

Molibden kot pomemben element v sledovih

Molybdenum as important trace element

Aleš Obreza

Povzetek: Molibden je prehodni element, ki zaradi svojih fizikalno-kemičnih lastnosti omogoča katalizo eno- in dvoelektronskih redoks reakcij. Molibdatni ioni so se zato že zelo zgodaj tekom evolucije vključili v nekatere metaloenzime in jih zasledimo pri skoraj vseh organizmih, z izjemo nekaterih anaerobov, kjer je namesto molibdena prisoten volfram. Tudi pri sesalcih najdemo tri encime z molibdati v aktivnem mestu, med katerimi je zagotovo najbolj znana ksantin-oksidaža. Slednja katalizira pretvorbo purinov do sečne kisline in oksidacijo nekaterih drugih heteroaromatov. Za življenje je najpomembnejša sulfit-oksidaža, ki sodeluje v metabolizmu žveplo vsebujočih organskih spojin in preprečuje kopičenje toksičnih sulfitov v organizmu. Pri ljudeh je v strokovni literaturi opisan samo en primer pomanjkanja molibdena, zato jemanje njegovih spojin kot prehranskih dopolnil nima racionalne osnove, prav tako pa tudi niso nedvoumno opisani primeri zastupitev pri koncentracijah molibdenovih spojin, ki jih običajno zaužijemo.

Ključne besede: molibden, metaloenzimi, esencialni element, toksičnost.

Abstract: Molybdenum is a transition metal, which may act as a catalyst for one- and twoelectron redox reactions, due to its physicochemical properties. Molybdates became part of metalloenzymes early in evolution and may be still found in the majority of organisms, except some anaerobes where tungsten is present instead of molybdenum. In mammals three molybdoenzymes are found and xanthine oxidase which catalyses the oxidation of purines to uric acid and the oxidation of other heterocycles is best known. The other enzyme sulfite oxidase is essential for living as it catalyses the metabolism of sulfur containing organic compounds and prevents the accumulation of toxic sulfites in the organism. In humans there is only one case of molybdenum deficiency presented in professional literature, therefore the use of additives containing molybdenum has no rational base. Also the cases of poisoning with the ingested molybdenum compounds have not been clearly described.

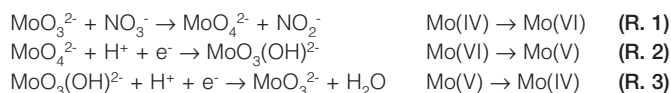
Keywords: molybdenum, metalloenzymes, essential element, toxicity.

1 Naravni viri in kemizem molibdenovih spojin

S prispevkom o molibdenu se nadaljuje pregled kemijskih elementov, ki so pomembni za nemoten potek biokemijskih procesov v živih organizmih. Za razliko od vanadijevih in borovih spojin (1, 2), za katere še vedno ne moremo z gotovostjo trditi, ali so nujno potrebni za življenje vretenčarjev in človeka, pa je vloga molibdena kot mikroelementa znana že od tridesetih let prejšnjega stoletja. Kljub temu molibden kot mikroelement v slovenski strokovni literaturi še ni bil podrobneje obravnavan.

Molibden je odkril Carl Wilhelm Scheele leta 1778 in ga poimenoval zaradi zunanje podobnosti s svincem (gr. molybdos – podoben svincu). V naravi se molibden ne pojavlja v elementni obliki, pač pa v glavnem kot molibdatni(VI) ion (MoO_4^{2-}), vendar so njegove spojine v zemeljski skorji relativno redke (približno 1 ppm Mo). Povsem drugače je v morju, kjer je pred približno dvema milijardama let prišlo do pomembne spremembe. S pojavom kisika v atmosferi se je s pretvorbo netopnega MoS_2 v MoO_4^{2-} topnost molibdenovih spojin močno povečala, s čimer je bila poleg boljše biološke uporabnosti omogočena tudi uporaba molibdena v biokemijskih procesih (3).

Zanimivo je, da je zaradi dobre topnosti enostavnih molibdatov, molibden v koncentracijah približno 10^{-7} mol/L najpogosteje zastopani prehodni element v morski vodi (4). Uporabnost posamezne kemične entitete v živem svetu ni določena zgolj z njeno dostopnostjo, pač pa so nujne tudi ustrezne fizikalno-kemične lastnosti. Pri molibdenu je najpomembnejša sposobnost katalize redoks reakcij, pri čemer ima kot element VI. stranske skupine sposobnost reverzibilnih eno- in dvoelektronskih oksidacij in redukcij, saj lahko prehaja med stanjema z oksidacijskima številoma +4 in +6, poleg tega pa je možno tudi vmesno stanje Mo(V). Sklopljenost eno- in dvoelektronskih redoks reakcij lepo ponazarja redukcija nitratov do nitritov (**R. 1**, **R. 2**, **R. 3**) (5, 6, 7). Omenjeni tip reakcij zasledimo pri vseh najpomembnejših molibden vsebujočih encimih, ki jih bomo obravnavali v tem prispevku.



Za molibden so značilni kompleksi z različnimi koordinacijskimi števili in geometrijo molekul (8). Najpogostejše je koordinacijsko število 6 z oktaedrično razporeditvijo ligandov, ki je prisotna tudi v večini

encimov, srečamo pa tudi komplekse z nižjimi koordinacijskimi števili (4 pri molibdatih, 5 v nekaterih encimih). Od oksidacijskega števila molibdena, vrste in števila ligandov so odvisne tudi acidobazične lastnosti. Kislost je na splošno večja pri višjem oksidacijskem stanju in formalnem naboju centralnega iona ter pri kompleksih z nižjim koordinacijskim številom (3), kar je pomembno za stabilnost in delovanje posameznih encimov pri različnih vrednostih pH.

2 Molibdenove spojine v človeškem organizmu

Molibdenove spojine, ki jih vnesemo v telo, skoraj v celoti (90-99%) zaužijemo s hrano. Izdatni viri molibdena so zlasti razni oreški in žitarice, medtem ko je v hrani živalskega izvora, sadju in zelenjavi molibdenovih spojin manj. Za razliko od večine ionov prehodnih elementov se iz prebavnega sistema dobro in hitro absorbirajo. Stopnja absorpcije (20-95%) je odvisna od topnosti spojin, ki v primeru molibdatov ni problematična. Težave včasih nastopijo v primeru molibdenovih sulfidov, s katerimi lahko nastanejo netopni kompleksi z drugimi kovinskimi ioni, na primer Cu^{2+} , zato lahko pride do pomanjkanja slednjih. Dnevni vnos molibdenovih spojin znaša pri odraslem človeku ob raznovrstni prehrani 100-300 μg , kar več kot zadošča za pokritje dnevnih potreb, ki se gibljejo v intervalu 30-50 μg (9).

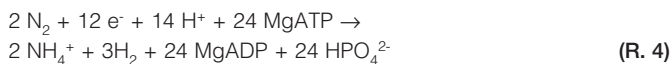
Pri ljudeh je bil opisan le en primer pomanjkanja molibdena pri 24-letnemu pacientu s Chronovim sindromom, ki je bil osemnajst mesecev izključno na parenteralni prehrani (10). Pacient je bil proti koncu omenjene študije zelo razdražljiv, opazili so izrazito tahikardijo in tahipnejo, z biokemičnimi preiskavami pa so ugotovili močno povečano plazemsko koncentracijo metionina in koncentracije ksantina, hipoksantina, sulfitov in tiosulfatov v urinu, znižana pa je bila serumska koncentracija sečne kisline. Vse skupaj je kazalo na motnjo v metabolizmu heteroaromatov in žveplo vsebujočih aminokislin, kjer sta udeležena tudi dva encima z molibdenom v aktivnem mestu, ksantin-oksidaza in sulfit-oksidaza. Pacientovo stanje se je normaliziralo po nekajdnevni parenteralni aplikaciji vodne raztopine amonijevega molibdata (300 $\mu\text{g}/\text{dan}$) (10).

Molibdenove spojine se po absorpciji dokaj enakomerno porazdelijo po celotnem organizmu. Koncentracije, preračunane na Mo, v večini tkiv znašajo približno 1 ng/g tkiva. Nekoliko nižje so plazemske koncentracije in koncentracije v centralnem živčevju. Podobno kot pri ostalih prehodnih elementih, so tudi koncentracije molibdenovih spojin najvišje v jetrih (7 ng Mo/g tkiva) in v ledvicah (3 ng Mo/g tkiva). Ledvica so tudi glavni organ za izločanje molibdenovih spojin, predvsem v obliki enostavnih molibdatov, nekoliko manj se jih izloči s fecesom, skoraj zanemarljivo pa je izločanje s potenjem (11).

3 Molibden kot esencialni mikroelement

Molibden je esencialni element za vse aerobne organizme, kjer je sestavni del več kot petdesetih, večinoma bakterijskih, encimov, pomembnih zlasti za metabolizem dušikovih in žveplovih spojin. Le v nekaterih enostavnih anaerobnih mikroorganizmih njegovo vlogo lahko prevzame volfram. Pri bakterijah in rastlinah je vgrajen v encima

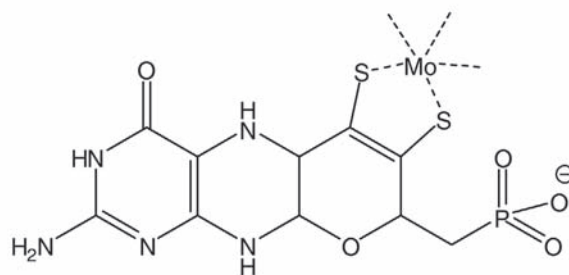
nitrat-reduktazo in nitrogenazo (12), ki omogočata redukcijo nitratov do nitritov (**R. 1**) in redukcijo elementnega dušika do amonijevih ionov, ki je energijsko zelo potratna in v običajnih pogojih brez učinkovitega katalizatorja ne poteka. Celokupno reakcijo, ki jo katalizirajo nitrogenaze, predstavlja spodnja enačba. Iz nje lahko razberemo, da je za reduktivno protoniranje molekule dušika potrebnih šest elektronov in energija, ki se sprost ob hidrolizi dvanajstih molekul ATP (**R. 4**). Pri nekaterih vrstah bakterij, ki živijo v simbiotskem odnosu z rastlinami, se v primeru pomanjkanja molibdena poveča ekspresija gena za vanadijevo nitrogenazo (1).



Pri sesalcih in ljudeh je molibden prisoten v treh encimih: ksantin-oksidazi, aldehyd-oksidazi in sulfit-oksidazi. Za vse omenjene encime je značilno, da katalizirajo eno- ali dvoelektronske redoks reakcije, ki so pogosto sklopljene med seboj. Molibden je z izjemo nitrogenaz, kjer je vključen skupaj z železovimi(III) in sulfidnimi ioni v kofaktor molibdoferedoksin, v vseh encimih prisoten kot edini kovinski ion, vgrajen v specifični triciklični molibdenski kofaktor.

3.1 Molibdenski kofaktor

Molibdenski kofaktor je zgrajen iz delno nasičenega pirano[3,2-g]pterinskega obročnega sistema, na katerega je preko dveh sulfhidrilnih skupin na mestih 6 in 7 vezan molibdatni ion (Slika 1). Nekovinski del kofaktorja je edinstven v naravi in se je verjetno razvil tekom evolucije z namenom, da bi lahko organizmi čim bolj učinkovito izkoriščali fizikalno-kemične lastnosti molibdatnih ionov. Kofaktor omogoča ustrezno prostorsko umestitev molibdata v aktivnem mestu encimov, poleg tega pa tudi uravnava potek redoks reakcij, saj lahko pteridinski del služi kot prenašalec elektronov. S pomočjo rentgenske kristalografije so ugotovili, da se nekovinski del kofaktorja ne nahaja na površini encimov, pač pa v njihovi notranjosti, kjer je zaščiten pred vplivi okolja. Molibdenski kofaktor je namreč zelo nestabilna spojina, ki se ločena od encima zelo hitro ireverzibilno oksidira do neaktivnega produkta, prav tako pa se odstrani tudi molibdatni ion. Biosinteza molibdenovega kofaktorja je identična pri vseh evkariontih in predstavlja kompleksno večstopenjsko biokemijsko pot, ki izhaja iz molekule GTP (12, 13). Motnje v njegovi biosintezi, ki so posledica mutacije genov za ustrezne encime, so znane tudi pri ljudeh in so nezdržljive z življenjem, poleg tega pa terapija z vnašanjem



Slika 1: Struktura molibdenskega kofaktorja.
Figure 1: Structure of molybdenum cofactor.

molibdenskega kofaktorja zaradi njegove nestabilnosti ni možna. Zaradi neaktivnosti molibden vsebujočih encimov, zlasti sulfid-oksidadze, se močno zvišajo koncentracije toksičnih sulfidov, kar privede do ireverzibilnih poškodb centralnega živčevja (14).

3.2 Molibden vsebujoči encimi

Molibden vsebujoče encime lahko razdelimo glede na strukturo molibdenskega kompleksa v aktivnem mestu v tri skupine:

- ksantin-oksidadzno, kamor uvrščamo tudi encima aldehid-oksidadzo in ogljikov monoksid-dehidrogenazo,
- sulfid-oksidadzno, kamor sodi tudi nitrat-reduktaza,
- DMSO-reduktazno skupino (5).

Strukture aktivnih mest posameznih skupin encimov so predstavljene v Sliki 2.

Najbolj znan predstavnik molibdenovih metaloproteinov je vsekakor ksantin-oksidadza, ki v organizmu opravlja številne naloge. Primarna fiziološka funkcija ksantin-oksidadze je kataliza zadnjih dveh stopenj v pretvorbi purinov (npr. adenina in gvanina) v sečno kislino. Reakcijo lahko poenostavljeno zapišemo kot (R. 5) in je značilna za celotno ksantin-oksidadzno skupino encimov, dejanska reakcija pa je predstavljena v Sliki 3 (15, 16).



(R. 5)

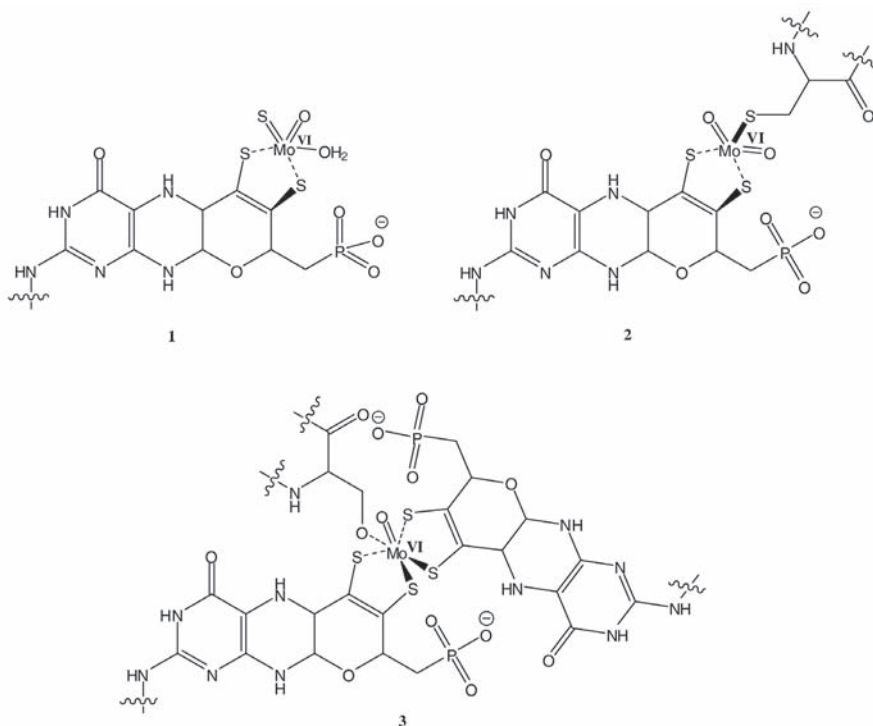
Opazimo lahko, da pride do prenosa kisikovega atoma iz molekule vode na ogljikov atom substrata. Za ksantin-oksidadzo ni značilna velika substratna specifičnost, zato lahko v reakcije vstopajo tudi molekule, ki vsebujejo druge heteroaromate, predvsem pteridin. Zaradi pogostosti heteroaromatov v strukturah raznih ksenobiotikov je

reakcija pomembna tudi pri oksidaciji raznih zdravilnih učinkovin, predvsem ksantinskih derivatov in purinskih antimetabolitov med protitumornimi učinkovinami.

V zadnjih letih je bila v številni znanstveni člankih predstavljena vloga ksantin-oksidadze pri nastajanju reaktivnih kisikovih zvrsti, predvsem vodikovega peroksida in superoksidnega radikala, posredno pa tudi NO in peroksinitrita. Ker je bila povečana aktivnost encima opažena zlasti ob vnetju, lahko sklepamo, da je udeležen pri imunskem odgovoru organizma, poleg tega se nahaja tudi na površini epiteljskih celic v gastrointestinalnem traktu, kjer je v tesnem stiku z bakterijami. Prekomerno nastajanje reaktivnih kisikovih zvrsti pa lahko privede tudi do patoloških stanj, kot so hepatitis, ishemija tkiv in kancerogeneza, ki so posledica oksidativnih poškodb posameznih tkiv (17).

Poleg dokazane vloge pri nastanku reaktivnih kisikovih zvrsti, ima ksantin-oksidadza tudi antioksidativno delovanje. Sečna kislina, ki nastaja kot produkt metabolizma purinov, je plazemski antioksidant, ki se lahko oksidira do relativno stabilnih in netoksičnih produktov. Prisotna je v višjih koncentracijah kot ostali antioksidanti in lahko učinkovito ščiti biološke tarče pred oksidacijo povzročeno s hidroksilnimi radikali, hipokloriti in peroksinitriti (15).

Aldehid-oksidadza spada v isto skupino encimov in je tudi po mehanizmu katalize zelo podoben ksantin-oksidadzi. Kot substrat lahko uporablja različne alifatske, aromatske oziroma heteroaromatske aldehide, ki jih oksidira do ustreznih karboksilnih kislin, poleg tega pa lahko katalizira oksidacijo različnih heteroaromatov, predvsem pirimidinov in purinov. Pri živalih se v glavnem nahaja v jetrih, še vedno pa ni popolnoma jasno, kaj je



Slika 2: Strukture aktivnih mest molibden vsebujočih encimov:

- 1 – ksantin-oksidadzna skupina;
- 2 – sulfid-oksidadzna skupina;
- 3 – DMSO-reduktazne skupina.

Figure 2: Active-site structures of molybdenum-containing enzymes:

- 1 – xanthine oxidase group;
- 2 – sulfite oxidase group;
- 3 – DMSO reductase group.

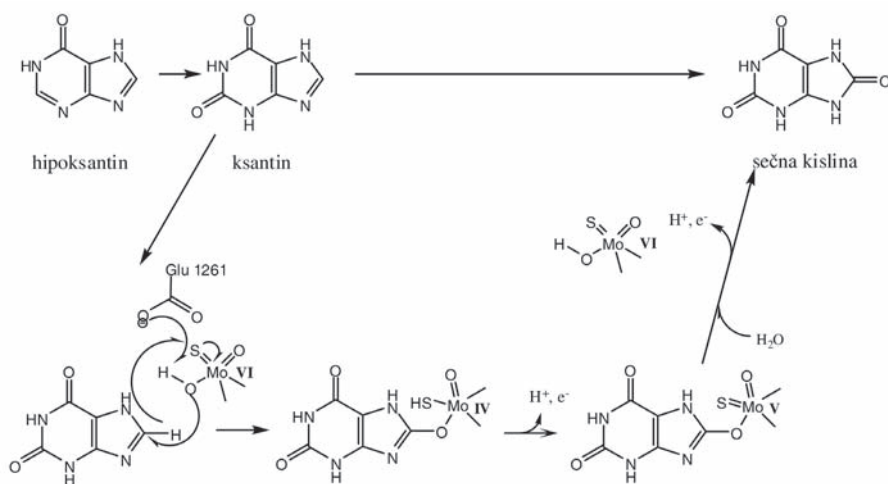
njegova osnovna fiziološka vloga, prav tako pa še ni bil zanesljivo ugotovljen nativni substrat pri živalih (mogoče retinal, ki se pod vplivom encima oksidira do retinojske kisline). Pri rastlinah je to skoraj zagotovo seskviterpenski aldehyd 5-(1-hidroksi-2,6,6-trimetil-4-okso-2-cikloheksen-1-il)-3-metil-2,4-pentadienal, ki se oksidira do abscizinske kisline (Slika 4), rastlinskega hormona, ki zavira rast in omogoča prilagoditev rastlin na stresne pogoje (12, 18, 19).

Sulfit-oksidaža je pri ljudeh najredkeje omenjani, a verjetno edini za življenje nujno potreben molibdenov metaloencim. Katalizira zadnjo stopnjo razgradnje žveplo-vsebujočih aminokislin metionina in cisteina, to je oksidacijo sulfita do sulfata (Slika 4). Encim ima tudi pomembno vlogo pri zaščiti pred eksogenimi sulfiti in žveplovim dioksidom. Poškodbe centralnega živčevja, ki nastopijo pri pomanjkanju sulfit-oksidaže, so najverjetneje posledica kopičenja sulfitnih ionov, ki lahko kot močni nukleofili reagirajo z različni sestavinami celice, predvsem s proteini, kjer lahko cepijo disulfidne vezi in tiolne skupine cisteinskih preostankov pretvorijo v S-sulfonate, pri čemer se izgubi struktura in funkcija proteinov (20).

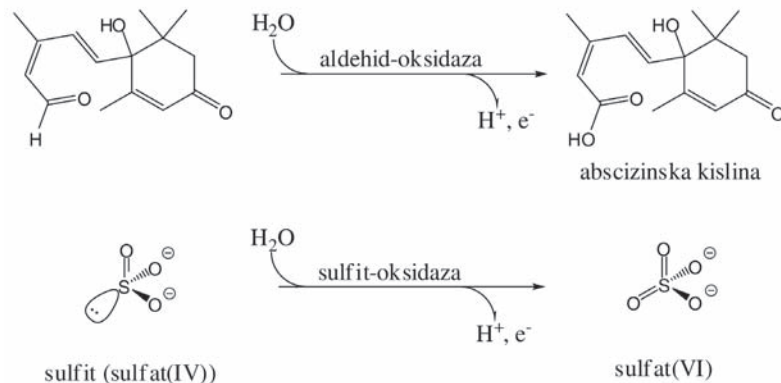
4 Toksičnost molibdenovih spojin

Zanesljivih podatkov o toksičnosti molibdenovih spojin pri ljudeh je malo in so omejene v glavnem na delavce v rudnikih, ki so izpostavljeni prašnim delcem. Pri dolgotrajnem vdihovanju se pojavijo klasične težave v dihalnem traktu, ki pa niso specifične za molibdenove spojine. V pomoč pri študijah so nam lahko živalski modeli, zlasti pri različnih vrstah goveda. Prehranjevanje s pritalnimi rastlinami bogatimi z molibdati sprva privede do povišanih koncentracij sečne kisline zaradi povečane aktivnosti ksantin-oksidaže. Sčasoma se zaradi tega pojavijo stanja, ki so podobna blagi obliki protina. Tudi pri rudarjih v ruskih rudnikih molibdena so z laboratorijskimi testi določili, da sta serumski koncentraciji molibdatov in sečne kisline za približno 30% višji kot pri ostali populaciji. Kliničnih znakov zastrupitve niso opazili pri nobenem preiskovancu. (21)

Pri govedu je najbolj znana povezava med metabolizmom molibdatov in bakrovih ionov. V prebavnem traktu lahko pri previsoki količini molibdatov nastanejo koordinativne spojine, ki vsebujejo poleg obeh ionov še sulfide in so praktično netopne. Posledično se bakrovi ioni iz



Slika 3: Reakcijski mehanizem ksantin-oksidaže.
Figure 3: The reaction mechanism of xanthine oxidase.



Slika 4: Primera reakcij, kataliziranih z aldehyd-oksidažo in sulfit-oksidažo.
Figure 4: Examples of reactions, catalysed by aldehyde oxidase and sulfite oxidase.

prebavnega trakta počasneje in v manjši meri absorbirajo, pri čemer lahko pride do anemije, izgube apetita, poslabšanja vida in slepote. Motnja je vsaj v začetni fazi reverzibilna in se lahko popravi, če govedo preselimo na področje, kjer je v tleh prisotna nižja koncentracija molibdatnih ionov (22, 23).

Za enostavne anorganske spojine molibdena tudi ni dokazano kancerogeno oziroma citotoksično delovanje, čeprav so bile nekatere koordinacijske spojine z organskimi ligandi (metaloceni) testirane tudi na protitumorno delovanje (24).

5 Sklepi

Molibden spada med esencialne mikroelemente, ki ga praktično vsi organizmi na Zemlji nujno potrebujejo za nemoten proces biokemičnih reakcij. Zasedimo ga v približno petdesetih encimih, ki so v glavnem prisotni v mikroorganizmih, tri izmed njih pa najdemo tudi pri sesalcih. Zlasti sulfit-oksidaza, ki sodeluje pri metabolizmu žveplo vsebujočih organskih spojin (tudi aminokislin cisteina in metionina) je za življenje nujno pomemben, motnje v njegovi biosintezi pa privedejo do stanj, ki niso kompatibilna z življenjem. Molibdena, zlasti v obliki molibdatnih ionov, zaužijemo z vsakodnevno prehrano bistveno več, kot ga potrebuje organizem, zato dodajanje molibdenovih spojin osnovni prehrani ni smiselno. Pri ljudeh razen v enem dokumentiranem primeru namreč niso znani primeri pomanjkanja samega elementa, oziroma natančneje, njegovih ionov, prav tako pa pri koncentracijah, ki smo jim vsakodnevno izpostavljeni, niso bili opaženi specifični toksični učinki.

6 Literatura

1. Obreza A. Vanadij v živem organizmu in farmaciji. *Farm Vestn* 2003; 54: 713-718.
2. Obreza A. Terapevtski pomen anorganskih borovih spojin in njihova toksičnost. *Farm Vestn* 2004; 55: 463-468.
3. Williams RJP. The biochemistry of molybdenum. *Stud Inorg Chem* 1994; 19: 419-51.
4. Pyrzynska K. Determination of molybdenum in environmental samples. *Anal Chim Acta* 2007; 590: 40-48.
5. Hille R. Molybdenum and tungsten in biology. *Trends Biochem Sci* 2002; 27: 360-367.
6. Williams RJP, Frausto da Silva JJR. The involvement of molybdenum in life. *Biochem Biophys Res Comm* 2002; 292: 293-299.
7. Holm RH. The biological relevant oxygen atom transfer of molybdenum. *Coord Chem Rev* 1990; 100: 183-222.
8. Bray RC. The nature of high pH – low pH transition in sulphite oxidase and nitrate reductase. *Polyhedron* 1986; 5: 591-595.
9. Turnlund JR, Keyes WR, Peiffer GI, et al. Molybdenum absorption, excretion, and retention studied with stable isotopes in young men during depletion and repletion. *Am J Clin Nutr* 1995; 61: 1102-1109.
10. Aburmad NN, Schneider AJ, Steel D, et al. Amino acid intolerance during prolonged total parenteral nutrition reversed by molybdate therapy. *Am J Clin Nutr* 1981; 34: 2551-2559.
11. Jelikić-Stankov M, Uskoković-Marković J, Holclajtner-Antunović I, et al. Compounds of Mo, V and W in biochemistry and their biomedical activity. *J Trace Elem Med Biol* 2007; 21: 8-16.
12. Mendel RR, Bittner F. Cell biology of molybdenum. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1763: 621-635.
13. Kozmin SG, Schaaper RM. Molybdenum cofactor-dependant resistance to N-hydroxylated base analogs in *Escherichia coli* is independent of MobA function. *Mutation Res* 2007; 619: 9-15.
14. Reiss J, Johnson JL. Mutations in the molybdenum cofactor biosynthetic genes MOCS1, MOCS2 and GEPH. *Hum Mutat* 2003; 21: 569-576.
15. Parks DA, Skinner KA, Skinner HB, et al. Multiple organ dysfunction syndrome: Role of xanthine oxidase and nitric oxide. *Pathophysiology* 1998; 5: 49-66.
16. Xia M, Ilich P, Dempski R, et al. Recent studies of the reductive half-reaction of xanthine oxidase. *Biochem Soc Trans* 1997; 25: 768-773.
17. Harrison R. Milk xanthine oxidase: Properties and physiological roles. *Int Dairy J* 2006; 16: 546-554.
18. Rajagopalan KV, Fridowich I, Handler P. Hepatic aldehyde oxidase I. Purification and properties. *J Biol Chem* 1962; 237: 922-928.
19. Thapper A, Rivas MG, Brondino CD, et al. Biochemical and spectroscopic characterisation of an aldehyde oxidoreductase isolated from *Desulfovibrio aminophilus*. *J Inorg Biochem* 2006; 100: 44-50.
20. Feng C, Tollin G, Enemark JH. Sulfite oxidizing enzymes. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1774: 527-539.
21. Internetna stran: <http://www.imoa.info>
22. Zatta P, Frank A. Copper deficiency and neurological disorders in man and animals. *Brain Res Rev* 2007; 54: 19-33.
23. Xiao-yun S, Guo-zhen D, Hong L. Studies of a naturally occurring molybdenum-induced copper deficiency in the yak. *Vet J* 2006; 171: 352-357.
24. Wearn JB, Harding MM. Bioorganometallic chemistry of molybdocene dichloride. *J Organomet Chem* 2004; 689: 4655-4668.