

TOMASZ KUBIAK

*Zakład Fizyki Medycznej
Wydział Fizyki Uniwersytet Adama Mickiewicza w Poznaniu
Umultowska 85, 61-614 Poznań
E-mail: tomekfizyk@wp.pl*

ROLA TRANSFERYNY W PRZECIWDZIAŁANIU STRESOWI OKSYDACYJNEMU INDUKOWANEMU WOLNYM ŻELAZEM W ORGANIZMIE I JEJ POTENCJALNE ZWIĄZKI Z ROZWOJEM NOWOTWORÓW

WSTĘP

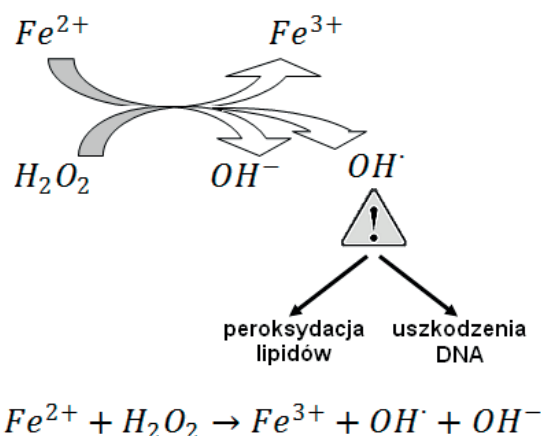
Żelazo, jako mikroelement i najbardziej rozpowszechniony metal przejściowy, w organizmie człowieka odgrywa różnorodne, ważne funkcje fizjologiczne: bierze udział w transporcie tlenu, wzroście komórek i przemianie energii, jest także wykorzystywane przez enzym reduktazę rybonukleotydu w procesie replikacji DNA. Codziennie 20-25 mg żelaza jest zużywane do syntezy hemoglobiny, z czego większość, pochodząca z uszkodzonych albo starzejących się erytrocytów, została przekazana z makrofagów jedno-

jądrzastych, śledziony i wątroby (SPODARYK 1998). Pozostała zaś część pochodzi z przewodu pokarmowego. W organizmie około 65% żelaza jest związane z hemoglobiną, 10% wchodzi w skład mioglobiny, cytochromów i enzymów, niecałe 25% jest natomiast przechowywane w postaci związanej z białkami magazynującymi ten metal (JOMOVA i VALKO 2011). Około 0,1% całkowitego żelaza w ustroju krąży w osoczu wraz z transferyną, która odpowiada za transport i dostarczanie tego metalu do komórek.

ZWIĄZKI METABOLIZMU Z ŻELAZA ZE STRESEM OKSYDACYJNYM

Żelazo spełnia doskonale swe funkcje, gdy jest związane z odpowiednimi białkami. Czasami jednak organizm jest nim przeładowany, co skutkuje pojawieniem się wolnego żelaza, które inicjuje reakcje wytwarzające reaktywne wolne rodniki. Niszczą one białka, lipidy i kwasy nukleinowe. Dla przykładu, obecność wolnego żelaza przyczynia się poprzez tzw. reakcję Fentona (Ryc. 1) do powstania reaktywnych form tlenu (ang. reactive oxygen species, ROS), w tym rodników hydroksylowych, mających zdolność przenikania przez błony jądrowe. Rodniki $\cdot\text{OH}$ prowadzą z kolei do tworzenia 8-okso-7,8-dihydro-2'-deoksyguanozyny, której obecność skutkuje mutacjami punktowymi w DNA i uważana jest za dobry wskaźnik stresu oksydacyjnego oraz

biomarker ryzyka raka (DZIAMAN i współaut. 2011). Niebezpieczne jest również oddziaływanie między wolnymi rodnikami a występującymi w błonach wielonienasyconymi kwasami tłuszczowymi. Peroksydacja lipidów skutkuje uszkodzeniami struktury komórek i zaburzeniem ich funkcji, a nagromadzenie defektów jest związane z różnymi schorzeniami, w tym z karcynogenezą (YUN-JUNG i współaut. 2009). Gdy stężenie żelaza przekracza możliwości wiązania go przez białka, zwiększa się nie tylko ryzyko zachorowania na nowotwory, ale też na choroby serca i układu nerwowego. Wolne żelazo w organizmie może ponadto wpływać na rozwój patogenów bakteryjnych, mających zdolność do jego sekwestracji. Dlatego niektórym stanom

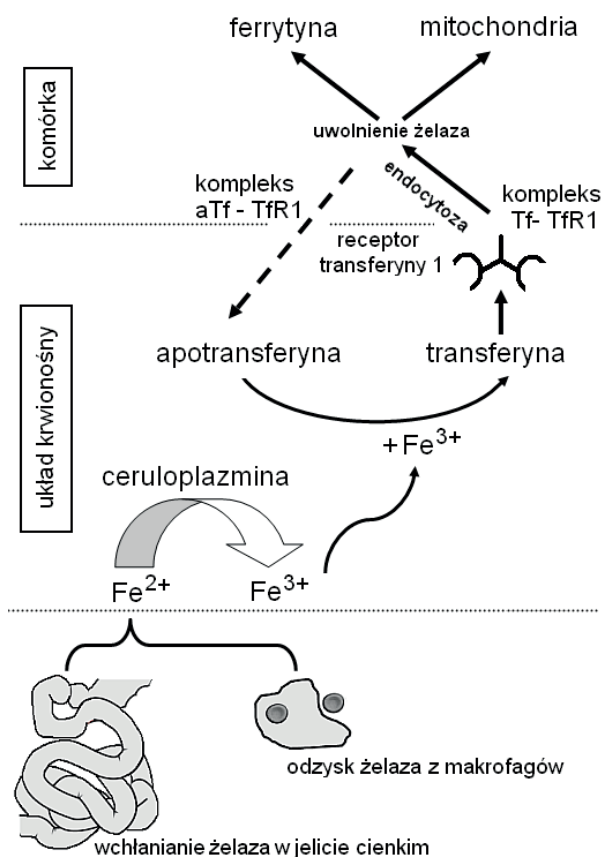


Ryc. 1. Przebieg reakcji Fentona i możliwe niepożądane skutki działania rodnika hydroksylowego na lipidy i DNA.

chorobowym (np. hemochromatozie) często towarzyszą infekcje bakteryjne (GOMME i MCCANN 2005). Ze względu na toksyczność wolnego żelaza jego pula w organizmie musi zostać zminimalizowana poprzez związanie z odpowiednimi białkami. Żelazo magazynowane jest w tkankach w niereaktywnej postaci przede wszystkim w ferrytynie, której cząsteczki w wewnętrznych niszach o wielkości 8 nm gromadzą do 4500 jonów żelaza (BERG i współaut. 2007). Ferrytyna występuje głównie w wątrobie i nerkach, natomiast w wątrobie, śledzionie i szpiku pojawia się też inne białko przechowujące żelazo – hemosyderyna. Białkiem wiążącym żelazo i transportującym je do tkanek jest natomiast transferyna, która wraz ze swym receptorem stanowi ważny element systemu obrony antyoksydacyjnej.

TRANSFERYNA – BUDOWA I FUNKCJA

Transferyna ludzka (Tf), która jest syntetyzowana głównie w wątrobie przez hepatocyty, ale także w komórkach glejowych, limfocytach, komórkach Sertolego czy gruczołu sutkowego, występuje w osoczu, gdzie jej stężenie wynosi 2–3 g/l, również w żółci, płynie owodniowym, mózgowo-rdzeniowym, mleku matki i limfie (GOMME i MCCANN 2005). W skład złożonej z 679 aminokwasów cząsteczki transferyny ludzkiej, oprócz pojedynczego łańcucha polipeptydowego, wchodzi też rozgałęzione węglowodanowe łańcuchy boczne. Cała struktura stabilizowana jest przez 19 wewnątrzcząsteczkowych mostków disiarczkowych. Molekuła transferyny posiada masę molekularną ok. 79 kDa i dzieli się na dwie ewolucyjnie spokrewnione części: płat N zbudowany z 336 aminokwasów oraz płat C złożony z 343 aminokwasów. Każdy płat zawiera dwie odmienne domeny (NI i NII w płacie N oraz CI i CII w płacie C), które oddziałują na siebie, tworząc hydrofilowe miejsce wiązania metalu. Transferyna krążąca we krwi przenosi dwa atomy żelaza na cząsteczkę, a szybkość jej syntetyzowania może być modulowana poziomem tego metalu w organizmie. Standardowo 60% występuje w postaci apotransferyny, czyli białka niewiążącego żelaza. Krąży ona w krwioobiegu do momentu napotkania wolnego żelaza w okolicy jelit albo żelaza z uszkodzonej hemoglobiny w makrofagach. Apotransferyna łatwo wiąże żelazo, ale należy pamiętać, że przyjmuje tylko jony Fe^{3+} . Jony Fe^{2+} przed



Ryc. 2. Mechanizm wychwytu i transportu Fe^{3+} przez transferynę oraz przekazywania jonów żelaza do komórek przy udziale receptora transferyny 1.

aTf – apotransferyna, Tf – transferyna, TfR1 – receptor transferyny 1.

związaniem muszą najpierw zostać utlenione przy udziale występującej w osoczu ceruloplazminy. W transferynie Fe^{3+} wiąże się w specjalnej wnęce z czterema resztami aminokwasowymi: dwoma tyrozynami, jedną histydyną i kwasem asparaginowym, a także z dwoma atomami tlenu pochodzącymi z synergistycznych anionów węglanowych. Przyłączeniu żelaza towarzyszy bowiem dołączenie anionu węglanowego lub dwuwęglanowego, a synergia oznacza, że ani metal, ani anion nie mogą być związane z transferyną jeden bez drugiego, co jest unikalną cechą tego białka (ADAMS i współaut. 2003). Ze względu na fakt, że u zdrowych osób jedynie 30–40% transferyny jest wysyczone żelazem, we krwi pojawiają się cztery formy jej cząsteczek: pozbawione żelaza, z jednym atomem Fe związanym z N-końcowym aminokwasem, z jednym atomem Fe związanym z C-końcowym aminokwasem albo z dwoma atomami Fe związanymi z N- i C-końcowymi aminokwasami (CYLWIK i współaut. 2006). Wysokie

wysycenie transferyny powoduje zwiększoną syntezę hepcydyny, hormonu, który jest negatywnym regulatorem metabolizmu żelaza, hamuje jego wchłanianie w jelicie cienkim i odzysk z makrofagów (ŻEKANOWSKA i współaut. 2011). Transferyna transportuje żelazo, by ostatecznie połączyć się z receptorem transferyny 1 (TfR1), zlokalizowanym na powierzchni komórek. Kompleks Tf-TfR1 trafia do wnętrza komórki na drodze endocytozy. Tam pompa protonowa, zależna od ATP, obniża pH w endosomie (do 5,5) poprzez wpompowanie do niego jonów H^+ . Ułatwia to uwolnienie żelaza, które następnie jest przenoszone do ferrytyny (w celu magazynowania) albo do mitochondriów (synteza hemu). Apotransferyna związana z receptorem wraca na powierzchnię komórki, gdzie neutralne pH powoduje uwolnienie jej do krwiobiegu i, tym samym, może być ponownie użyta. Rolę transferyny i jej receptora w metabolizmie żelaza zobrazowano na uproszczonym schemacie (Ryc. 2).

ROLA TRANSFERYNY W PROCESACH NOWOTWOROWYCH

Z racji faktu, iż transferyna dostarcza żelazo do aktywnie dzielących się komórek, może odgrywać rolę w rozroście guza nowotworowego. W przeciwieństwie do niedzielących się komórek, gdzie występuje bardzo mało receptorów transferyny, szybko proliferujące komórki nowotworowe zawierają nawet do 100 000 takich receptorów (GOMME i MCCANN 2005). Na przykładzie czerniaka i raka wątroby pokazano, że komórki nowotworów mogą także posiadać inny mechanizm wychwytu żelaza z transferyny na drodze pinocytozy, bez udziału receptora transferyny (RICHARDSON i współaut. 2009). Ponadto, np. komórki raka płuc, same produkują transferynę podobną immunologicznie i biochemicznie do tej normalnie wytwarzanej w organizmie (HIROTA i współaut. 2000). Podobna sytuacja ma miejsce w przypadku komórek raka piersi czy komórek przerzutowych czerniaka (GOMME i MCCANN 2005). Badania metodą elektronowego rezonansu paramagnetycznego wykazały niski poziom transferyny wiążącej żelazo w surowicy oraz bardzo wysoki poziom transferyny w tkance nowotworowej piersi u szczurów w szczytowym okresie wzrostu guza. Kiedy został on zahamowany, poziom transferyny w surowicy zwiększył się, a w tkance istotnie zmalał (ELLIOTT i współaut. 1993). Powyższe przy-

kłady wskazują na bardzo wysokie zapotrzebowanie na żelazo ze strony szybko proliferujących komórek nowotworowych, co może mieć związek z rolą tego pierwiastka w syntezie DNA i wysoką aktywnością reduktazy rybonukleotydu. U części chorych z nowotworami zaobserwowano przeładowanie żelazem, co skutkowało występowaniem u nich wysokiego poziomu wewnątrzkomórkowej puli wolnego żelaza (ang. labile iron pool, LIP), która, co warto przypomnieć, wpływa na produkcję reaktywnych form tlenu. Przeciążone żelazem były np. pacjentki z rakiem piersi, pomimo że miały niższe, całkowite spożycie tego pierwiastka, w porównaniu do grupy kontrolnej (YUN-JUNG i współaut. 2009). Przeładowanie organizmu żelazem, wzmacniające proces nowotworzenia poprzez przyspieszenie produkcji reaktywnych form tlenu, dotyczy głównie kobiet po menopauzie. Natomiast u młodych kobiet niedobór żelaza i niedokrwistość z niedoboru żelaza na skutek menstruacji są prawdopodobną siłą napędową zwiększania poziomu czynnika wzrostu śródbłonna naczyniowego (ang. vascular endothelial growth factor, VEGF), który powoduje angiogenezę przy nawrotach raka piersi (JIAN i współaut. 2011). Postuluje się, że jeśli niedobór żelaza w rzeczywistości ma związek z czynnikami proangioge-

nicznymi, suplementowanie żelaza młodym kobietom z rakiem piersi powinno skutkować zmniejszeniem produkcji VEGF (HUANG 2008). Jak pokazały badania, uzupełnianie żelaza u kobiet z niewielkim jego niedoborem prowadzi do stopniowego, ale znacznego spadku stężenia receptora transferyny oraz

wzrostu stężenia ferrytyny w surowicy, nie wpływa jednak istotnie na stężenie transferyny w osoczu (ZHU i HAAS 1998). Zwiększenie poziomu ferrytyny może być w przypadku młodych kobiet korzystne, gdyż udowodniono, iż to magazynujące żelazo białko jest inhibitorem VEGF (JIAN i współaut. 2011).

POTENCJALNE ZASTOSOWANIA TRANSFERYNY I JEJ RECEPTORA W LECZENIU RAKA

Znany jest fakt, że stężenie receptora transferyny w surowicy może służyć za czuły i wiarygodny wskaźnik funkcjonalnego niedoboru żelaza (ZHU i HAAS 1998). Ponadto, ze względu na fakt, że receptory transferyny 1 (TfR1) występują licznie na powierzchni komórek rakowych, mogą one być odpowiednim celem molekularnym dla nowoczesnych leków przeciwnowotworowych (RICHARDSON i współaut. 2009). Warto też dodać, że ze względu na liczne funkcje, sama transferyna też ma wiele potencjalnych za-

stosowań terapeutycznych, np. może służyć do sekwestracji wolnego żelaza w przypadku przeładowania nim organizmu czy precyzyjnie dostarczać leki w terapii celowanej (GOMME i MCCANN 2005). Dokładne poznanie mechanizmów odpowiedzialnych za metabolizm żelaza otwiera zatem nowe perspektywy na lepsze zrozumienie roli tego metalu w organizmie, zarówno u ludzi zdrowych, jak i dotkniętych chorobą nowotworową. Daje też nadzieję na opracowanie nowych, skuteczniejszych form terapii raka.

ROLA TRANSFERYNY W PRZECIWDZIAŁANIU STRESOWI OKSYDACYJNEMU INDUKOWANEMU WOLNYM ŻELAZEM W ORGANIZMIE I JEJ POTENCJALNE ZWIĄZKI Z ROZWOJEM NOWOTWORÓW

Streszczenie

Żelazo, o ile jest związane z odpowiednimi białkami, spełnia w organizmie wiele ważnych funkcji fizjologicznych. Jednak przeładowanie ustroju tym metalem może skutkować pojawieniem się wolnego żelaza, które jest zdolne do inicjowania reakcji wytwarzających reaktywne formy tlenu. Nagromadzenie się w komórkach defektów związanych z oddziaływaniem rodników na lipidy i DNA prowadzi do różnych schorzeń, także do karcynogenezy. Transferyna ludzka stanowi w tym przypadku podstawowe ogniwo systemu obrony antyoksydacyjnej, ze względu na fakt, że w krwioobiegu wyłapuje i wiąże żelazo, a następnie transportuje je w bezpiecznej formie

do tkanek. Z drugiej strony, transferyna, dostarczając jony Fe^{3+} do proliferujących w niekontrolowany sposób komórek, przyczynia się do rozwoju raka. O dużym zapotrzebowaniu komórek nowotworowych na żelazo świadczy ogromna ilość receptorów transferyny na ich powierzchni. Fakt ten może zostać wykorzystany przy tworzeniu leków, których nośnikiem byłaby transferyna, a celem molekularnym jej receptor. Poza tym istnieją potencjalne możliwości zastosowania transferyny do sekwestracji nadmiaru wolnego żelaza u osób, których organizm jest przeładowany tym pierwiastkiem.

THE ROLE OF TRANSFERRIN IN PREVENTING OXIDATIVE STRESS INDUCED BY FREE IRON IN THE BODY AND POTENTIAL CORRELATIONS BETWEEN TRANSFERRIN AND THE DEVELOPMENT OF CANCER

Summary

Iron bound to the corresponding proteins, fulfills several important physiological functions in the body. However, the system overload with this metal can result in the appearance of free iron ions, able to initiate reactions leading to formation of reactive oxygen species. The accumulation of cellular defects associated with the influence of radicals on lipids and DNA leads to various diseases, also to carcinogenesis. Under such circumstances, human transferrin functions as the basic element of antioxidant

defense system, due to the fact that it captures and binds iron in the bloodstream and transports it, in a safe form, to the tissues. On the other hand, transferrin, providing Fe^{3+} ions to cells which proliferate in uncontrolled way, contributes to the development of cancer. A huge number of transferrin receptors on the surface of tumor cells indicate their high requirement for iron. This fact can be used to create a new generation of drugs. The transferrin molecule would be their carrier and the transferrin receptor

would fulfil the function of molecular target. In addition, transferrin can also be used for sequestration

of an excess of free iron in people whose body is overloaded with this element.

LITERATURA

- ADAMS T. E., MASON A. B., HE Q.Y., HALBROOKS P. J., BRIGGS S. K., SMITH V. C., MACGILLIVRAY R. T. A., EVERSE S. J., 2003. *The Position of Arginine 124 Controls the Rate of Iron Release from the N-lobe of Human Serum Transferrin*. J. Biol. Chem. 278, 6027-6033.
- BERG J. M., TYMOCZKO J. L., STRYER L., 2007. *Biosynteza aminokwasów*. [W:] *Biochemia*. BERG J. M., TYMOCZKO J. L., STRYER L. (red.). Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 665-692.
- CYLWIK B., CHROSTEK L., SZMITKOWSKI M., 2006. *Nowe metody oznaczania izoform transferyny w diagnostyce uzależnienia od alkoholu*. Postepy Hig. Med. Dosw. 60, 101-112.
- DZIAMAN T., JURGOWIAK M., OLIŃSKI R., 2011. *Association between body iron stores and level of oxidatively modified DNA bases*. BioTechnologia 92, 159-165.
- ELLIOTT R. L., ELLIOTT M. C., WANG F., HEAD J. F., 1993. *Breast carcinoma and the role of iron metabolism. A cytochemical, tissue culture and ultrastructural study*. Ann. N. Y. Acad. Sci. 698, 159-166.
- GOMME P. T., MCCANN K. B., 2005. *Transferrin: structure, function and potential therapeutic actions*. Drug Discovery Today 10, 267-273.
- HIROTA Y., HAIDA M., MOHTARAMI F., TAKEDA K., IWAMOTO T., SHIOYA S., TSUJI C., HASUMI K., NAKAZAWA H., 2000. *Implication of ESR signals from ceruloplasmin (Cu^{2+}) and transferrin (Fe^{3+}) in pleural effusion of lung diseases*. Pathophysiology 7, 41-45.
- HUANG X., 2008. *Does iron have a role in breast cancer?* Lancet Oncol. 9, 803-807.
- JIAN J., YANG Q., DAI J., ECKARD J., AXELROD D., SMITH J., HUANG X., 2011. *Effects of iron deficiency and iron overload on angiogenesis and oxidative stress- a potential dual role for iron in breast cancer*. Free Radic. Biol. Med. 50, 841-847.
- JOMOVA K., VALKO M., 2011. *Advances in metal-induced oxidative stress and human disease*. Toxicology 283, 65-87.
- RICHARDSON D. R., KALINOWSKI D. S., LAU S., JANSSON P. J., LOVEJOY D. B., 2009. *Cancer cell iron metabolism and the development of potent iron chelators as antitumour agents*. Biochim. Biophys. Acta 1790, 702-717.
- SPODARYK K., 1998. *Metabolizm żelaza i jego udział w hemopoezie*. [W:] *Fizjologia krwi. Wybrane zagadnienia*. DĄBROWSKI Z. (red.). Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 158-173.
- YUN-JUNG B., JEE-YOUNG Y., CHUNG-JA S., HYUN-SOOK K., MI-KYUNG S., 2009. *Dietary intake and serum levels of iron in relation to oxidative stress in breast cancer patients*. J. Clin. Biochem. Nutr. 45, 355-360.
- ZHU Y. I., HAAS J. D., 1998. *Response of serum transferrin receptor to iron supplementation in iron-depleted, nonanemic women*. Am. J. Clin. Nutr. 67, 271-275.
- ŻEKANOWSKA E., BOINSKA J., GIEMZA-KUCHARSKA P., KWAPISZ J., 2011. *Obesity and iron metabolism*. BioTechnologia 92, 147-152.