P. E., Chwal, B. C., Perini, S., Ferreira, M. A. P., de Freitas Lopes, A. C., Saute, J. A. M. 2019. A systematic review and evidence-based guideline for diagnosis and treatment of Menkes disease. *Molecular Genetics and Metabolism*, 126(1), 6–13, <https://doi.org/10.1016/j.ymgme.2018.12.005>



Walshe, J. M. 1982. Treatment of Wilson's disease with trientine (triethylene tetramine) dihydrochloride. *Lancet*, 319(8273), 643–647, [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(82\)92201-2](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(82)92201-2)

Wu, G., Fang, Y. Z., Yang, S., Lupton, J. R., Turner, N. D. 2004. Glutathione metabolism and its implications for health. *The Journal of Nutrition*, 134(3), 489–492, <https://doi.org/10.1093/jn/134.3.489>

Xu, J., Church, S. J., Patassini, S., Begley, P., Waldvogel, H. J., Curtis, M. A., Faull, R. L. M., Unwin, R. D., Cooper, G. J. S. 2017. Evidence for widespread, severe brain copper deficiency in Alzheimer's dementia. *Metallomics*, 9(8), 1106–1119, <https://doi.org/10.1039/c7mt00074j>

### **Peep Palumaa**

Sündinud 30. juunil 1959 Tartus

1977 Võru I keskkool

1982 Tartu ülikool, bioorgaaniline keemia (*cum laude*)

1986 Tartu ülikool, teaduste kandidaat orgaanilise keemia erialal (PhD)

Peep Palumaa on Tallinna tehnikaülikooli proteoomika professor alates 2002. aastast. Ta õppis Tartu ülikoolis keemiat, omandas 1986. aastal doktori-kraadi atsetüülkoliinesteraasi aktiivse saidi uuringute eest, oli 1989–1992 Zürichi ülikooli biokeemia instituudi järel doktor ning jätkas seejärel tööd Tartu ülikoolis vanemteaduri ja biokeemia professorina. Ta on end täiendanud Karolinska instituudis Rootsis ja Münsteri ülikoolis Saksamaal.

Peep Palumaa praegune uurimisvaldkond on struktuurne ja meditsiiniline metalloproteoomika, ta on keskendunud vase valkudele ja amüloidsetele peptiididele. Biomeditsiini valdkonnas tegeleb ta uute, vase metabolismi regulatsiooniga seotud ravistrateegiate väljatöötamisega Alzheimeri ja Wilsoni tõve puhul.