

JOLANTA ARTYM, MICHAŁ ZIMECKI

*Zakład Terapii Doświadczalnej  
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN  
Weigla 12, 53-114 Wrocław  
E-mail: limbiol@iitd.pan.wroc.pl*

## ORGANIZM GOSPODARZA KONTRA DROBNOUSTROJE W WALCE O ŻELAZO. ROLA ŻELAZA W ZAKAŻENIACH

### WSTĘP

Żelazo jest składnikiem odżywczym niezbędnym do życia wszystkich istot: organizmów wyższych i mikroorganizmów. Jest konieczne do przebiegu większości procesów życiowych, stąd w odpowiednich ilościach musi być dostarczane do organizmu. Jednocześnie, jego nadmiar może prowadzić do uszkodzenia tkanek na skutek tworzenia toksycznych reaktywnych form tlenu (RFT). Stąd stężenia żelaza w ustroju muszą podlegać ścisłej regulacji. Obecnie wiemy, że u ssaków metabolizm żelaza jest kontrolowany przez dwa mechanizmy regulacyjne, bardzo rozbudowane i skomplikowane, ale niezwykle precyzyjne i skuteczne. Pierwszy działa na poziomie całego ustroju i jego podstawą są: wytwarzany w wątrobie hormon, hepcydyna, oraz białkowy eksporter żelaza z komórek, ferroportyna. Drugi mechanizm regulacyjny działa na poziomie komórki i obejmuje dwa cytoplazmatyczne białka (ang. iron regulatory proteins): IRP1 oraz IRP2, które wiążą się do swoistych sekwencji RNA, tzw. sekwencji reagujących na żelazo (ang. iron responsive elements, IREs) w obrębie mRNA białek ważnych w metabolizmie żelaza, jak: receptor transferyny (ang. transferrin receptor, TFR), przenośnik metali dwuwartościowych (ang. divalent metal transporter 1, DMT1), ferrytyna czy ferroportyna, regulując w ten sposób ich ekspresję. Te niezwykle ciekawe, ale i skomplikowane zagadnienia regulacji metabolizmu żelaza zastały omówione w innych artykułach w tym zeszycie KOSMOSU oraz innych, doskonałych pracach przeglądowych

(LIPIŃSKI i STARZYŃSKI 2006, ANDREWS 2008, VIATTE i VAULONT 2009, HENTZE i współaut. 2010, GANZ i NEMETH 2012).

Drobnoustroje zasiedlające organizm wyższy (gospodarza, w tym przypadku ssaka) korzystają z jego zasobów żelaza. Dzięki temu mogą żyć i namnażać się, co warunkuje ich rozprzestrzenienie się w zajęтым organizmie. Nie jest to łatwe, bo gospodarz skrzętnie chroni swoje żelazo. Ponieważ żelazo nie jest łatwo dostępne dla patogenów, a jego zdobycie oznacza możliwość przeżycia, wykształciły one różnorodne strategie jego zdobywania w organizmie gospodarza. Organizm żywiciela zwykle nie jest zbyt przychylnym środowiskiem życia dla drobnoustrojów. Napotykają tu nie tylko trudności w zdobyciu składników odżywczych (w tym żelaza), ale też są narażone na zniszczenie przez elementy układu odpornościowego, swoistej armii dobrze wyposażonych i sprawnie dowodzonych żołnierzy, komórek odpornościowych. Jednym z czynników warunkujących aktywność układu immunologicznego jest żelazo. W ten sposób żelazo nie tylko bezpośrednio wpływa na rozwój zakażenia (będąc składnikiem odżywczym dla drobnoustrojów), ale też pośrednio reguluje ten wzrost wpływając na kondycję układu odpornościowego gospodarza. Jeden z rozdziałów artykułu poświęcono zatem roli żelaza w funkcjonowaniu przeciwwakażnej odpowiedzi immunologicznej. Omówiono ponadto sposoby pozyskiwania żelaza przez drobnoustroje bytujące w organizmie żywiciela oraz strategie, dzięki którym chroni on

zasoby swojego żelaza przed zasiedlającymi go drobnoustrojami. Przedstawiono również związek między chorobami infekcyjnymi a statusem żelaza w ustroju oraz aktualne stra-

tegie leczenia stanów spichrzania żelaza oraz jego funkcjonalnego niedostatku w anemii stanu zapalnego.

### DLACZEGO ŻELAZO JEST TAK WAŻNE?

Metale, które mają niesparowane elektrony na powłokach wewnętrznych są nazywane metalami przejściowymi (należą do czwartego okresu, bloku *d* układu okresowego pierwiastków). Większość z nich (żelazo, miedź, nikiel, kobalt, mangan, wanad, chrom, cynk) w drodze trwającej miliony lat molekularnej ewolucji zyskała niezwykle ważną pozycję w życiu wszystkich organizmów. Pełnią wiele istotnych funkcji biologicznych ze względu na swoje właściwości donorów/akceptorów elektronów oraz interakcje z wieloma cząsteczkami, w tym z tlenem. Zaliczane są do pierwiastków śladowych (mikroelementów) ze względu na małą zawartość w ustroju oraz niewielkie dzienne zapotrzebowanie.

Ze względu na powszechność występowania w naturze, żelazo ma większy udział w fizjologii różnych organizmów niż inne metale przejściowe. Jest najpowszechniej występującym w organizmie metalem przejściowym. Jak one wszystkie, żelazo występuje w dwóch stanach utlenienia: w postaci jonów żelazawych ( $\text{Fe}^{2+}$ ; ang. ferrous ion), czyli postaci zredukowanej oraz jonów żelazowych ( $\text{Fe}^{3+}$ ; ang. ferric ion), czyli postaci utlenionej. Może więc być zarówno akceptorem, jak i donorem elektronów dla różnych ligandów, co warunkuje jego dużą reaktywność, a zatem udział w wielu przemianach metabolicznych. Zmiana stanów utlenienia zapewnia nie tylko udział żelaza w procesie przekazywania elektronów, ale też umożliwia odwracalne wiązanie różnych ligandów (dzięki niezapełnionym przez elektrony orbitalom podpowłoki elektronowej *d*). Ligandy „preferowane” przez żelazo to atomy: tlenu, azotu i siarki. Układy biologiczne, w skład których wchodzi jony  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  charakteryzuje duża zmienność potencjału oksydoredukcyjnego (redox). Dla układu  $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}^{3+}$  wartość ta wynosi -770 mV, ale jest silnie modyfikowana przez ligandy wiążące żelazo, w tym przez ładunek elektryczny i strukturę przestrzenną aminokwasów w jego bliskim sąsiedztwie. I tak, wartość potencjału redoks dla różnych białkowych centrów aktywnych zawierających żelazo może się wahać w szerokim zakresie, od około +1000 mV dla niektórych

białek hemowych, do około -550 mV dla niektórych bakteryjnych ferroksoydaz. Wartość potencjału redoks określa, który z dwóch układów, które się zetkną ze sobą, będzie utleniaczem, a który reduktorem. Tak duży zakres potencjałów redoks układów zawierających żelazo powoduje, że układy te mogą być zarówno utleniaczami, jak i reduktorami dla wielu różnych układów biologicznych, a zatem warunkuje niezwykle reaktywność chemiczną żelaza.

Żelazo pełni funkcję kofaktora wielu enzymów, takich jak m.in.: oksydoreduktaza dinukleotyd nikotynamidoadeninowy-koenzym Q (dehydrogenaza NADH), oksydoreduktaza bursztynian-koenzym Q (dehydrogenaza bursztynianowa) i białko Rieskiego (składnik oksydoreduktazy koenzym Q-cytochrom *c*), uczestniczących w przenoszeniu elektronów w łańcuchu oddechowym, akonitaza mitochondrialna (uczestnicząca w cyklu Krebsa) czy reduktaza rybonukleotydowa (uczestnicząca w syntezie i naprawie DNA). Żelazo jest niezbędnym składnikiem białek oddechowych (wiążących i transportujących tlen): występującej w erytrocytach hemoglobiny (Hb) i obecnej w mięśniach mioglobiny. Białka te są nazywane hemoproteinami, bo ich grupą prostetyczną jest hem. Grupy hemowe obu białek zawierają jony  $\text{Fe}^{2+}$  i tylko w takiej postaci mogą odwracalnie wiązać i przenosić tlen. Hem jest też składnikiem cytochromów (a, b, c, P-450), białek przenoszących elektrony w łańcuchu oddechowym, oraz katalazy, enzymu rozkładającego nadtlenek wodoru ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ).

Żelazo zatem uczestniczy we wszystkich istotnych procesach życiowych, w tym oddychania tlenowego, tworzenia i detoksyfikacji RFT, unieszkodliwiania różnych związków, w tym ksenobiotyków (np. trucizn i leków), syntezy i katabolizmu różnych związków (m.in. hormonów, kolagenu, mieliny, neuroprzekaźników, kwasów nukleinowych, hemu), reakcjach odpornościowych czy regulacji cyklu życiowego komórek (poprzez wpływ na ekspresję niektórych genów, np. kinazy białkowej C, syntazy tlenu azotu czy białka p21) (AISEN i współaut. 2001, BEARD 2001, LIEU i współaut. 2001).

## JAK ORGANIZM STRZEŻE SWOJEGO ŻELAZA?

Żelazo jest niezbędne do życia prawie wszystkich organizmów: drobnoustrojów (bakterii, grzybów, pierwotniaków) i organizmów wyższych. Jedyne znane organizmy, które mogą „obejść się” bez żelaza to bakterie: niepatogenne z rodzaju *Lactobacillus* oraz patogenne *Borrelia burgdorferi*. Te mikroorganizmy zamiast żelaza wykorzystują mangan, który pełni analogiczne funkcje ko-faktora wielu procesów życiowych, jak żelazo u pozostałych organizmów (WEINBERG 1997, 2009a). Organizm ssaka zasiedla bardzo liczna populacja drobnoustrojów należących do różnych rodzajów i gatunków, które razem tworzą tzw. mikrobiom. Na przykład wszystkie drobnoustroje zasiedlające organizm ludzki aż 10-krotnie przekraczają liczbę komórek budujących ludzkie ciało; mikrobiom człowieka składa się z około  $10^{14}$  komórek, co w przeliczeniu na wagę daje około 2–2,5 kg. Najliczniejsza populacja drobnoustrojów (głównie bakterii i grzybów) zasiedla nasze górne drogi oddechowe (130 gatunków) i przewód pokarmowy (110 gatunków), nieco mniej liczna – drogi moczowo-płciowe (70 gatunków) oraz skórę, oczy i uszy (48 gatunków). Z zasobów żelaza w organizmie gospodarza korzystają zarówno drobnoustroje komensalne (symbiotyczne), które zwykle nie są dla niego groźne, a nawet pożyteczne (jak probiotyczne bakterie jelitowe), ale też drobnoustroje patogenne, które pasożytują w ustroju żywiciela, wyrządzając mu szkodę (powodując chorobę lub śmierć) (ARTYM i ZIMECKI 2013). Drobnoustroje komensalne zużywając żelazo zmniejszają jego zasoby i tym samym dostępną dla patogenów. W taki sposób, na zasadzie konkurencji, ograniczają rozwój mikroflory patogennej. Problemem z punktu widzenia naszego zdrowia jest natomiast nabywanie żelaza przez tę ostatnią grupę mikroorganizmów.

## BIAŁKA CHELATUJĄCE ŻELAZO

Żelazo jest „łakomym kąskiem” dla drobnoustrojów, zatem organizm rozwinął różne strategie, by go przed nimi ukryć. Głównym ich celem jest usunięcie ze środowiska wewnętrznego wolnych jonów żelaza, które mogą być łatwo pobierane przez komórki patogenów. Wolne żelazo jest wiązane przez różne związki (głównie białka), które nazywamy chelatorami (związkami chelatującymi, które mocno chwytają jony metali, jakby szczypcami; z gr. *chele* – szczypce). Do naj-

ważniejszych białkowych chelatorów żelaza wytwarzanych przez ssaki zaliczamy: transferynę (TF; in. serotransferynę), laktoferynę (LF; in. laktotransferynę) – wspólnie nazywane siderofilinami oraz ferrytynę. W białku jaj ptasich i gadzich znajdziemy natomiast konalbuminę (owotransferynę). Białko to odkryto już w 1889 roku, a jego zdolność hamowania wzrostu licznych mikroorganizmów poprzez chelatowanie żelaza dostrzeżono w 1944 roku – to dało początek badaniom roli żelaza w zakażeniach (WEINBERG 1978, 2009a).

**Transferyna** jest wytwarzana głównie w wątrobie i obecna w płynach ustrojowych (w osoczu krwi w stężeniu 1,8–3,3 mg/ml). **Laktoferyna** natomiast znajduje się głównie w wydzielinach ustrojowych (mleku, łzach, wydzielinach dróg oddechowych, moczowo-płciowych, przewodu pokarmowego, żółci, moczu, kale, pocie, woskowninie usznej) wytwarzana przez komórki nabłonkowe tworzące błony śluzowe całego ustroju. W mniejszych ilościach natomiast jest obecna w osoczu krwi (w stężeniu około 0,2–0,5 µg/ml), dokąd jest uwalniana podczas degranulacji granulocytów obojętnochłonnych (neutrofilów), które są drugim źródłem tego białka w ustroju. LF wykazuje wiele zróżnicowanych właściwości, w tym działanie przeciwmikrobiologiczne oraz immunoregulacyjne, z których tylko część wynika ze zdolności sekwestrowania jonów żelaza (ARTYM 2012, VOGEL 2012, ARTYM i ZIMECKI 2013). LF i TF należą do jednej z większych rodzin białek wiążących i transportujących żelazo w ustroju, czyli transferyn (siderofilin). Oba białka to glikoproteiny o masie molekularnej około 80 kDa, zbudowane z dwóch homologicznych płatów: N- i C-końcowego. Każdy z nich może uformować specjalny rowek, w którym wiąże po jednym jonie żelazowym ( $Fe^{3+}$ ), czyli łącznie jedna cząsteczka każdego z białek może przyłączyć po 2 takie jony. LF wiąże jony żelaza mocniej, czyli z większym powinowactwem ( $K_d \sim 10^{-22}$ – $10^{-24}$  M) niż TF ( $K_d \sim 10^{-20}$ – $10^{-21}$  M) oraz zachowuje je w bardziej kwaśnym środowisku (pH  $\sim 3,5$ – $4,0$ ) w porównaniu z TF (pH  $\sim 6,0$ – $6,5$ ) (MAJKA i współaut. 2013). W organizmie znajdziemy obok siebie cząsteczki TF i LF w trzech postaciach: niezwiązanej z żelazem (apo-TF i apo-LF) i związanej z jednym lub dwoma jonami żelaza (odpowiednio postaci monoferyczne lub dwuferyczne). Całkowicie wysyczone żelazem (czyli dwuferyczne) cząstecz-



ki TF i LF określamy mianem, odpowiednio, holo-TF i holo-LF. To, która z postaci występuje w przewodzie zależy od stężenia żelaza w surowicy. W warunkach prawidłowych (w stanie zdrowia) cząsteczki obu białek są wysyczone żelazem w niewielkim stopniu. Obecnie dysponujemy dokładnymi danymi dla TF: około 47–58% TF w organizmie ludzkim występuje w postaci monoferrytycznej, 16–52% w postaci apo-TF, a jedynie 2–31% w postaci TF dwuferrytycznej, w zależności od badanej próbki krwi (LEIBMAN i AISEN 1979). Ogólnie przyjmuje się, że w stanie zdrowia około 30% TF jest wysyczonej żelazem. Wysycenie <16% wskazuje na niedobór żelaza, a wysycenie >45% jest sygnałem nadmiaru żelaza w ustroju (przeładowania żelazem). Gdy wysycenie TF przekracza 60%, w krążeniu gromadzi się żelazo w postaci niezwiązanej z TF, co prowadzi do uszkodzenia tkanek i narządów (HENTZE i współaut. 2010). Takich dokładnych danych na temat wysycenia nie ma obecnie dla LF, ale przyjmuje się, że ludzka LF jest wysyciona żelazem w około 10–20%, a duże podobieństwa obu białek sugerują, że również istotny procent LF występuje w ustroju w postaci apo- lub monoferrytycznej (MAJKA i współaut. 2013). Jak więc widać, w warunkach fizjologicznych, oba białka są gotowe do związania dodatkowych ilości żelaza, które mogą trafić do płynów/wydzielin ustrojowych.

TF jest najważniejszym nośnikiem żelaza w organizmie, choć jest z nią związana jego niewielka ilość – jedynie niespełna 1% (około 4 mg) ogólnoustrojowej ilości żelaza. Rolą TF jest dostarczenie, za pomocą swoistych receptorów, żelaza do komórek ustroju, głównie tych, które najbardziej go potrzebują, czyli prekursorów erytrocytów w szpiku kostnym. Również LF dostarcza żelazo do komórek, choć są to głównie hepatocyty i makrofagi układu siateczkowo-śródbłonkowego (ang. reticulo-endothelial system, RES), gdzie dostarczone żelazo wchodzi do jego wewnątrzkomórkowych magazynów (ARTYM 2008).

Ferrytyna to główne białko magazynujące żelazo w ustroju. Znajdziemy je głównie w przestrzeni wewnątrzkomórkowej (w cytoplazmie), choć niewielkie jej ilości znajdują się też w osoczu krwi (wzrastają podczas zakażenia i stanu zapalnego) (LIPiŃSKI i współaut. 1991). Ferrytyna to duże białko o masie molekularnej 450 kDa. Składa się z aż 24 peptydowych podjednostek, a każda z tych podjednostek z dwóch łańcuchów:

lekkiego (L) i ciężkiego (H). Teoretycznie, jedna cząsteczka ferrytyny może związać aż 4500 jonów  $Fe^{3+}$ . W stanie zdrowia jest jednak wysyciona żelazem jedynie w około 20% (zajętych jest około 800 z 4500 wszystkich miejsc wiązania żelaza). Białkowe łańcuchy tworzą jakby kulistą osłonkę (skorupkę), wewnątrz której jest odkładane żelazo, tworząc mineralny rdzeń tej ferrytynowej kuli. Żelazo jest tu „składowane” w postaci wodorotlenku skompleksowanego z fosforanem i stanowi niejako ustrojowy magazyn żelaza, skąd może być ono łatwo uwolnione w razie potrzeby. Łańcuch L uczestniczy w wiązaniu żelaza, natomiast łańcuch H ma aktywność ferroksoksydazy i utlenia jony  $Fe^{2+}$  do  $Fe^{3+}$ , co umożliwia ich magazynowanie. Ferrytyna jest więc niezwykłym białkiem, bo przechowuje substrat, który sama sobie wcześniej przygotowuje. Ferrytyna jest również prekursorem hemosyderyny, heterogenego agregatu żelaza, składników lizosomów i innych produktów trawienia wewnątrzkomórkowego, głównie w makrofagach wątroby (komórkach Kupffera). Stąd jony  $Fe^{3+}$  są uwalniane znacznie wolniej niż z ferrytyny. Z całej puli żelaza, która w organizmie dorosłego człowieka stanowi 3,5–4,2 g, aż 20–30% jest zgromadzone w magazynach w postaci ferrytyny i hemosyderyny, głównie w hepatocytach i makrofagach wątroby. 95% wątrobowych zapasów żelaza znajduje się w ferrytynie, a pozostałe 5% – w hemosyderynie, choć jej ilość może wzrastać nawet kilkudziesięciokrotnie w sytuacji przeładowania organizmu żelazem (np. hemochromatozie czy niedokrwistości złośliwej). Biologiczne znaczenie obecności niewielkich ilości ferrytyny w osoczu krwi nie jest dotąd znane, choć ma niewątpliwie wartość praktyczną, służąc jako wskaźnik ustrojowych zapasów żelaza: niskie stężenia ferrytyny (<12  $\mu g/l$ ) we krwi wskazują na niedobór żelaza (BEARD 2001, ANDREWS 2008, BARTOSZ 2013, LIPiŃSKI i współaut. 2014).

Żelazo z ferrytyny uwalniane jest w wyniku redukcji, po jej proteosomalnej degradacji w kwaśnym środowisku. Dotąd fizjologiczny reduktor żelaza zgromadzonego w ferrytynie nie jest znany, ale z testów *in vitro* wiemy, że mogą to być m.in.: anionorodnik ponadtlenkowy ( $O_2^{\cdot -}$ ), askorbinian, tlenek azotu, 6-hydroksydopamina, zredukowane flawiny oraz wiele ksenobiotyków wchodzących w cykle redoks (HENTZE i współaut. 2010, BARTOSZ 2013). Większość żelaza uwolnionego z ferrytyny pozostaje w komórce, ale ferrytyna może być też źródłem pewnych ilości wol-

nego żelaza w krążeniu. Żelazo uwolnione z ferrytyny, jak również to świeżo dostarczone do komórki przez TF, wchodzi do tzw. puli labilnego żelaza (ang. labile iron pool, LIP). Tu znajduje się przeważnie żelazo w postaci rozpuszczalnych jonów  $Fe^{2+}$  wykorzystywanych w różnych procesach metabolicznych komórki i uczestniczących w reakcjach redoks (stąd ich udział w tworzeniu RFT). Ilość żelaza w LIP jest mała i stanowi jedynie <5% całkowitego żelaza komórkowego (jego stężenie nie przekracza  $1 \mu M$ ) (BARTOSZ 2013, LIPIŃSKI i współaut. 2014). Organizm ogranicza wielkość tej puli, by ochronić się przed groźnymi w zbyt dużych ilościach RFT oraz ograniczyć dostępność do żelaza drobnoustrojom, które pasożytują wewnątrz komórek.

Wśród innych białek, które mogą chelatować jony żelaza są również: albumina osocza, haptoglobina i hemopeksyna. Albumina to główne białko osocza. Występuje we krwi w dużym stężeniu (50 mg/ml) i ma zdolność słabego wiązania jonów żelaza, może również wiązać hem. Należy do białek ostrej fazy, czyli takich, które powstają szybko (w ciągu kilku godzin) w odpowiedzi na silne urazy, zakażenia i zapalenie. Do białek ostrej fazy należy również haptoglobina (obecna w osoczu w stężeniu 0,5–3,6 mg/ml), która wiąże Hb i methemoglobinę (czyli niezdolną do wiązania tlenu Hb z jonem  $Fe^{3+}$  zamiast  $Fe^{2+}$ ) i na drodze endocytozy trafia do makrofagów RES. Kolejne białko osocza, hemopeksyna (obecna w osoczu w stężeniu 0,6–1,0 mg/ml) z kolei silnie wiąże wolny hem i ulega endocytozie przez makrofagi, hepatocyty i inne komórki (HENTZE i współaut. 2010, BARTOSZ 2013). Niektórzy badacze do białek ostrej fazy zaliczają również pozostałe chelatory żelaza: TF, LF oraz ferrytynę. Celem ich syntezy przez ustrój poddany stresowi jest ochrona nie tylko przed toksycznymi wolnymi rodnikami, ale też wyłapywanie niezwiązanego żelaza, również tego uwolnionego z hemu i hemoglobiny/mioglobiny z uszkodzonych erytrocytów/miocytołów oraz innych zniszczonych komórek organizmu i drobnoustrojów. Żelazo hemowe jest najpowszechniejszą postacią żelaza w ustroju (około 70–75% całkowitej puli żelaza) i jest ważnym potencjalnym źródłem żelaza jonowego we krwi i innych płynach ustrojowych. Nie dziwi zatem, że organizm zapewnił sobie wieloraką ochronę przed skutkami uwolnienia żelaza (często w dużych ilościach) z tych białek.

Innym białkiem zaliczanym do białek ostrej fazy, które wprawdzie nie sekwestruje jonów żelaza, lecz jony miedzi, jest ceruloplazmina (Cp). Wytwarzana jest w wątrobie i uwalniana do krwi, gdzie występuje w stężeniu 0,18–0,40 mg/ml. Wykazuje aktywność ferrokazydazową utleniając jony  $Fe^{2+}$  do  $Fe^{3+}$ , co chroni nie tylko przed powstawaniem  $O_2^-$ , ale też ogranicza ilość rozpuszczalnych jonów  $Fe^{2+}$  na rzecz nierozpuszczalnych, czyli trudniej dostępnych, jonów  $Fe^{3+}$ . Cp włącza z powrotem do ferrytyny uwolnione z niej jony żelaza. Natomiast uwolnione z komórki jony  $Fe^{3+}$  są wiązane przez białka transportujące: TF lub LF. Cp ogranicza w ten sposób ilość łatwo dostępnego dla drobnoustrojów żelaza, zarówno w cytozolu, jak i na zewnątrz komórki (BARTOSZ 2013).

Poza białkami chelatującymi żelazo organizm wytworzył inne sposoby ograniczania dostępności żelaza dla patogenów, które uruchamia podczas infekcji. Wzrost temperatury ciała (gorączka) obniża stężenie żelaza we krwi, co sprzyja wygaszeniu zakażenia. W czasie gorączki drobnoustroje gorzej się namnażają i wytwarzają mniej czynników wirulencji, np. egzotoksyn czy sideroforów (dzięki czemu pozyskują mniej żelaza) (WEINBERG 1978, BULLEN 1981). Jednocześnie, wyższa temperatura nie przeszkadza komórkom gospodarza w gromadzeniu żelaza: stwierdzono na przykład, że królicze makrofagi płucne akumulują żelazo równie skutecznie w temperaturze  $37^\circ C$ , jak i  $40^\circ C$ . Niektóre cytokiny uwalniane w znacznych ilościach podczas zakażenia/zapalenia: interleukina (IL)-6, IL-1, interferon (IFN)- $\gamma$  czy TNF- $\alpha$  (ang. tumor necrosis factor- $\alpha$ ) zmniejszają ekspresję receptora TF na powierzchni makrofagów, co uniemożliwia pobór żelaza do komórki i ogranicza możliwość wzrostu patogenów wewnątrzkomórkowych (m.in. *Shigella* sp., *Salmonella* sp., *Brucella* sp., *Mycobacterium* sp., *Legionella pneumophila*, *Francisella tularensis*, *Listeria monocytogenes*, *Chlamydia pneumoniae*, *Plasmodium falciparum*, *Toxoplasma gondii*) (BYRD i HORWITZ 1989, ARTYM 2010). Przeciwnie do infekcji patogenami zewnątrzkomórkowymi, w czasie zakażeń tymi drobnoustrojami korzystne jest zmniejszenie ilości żelaza dostępnego wewnątrz komórki fagocytującej (a właściwie fagosomu, w którym znajdują się najeźdźcy). Tu duża rola obronna przypada IFN- $\gamma$ , który poza zmniejszeniem ekspresji TFR, zwiększa ekspresję ferroportyny, ułatwiając wypływ żelaza z komórki. Indukuje też hemową oksy-

Tabela 1. Systemy ochrony żelaza używane przez organizm gospodarza.

	Gospodarz
	Rodzaj białka/innego czynnika lub reakcji
Czynniki wytwarzane konstytutywnie (w czasie zdrowia i choroby)	TF (siderofilina) głównie w płynach ustrojowych
	LF (siderofilina) głównie na powierzchni śluzówek
	Albumina w surowicy krwi
	Haptoglobina w surowicy krwi
	Hemopeksyna w surowicy krwi
	Cp w surowicy krwi i komórkach
	Ferrytyna w komórkach
	<b>Odpowiedź na patogeny zewnątrzkomórkowe:</b>
Czynniki uruchamiane podczas odpowiedzi na zakażenie/uraz	Rozwój niedokrwistości/anemii zapalenia:
	- ograniczenie wchłaniania żelaza z przewodu pokarmowego i wypływu z komórek magazynujących w wątrobie i śledzionie
	- wzrost ekspresji ferrytyny, wzrost ekspresji hepcydyny, inaktywacja ferroportyny
	- spadek stężeń surowiczego żelaza, wzrost ilości żelaza w magazynach ustrojowych
	- zmniejszenie dostępności żelaza dla patogenów zewnątrzkomórkowych
	Zwiększone uwalnianie LF z naciekających neutrofilów i wiązanie przez nią żelaza
	Zwiększone uwalnianie haptoglobiny, hemopeksyny i albuminy przez wątrobę
Wytwarzanie lipokalin (np. Lcn2)	
Wzrost temperatury ciała	
Aktywacja odpowiedzi humoralnej, zwiększone wytwarzanie immunoglobulin przeciwko sideroforam oraz białkom patogenów wiążącym Hb, hem, siderofiliny gospodarza	
	<b>Odpowiedź na patogeny wewnątrzkomórkowe:</b>
	Zwiększone wytwarzanie IFN- $\gamma$ , NO $\cdot$ , Nramp1 i hemowej oksigenazy 1 oraz obniżona ekspresja TFR na powierzchni makrofagów (zmniejszenie dostępności żelaza dla patogenów w komórce i aktywacja odpowiedzi bójczej)

genazę 1, enzym rozkładający wewnątrz komórki hem (by żelazo hemowe mogło być związane z ferrytyną lub usunięte z komórki i nie było zużyte przez patogen), białko Nramp1 (przenośnik żelaza z fagosomu do cytoplazmy) oraz lipokalinę 2 (białko wiążące siderofory). IFN- $\gamma$  indukuje również tworzenie tlenku azotu (NO $\cdot$ ), ważnej cząsteczki, która bezpośrednio zaburza metabolizm

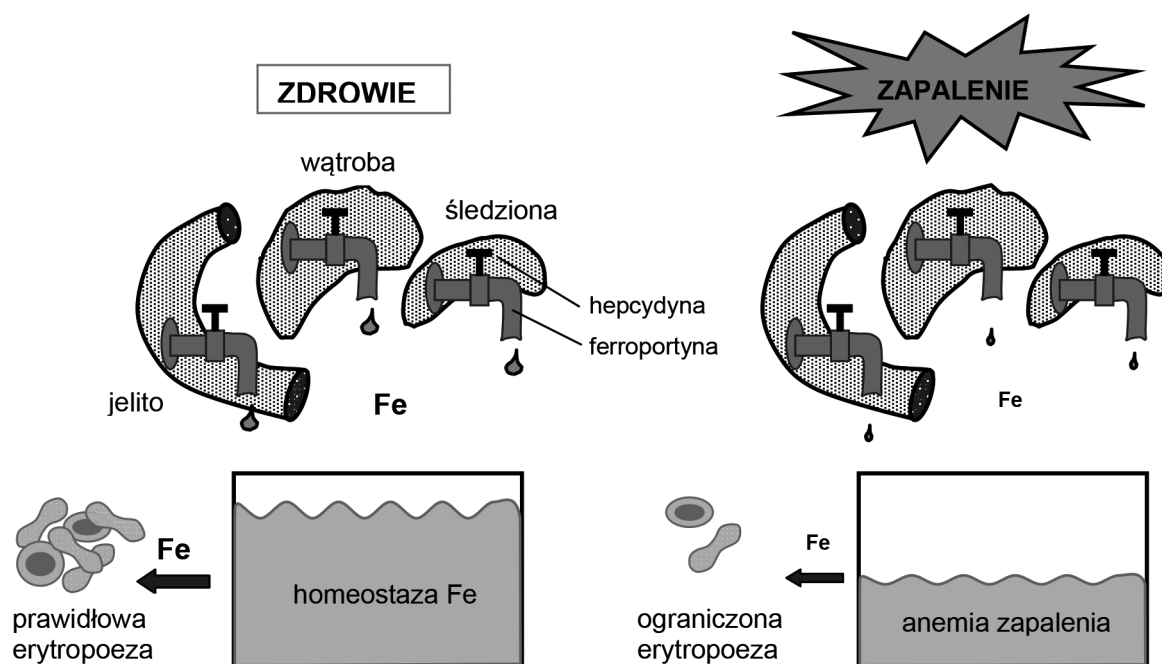
patogenów, ale też jest aktywatorem innych cząsteczek odpornościowych. Indukcja cytokin typu Th2 (IL-4, IL-5, IL-10) i odpowiedzi humoralnej łączy się z wytwarzaniem immunoglobulin, które mogą wiązać i neutralizować siderofory czy wytwarzane przez mikroby białka wiążące siderofiliny czy Hb gospodarza. Wszystkie te działania mają ograniczyć dostępność żelaza dla patogenów (Tabela 1)

(WEINBERG 1999, 2009a; COLLINS 2003; NAIRZ i współaut. 2007; WESSLING-RESNICK 2010).

#### ANEMIA ZAPALENIA (CHOROÓB CHRONICZNYCH)

Organizm, w którym toczy się proces zapalny odpowiada obniżeniem surowiczych stężeń żelaza, czyli rozwojem hipoferremii (sideropenii, hiposideremii). Na występowanie tego zjawiska zwrócili uwagę, już na początku lat 30. ubiegłego wieku, LOCKE i współpracownicy (1932), którzy zauważyli hipoferremię u pacjentów z gruźlicą płuc. Kilkanaście lat później Cartwright i współpracownicy opisują zjawisko hipoferremii w odpowiedzi na infekcję, rozrost nowotworowy, uszkodzenie narządów, szok i inne przyczyny, które prowadzą do aktywacji układu odpornościowego i rozwoju odpowiedzi zapalnej. Obserwowany jest spadek stężenia żelaza we krwi, z jednoczesną jego akumu-

lacją w magazynach tkankowych: wątrobie i śledzionie. Spada ilość żelaza wchłanianego z pokarmu, ograniczone jest dostarczanie żelaza do szpiku kostnego i tworzenie nowych erytrocytów (CARTWRIGHT i współaut. 1946, CARTWRIGHT 1966). Dlatego, choć początkowo hipoferremia jest umiarkowana i nie przekłada się na zmiany w ilości erytrocytów czy Hb, może ostatecznie prowadzić do rozwoju anemii (niedokrwistości), czyli stanu, gdzie ulega obniżeniu liczba krwinek czerwonych oraz ilość Hb we krwi, choć krwinki zwykle są normocytowe (czasem mikrocytowe) i normobarwliwe. Ten stan jest określany jako anemia zapalenia lub anemia chorób chronicznych (ang. anemia of inflammation lub anemia of chronic diseases). Anemia jest zwykle łagodna do umiarkowanej (poziom Hb 8,0–9,5 g/dl). Jest to swoista adaptacja ustroju do szczególnych warunków



Ryc. 1. Mechanizm powstawania hipoferremii/anemii zapalenia.

W stanie zdrowia odpowiednia do potrzeb ustroju ilość żelaza jest wchłania w jelicie cienkim, po czym trafia do ustrojowych magazynów żelaza, czyli głównie wątroby i śledziony. Stąd odpowiednie ilości żelaza są uwalniane by trafić do szpiku kostnego, gdzie warunkują proces tworzenia hemu, a zatem powstawanie nowych czerwonych krwinek. Taki stan możemy określić jako homeostazę żelaza. Po zadziałaniu bodźca stresowego (uraz, zakażenie, rozrost nowotworowy) dochodzi do aktywacji układu immunologicznego i rozwoju zapalenia. Czynniki zapalne prowadzą do hipoferremii, a następnie anemii, w wyniku ograniczenia wchłaniania żelaza w jelicie oraz jego uwalniania z magazynów. Prowadzi to do ograniczenia procesów erytropoezy. Zjawisko anemii zapalenia rozwija się krótko po zadziałaniu bodźca zapalnego i ma znaczenie ochronne. Prostokąty (dół ryc.) oznaczają ustrojowe zasoby żelaza, górna część ryc. przedstawia absorpcję żelaza z przewodu pokarmowego i uwalnianie z magazynów: wątroby i śledziony. Kraniki symbolizują hepcydynę, a kurki – ferropoptynę, która reguluje aktywność ferropoptyny.



zakażenia/zapalenia, która pozwala szybciej przywrócić stan homeostazy (Ryc. 1 oraz Tabela 1) (WEISS i GOODNOUGH 2005, ANDREWS 2008, ARTYM 2010, WESSLING-RESNICK 2010).

Przez długie lata po odkryciu zjawiska anemii zapalenia nieznanymi były mechanizmy, które do niego prowadzą. Nie mogły być wyjaśnione z oczywistych przyczyn, zbyt skąpej i bardzo fragmentarycznej wiedzy o metabolizmie żelaza. W połowie lat 70. ubiegłego wieku VAN SNICK i współpracownicy (1974) sformułowali hipotezę, która włączała LF w powstawanie hipofemii/anemii zapalenia. Zgodnie z jej założeniami, LF jest jednym z pierwszych czynników uczestniczących w odpowiedzi na zakażenie i zapalenie. Jest uwalniana w znacznych ilościach z neutrofilów naciekających zmienione chorobowo miejsce oraz jest wytwarzana *in situ* przez komórki nabłonkowe błon śluzowych. Białko odbiera żelazo cząsteczce TF oraz współzawodniczy z nią o żelazo uwolnione w dużych ilościach z uszkodzonych komórek gospodarza (w tym erytrocytów i komórek odpornościowych) oraz komórek drobnoustrojów. Warto pamiętać, że w miejscu toczącego się procesu zapalnego ulega obniżeniu odczyn środowiska (na skutek intensywnych procesów metabolicznych i nagromadzenia produktów rozpadu białek i innych związków). W takich warunkach cząsteczki TF „gubią” związane jony żelaza i nie przyłączają nowych. Jony żelaza są natomiast łącznie wyłapywane przez powszechnie obecną w uszkodzonych miejscach LF (która utrzymuje żelazo w kwaśnym pH). LF ze związanym żelazem jest transportowana do komórek RES (głównie wątroby), gdzie oddaje swoje żelazo. Jest ono tutaj magazynowane w ferrytynie i staje się (czasowo) niedostępne dla procesów erythropoezy (VAN SNICK i współaut. 1977). W stanie zdrowia żelazo uwalniane w niewielkich ilościach w środowisku o odczynie obojętnym prawie w całości jest wychwytywane przez TF i dostarczane do komórek erythropoetycznych. Podczas zakażenia/zapalenia stężenie osocznego żelaza spada szybko już we wczesnym okresie choroby (w ciągu kilku godzin), osiągając nawet połowę wartości prawidłowych, a czasem w ogóle przez pewien okres może być niewykrywalne we krwi. W czasie zdrowienia wartości osocznego żelaza szybko wracają do normy, co przywraca prawidłowy przebieg erythropoezy (WEINBERG 1978).

Późniejsze testy potwierdziły udział LF w mechanizmie powstawania anemii zapalenia. Testy takie przeprowadzili m.in. ZAGULSKI i współpracownicy (1985). Wstępne testy na zdrowych królikach, którym dożylnie podawano bydlęcą LF, wykazały spadek osoczowych stężeń żelaza już 2h po aplikacji białka. Najniższą wartość (20% wartości wyjściowej) zanotowano 24h po podaniu białka, po czym poziom żelaza zaczął rosnać, by wrócić do normy w ciągu kolejnych 48h. Działanie LF było nawet silniejsze od działania enterotoksyny (lipopolisacharydu, LPS) *Escherichia coli*. Zgodnie z przewidywaniami, silniej działała apo-LF niż holo-LF. Kolejne testy zostały przeprowadzone na modelach zwierząt z endotoksem/sepsą po dożylniej letalnej dawce *E. coli*. LF bydlęca podana dożylnie królikom znacznie przedłużała życie zwierząt, co łączyło się ze spadkiem stężeń osocznego żelaza (ZAGULSKI i współaut. 1986). Podobnie działała ferrytyna; podana dożylnie myszom 24h przed letalną dawką bakterii chroniła je przed śmiercią w sposób zależny od dawki (LIPIŃSKI i współaut. 1991). Ochronne działanie LF potwierdzono też u myszy z bakteriami po *E. coli*. Pojedyncza dożylna dawka LF podana na dobę przed zakażeniem znacznie wydłużała życie zwierząt, co łączyło się z czasowym spadkiem (o 45%) osoczowych stężeń żelaza (ZAGULSKI i współaut. 1989).

Podobne wyniki uzyskano w testach na prosiętach. Dożylnie podanie zwierzętom LPS lub zawiesiny komórek *E. coli* znacznie (o 60%) obniżało stężenia osocznego żelaza już w ciągu, odpowiednio, 30 i 120 minut. W tym samym czasie zanotowano znaczny (3-20-krotny) wzrost osoczowych stężeń LF (GUTTEBERG i współaut. 1989). Można zatem przypuszczać, że obserwowany spadek ilości żelaza we krwi jest wynikiem działania endogennej LF uwolnionej z aktywowanych granulocytów. To wczesny mechanizm obronny przed zakażeniem i zapaleniem. Podobne działanie ma białko egzogenne podane w celach terapeutycznych lub profilaktycznych, co wykazano powyżej.

W nieco późniejszych badaniach zwrócono uwagę na możliwe powiązanie rozwoju anemii zapalenia z działaniem cytokin uczestniczących w odpowiedzi przeciwzakaźnej i zapalnej (MEANS 1995), chociaż dopiero odkrycie (ponad 10 lat temu) hepcydyny i innych białek regulujących metabolizm żelaza pozwoliło lepiej zrozumieć



mechanizm rozwoju tej swoistej reakcji obronnej (WEINSTEIN i współaut. 2002). Hepcydyna jest najważniejszym „graczem” w ustrojowym metabolizmie żelaza. Białko to wytwarzane jest głównie przez hepatocyty i uwalniane do krążenia. Ogranicza przyswajanie żelaza z pokarmu (czyli absorpcję w jelicie) oraz zatrzymuje go w wewnątrzustrojowych magazynach (wątrobie i śledzionie), co obniża jego stężenie w krążeniu i dostępność dla procesów erythropoezy. Takie działanie hepcydyny wynika z jej zdolności do wiązania i inaktywacji ferroportyny, białka „eksportującego” żelazo z komórek nabłonka jelita i makrofagów. Ekspresja hepcydyny jest hamowana przez niedobór żelaza w ustroju oraz stan hipoksji (niedotlenienia). Wtedy żelazo (przy udziale ferroportyny) jest absorbowane w jelicie i uwalniane z makrofagów, wzrasta więc jego dostępność, głównie dla procesów tworzenia Hb i erythropoezy. Gdy żelazo w organizmie jest w nadmiarze, ekspresja hepcydyny wzrasta by ograniczyć jego absorpcję i uwalnianie z magazynów. W regulacji ekspresji hepcydyny uczestniczą kilka białek: receptor TF 2 (ang. transferrin receptor 2, TFR2), białko hemochromatozy (HFE), hemojuwelina (HJV), matrypataza-2, białka morfogenetyczne kości (ang. bone morphogenetic protein, BMP), neogenina tworzące kompleks na powierzchni komórki oraz holo-TF (TF-Fe<sub>2</sub>). Skomplikowane zagadnienia regulacji ustrojowego metabolizmu żelaza koordynowane przez hepcydynę omówiono w artykule w tym zeszycie KOSMOSU oraz licznych pracach przeglądowych (ANDREWS 2008, VIATTE i VAULONT 2009, HENTZE i współaut. 2010, GANZ i NEMETH 2012).

Co ważne, również infekcja i proces zapalny zwiększają wytwarzanie tego białka, co prowadzi do rozwoju reakcji obronnej w postaci anemii zapalenia. Zatem hepcydyna jest zasadniczym regulatorem również tego procesu. Sama jest natomiast regulowana przez różne czynniki uczestniczące w reakcji zapalnej. W tym miejscu widać wyraźnie, że homeostaza żelaza ściśle wiąże się z odpowiedzią zapalną, a różne elementy tej odpowiedzi muszą być skoordynowane z wieloma sygnałami, które regulują homeostazę żelaza. Sieć tych zależności jest niezwykle skomplikowana, a prawdopodobnie nie znamy jeszcze wszystkich jej elementów. Poniżej przedstawiono jedynie niektóre z poznanych już zależności.

Hepcydyna jest uwalniana w odpowiedzi na cytokiny prozapalne, głównie IL-6 i IL-1. Jej synteza następuje po związaniu IL-6 do receptora komórkowego i aktywacji czynnika STAT3, który przemieszcza się do jądra komórkowego aktywując ekspresję genu hepcydyny. Podobnie może działać czynnik STAT1. Jak się okazuje, hepcydyna może też być wytwarzana w pewnych ilościach przez komórki odpornościowe (np. makrofagi i neutrofile) podczas odpowiedzi mediowanej przez szlak sygnałowy zależny od receptora TLR-4. Stwierdzono też stymulację ekspresji hepcydyny przez IL-1 na drodze aktywacji szlaku sygnałowego receptora TLR-2. Z kolei IFN- $\gamma$  modulował ekspresję hepcydyny w hodowli makrofagów zakażonych *Mycobacterium tuberculosis* (ANDREWS 2004, WESSLING-RESNICK 2010). Niedawne testy na zwierzętach i ludziach wykazały, że również LF może regulować (zwiększać) poziom hepcydyny (PAESANO i współaut. 2010, FANG i współaut. 2013). Jak się okazało, myszy transgeniczne z nadekspresją hepcydyny cierpiały na silną anemię z niedoboru żelaza, natomiast indukcja zapalenia u myszy z obniżoną zdolnością wytwarzania hepcydyny nie prowadziła do rozwoju hipoferremii. Te wyniki wskazują na zasadniczą rolę hepcydyny w indukcji anemii zapalenia. Wzrost stężenia hepcydyny obserwowano również u ludzi ze zdiagnozowaną anemią zapalenia (ANDREWS 2004, WEISS i GOODNOUGH 2005, VIATTE i VAULONT 2009, WESSLING-RESNICK 2010).

Czynniki prozapalne mogą też regulować ekspresję innych białek uczestniczących w regulacji ekspresji hepcydyny. Poziom HJV jest regulowany przez TNF- $\alpha$ . Z kolei, w zapaleniu indukowanym u myszy przez podanie LPS rozwój hipoferremii wiązał się z aktywacją białka HFE (WESSLING-RESNICK 2010). Czynniki zapalne regulują również poziom ekspresji i aktywność różnych białek efektorowych w anemii zapalenia, tzn. białek których zadaniem jest gromadzenie żelaza w magazynach ustrojowych. IL-1, IL-6 i TNF- $\alpha$  zwiększają ekspresję ferrytyny; LPS, IFN- $\gamma$  i TNF- $\alpha$  obniżają ekspresję ferroportyny i zwiększają ekspresję białka DMT1 (które odpowiada za dostawę żelaza do komórek); IL-10 zwiększa ekspresję ferrytyny oraz TFR (WEISS i GOODNOUGH 2005, WESSLING-RESNICK 2010). Choć większość cytokin prozapalnych negatywnie reguluje ekspresję receptora TF, uważa się, że bar-

dzo wczesna odpowiedź sprzyja pobieraniu żelaza przez makrofagi *via* TFR, a proces ten poprzedza indukcję ekspresji hepcydyny i inaktywację ferroportyny. W testach na szczurach laktoferyna obniżała poziom ekspresji ferroportyny (jednocześnie podnosząc ekspresję wątrobowej hepcydyny) (FANG i współaut. 2013). Warto tu zwrócić uwagę na podwójną rolę LF. Jest to nie tylko białko efektorowe, które sekwestruje żelazo w czasie anemii zapalenia (jak wskazywały wczesne badania, zaprezentowane powyżej), ale też, jako białko ostrej fazy, jest czynnikiem regulującym metabolizm żelaza podczas zapalenia poprzez regulację ekspresji hepcydyny. Należy też pamiętać o szerokim działaniu LF na ekspresję wielu cytokin pro- i antyzapalnych (ARTYM 2012, VOGEL 2012, ARTYM i ZIMECKI 2013), co w sposób pośredni może również regulować zarówno homeostazę żelaza, jak i sam proces zapalny.

Trzeba również tutaj pamiętać o wielu innych czynnikach, które przyczyniają się do rozwoju anemii w czasie zapalenia. To m.in. bezpośredni hamujący wpływ cytokin prozapalnych (głównie IFN- $\gamma$ ) na komórki progenitorowe erytropoezy, ich toksyczne działanie (poprzez tworzone RFT) na te komórki, hamujące działanie na ekspresję erytropoetyny i innych czynników wzrostowych dla erytropoezy (WEISS i GOODNOUGH 2005).

Hipofferremia/anemia zapalenia jest więc wczesną reakcją obronną ustroju po zadziałaniu czynnika stresowego indukującego zapalenie. Jej celem jest szybkie przywrócenie stanu równowagi wewnętrznej ustroju, co dzieje się poprzez (1) szybszą eliminację zakażenia (przez ograniczenie dostępności żelaza dla patogenów zewnątrzkomórkowych) oraz (2) ograniczenie/wygaszenie reakcji zapalnej poprzez osłabienie aktywności komórek odpornościowych (przez ograniczenie dostępu do żelaza) i zahamowanie tworzenia RFT (poprzez ograniczenie dostępności żelaza katalizującego te procesy). Reakcja ta spełnia dobrze swoje zadanie, gdy nie trwa zbyt długo. Niestety opisane zjawiska często towarzyszą przewlekłym zakażeniom (np. ludzkim wirusem niedoboru odporności (HIV) czy zarodźcem malarii), przewlekłym stanom zapalnym w schorzeniach autoimmunizacyjnych (np. reumatoidalnym zapaleniu stawów, chorobach tkanki łącznej czy chorobach zapalnych jelita), chorobom rozrostowym (krwi i innych tkanek), chronicznym

procesom odrzucania przeszczepów narządowych oraz chronicznym chorobom nerek (WEISS i GOODNOUGH 2005). W takiej sytuacji długi czas ograniczenia dostępności żelaza do procesów erytropoezy (i innych wymagających żelaza) prowadzi, z oczywistych względów, do pogorszenia ogólnej kondycji chorego, szczególnie pacjentów starszych i z dodatkowymi czynnikami ryzyka. To z kolei pogarsza rokowanie. Można więc uznać reakcję obronną ustroju w postaci anemii zapalenia za miecz obosieczny, korzystny w początkowym okresie infekcji/zapalenia, ale szkodliwy, gdy trwa długi czas i organizm (z różnych przyczyn) nie może powrócić do stanu równowagi układu immunologicznego i metabolizmu żelaza.

Z tego względu korzystne jest zastosowanie odpowiedniej terapii. W pierwszej kolejności leczy się chorobę podstawową, co może znieść/złagodzić przebieg anemii. Leczenie samej anemii zapalenia obejmuje: transfuzje krwi, podawanie preparatów żelaza oraz preparatów erytropoetyny. W anemii chorób przewlekłych występuje funkcjonalny niedobór żelaza, który trzeba odróżnić od niedoboru faktycznego (łac. *anemia sideropenica*), który również może towarzyszyć chorobom przewlekłym. Wymienione sposoby terapii należy stosować z ostrożnością, bo dodatkowa podaż żelaza może sprzyjać wzrostowi mikroorganizmów i rozrostowi nowotworu, nie tylko na drodze bezpośredniego nabywania żelaza, ale też przez osłabienie funkcji układu odpornościowego. Kondycja tego układu zależy bowiem od żelaza i zarówno jego niedobór, jak i nadmiar osłabiają funkcje odpornościowe (o tym będzie jeszcze mowa). Może też dojść do nasilenia stanu zapalnego i uszkodzenia tkanek przez aktywację procesów tworzenia RFT (WEISS i GOODNOUGH 2005). Obecnie uczeni pracują nad nowymi sposobami leczenia anemii zapalenia. Próby idą głównie w kierunku obniżenia ekspresji lub aktywności hepcydyny. Można to uczynić stosując przeciwciała neutralizujące lub małe cząsteczki RNA interferujące z tym białkiem (ang. small interfering RNA, siRNA). Obie metody skutecznie leczyły anemię zapalenia u myszy, gdy były podane jednocześnie z erytropoetyną. W testach na zwierzętach próbuje się również używać inhibitorów różnych białek regulujących ekspresję hepcydyny, np. dorsomorfiny, hamującej szlak sygnało-

wy białek BMP czy rozpuszczalnej postaci HJV (ang. soluble HJV, sHJV), która obniża ekspresję hepcydyny. Ciekawe wyniki uzyskano w niewielkiej próbie klinicznej u chorych na chorobę Castelmanna (naczyniowo-grudkowy przerost węzłów chłonnych), gdzie wzmożone wytwarzanie IL-6 wiąże się z silną ekspresją hepcydyny i rozwojem

anemii. Przeciwciała przeciwko receptorowi IL-6 (tocilizumab) redukowały poziom hepcydyny i łagodziły anemię. Być może w przyszłości będzie można również zastosować pewne cząsteczki hamujące działanie hepcydyny na jej jedyny efektor, ferroportynę (WEISS i GOODNOUGH 2005, HENTZE i współpracownicy 2010, WESSLING-RESNICK 2010).

### CZY NADMIAR ŻELAZA JEST GROŹNY?

Już w połowie XIX w. roku francuski internista Armand Trousseau zaobserwował, że preparaty żelaza stosowane w leczeniu blednicy (chlorosis) pogarszają przebieg gruźlicy płuc. Jak sam przewidywał, jego spostrzeżenia zostały zignorowane przez innych lekarzy, którzy uparcie twierdzili, że to właśnie niedobór żelaza sprzyja zakażeniu i nasila chorobę. Od tamtego czasu poczyniono wiele obserwacji laboratoryjnych i klinicznych, które bezsprzecznie potwierdziły, że nadmiar żelaza w organizmie sprzyja rozwojowi drobnoustrojów. Kiedy dochodzi do „przeładowania” ustroju żelazem i czy takie sytuacje są częste? Ilość żelaza w organizmie jest kontrolowana na etapie jego wchłaniania w przewodzie pokarmowym. W ciągu dnia z przeciętnej diety komórki nabłonkowe (enterocyty) dwunastnicze zdrowego człowieka absorbują 1–4 mg żelaza. Organizm traci jedynie niewielkie ilości żelaza, około 1–4 mg/dzień, głównie ze złuszczeniem się nabłonkiem jelita i skóry, z potem oraz w żółci wydalanej z kałem i moczem (dodatkowe straty występują u kobiet w czasie miesiączki, ciąży, porodu i laktacji). Jak widać, ilość żelaza traczonego jest równoważona przez żelazo pobierane z pokarmu. Wydalanie żelaza pozostaje na stałym poziomie, więc właściwie nie ma znaczenia w utrzymaniu jego odpowiednich ilości w ustroju. Dlatego tak ważna jest regulacja jego absorpcji w jelicie (ROMANOWSKI i współpracownicy 2006, ARTYM 2008). Gdy wchłania się zbyt duża ilość żelaza, dochodzi do jego gromadzenia (spichrzenia) w różnych tkankach. Zespoły spichrzenia żelaza charakteryzują się hipersyderemią, czyli zwiększonym stężeniem żelaza we krwi. Chorobom tym poświęcony jest jeden z artykułów w tym zeszycie KOSMOSU.

Do zbyt dużego wchłaniania żelaza z przewodu pokarmowego dochodzi we wrodzonej, uwarunkowanej genetycznie hemochromatozie (ang. hereditary hemochromatosis, HH), jednej z najczęstszych chorób genetycznych

człowieka. Pierwsze jej przypadki opisał w 1865 r. wspomniany już Armand Trousseau, jako charakteryzujące się nadmierną pigmentacją skóry, cukrzycą i marskością wątroby. Do dziś te objawy uznaje się za klasyczne cechy hemochromatozy. U chorych zmutowany jest gen jednego z białek regulujących absorpcję żelaza przez enterocyty: HFE, hepcydyny, HJV, TFR2 lub ferroportyny. Chorobą dziedziczną podobną do HH, ale o nieznanym etiologii, jest tzw. syderoza afrykańska (syderoza Bantu), występująca u mieszkańców środkowej i południowej Afryki. Tutaj genetycznie uwarunkowane spichrzenie żelaza jest dodatkowo nasilone przez dietę, a dokładnie picie dużych ilości alkoholu fermentowanego w blaszanych beczkach. Nabyte zespoły spichrzenia żelaza określane jako hemosyderoza wtórna (czasem hemochromatoza wtórna), rozwijają się wtórnie do innych chorób, wrodzonych lub nabytych. Mogą być skutkiem nieefektywnej erythropoezy (np. w aplazji szpiku, talasemii czy niedokrwistości syderoblastycznej). Najczęściej są jednak wynikiem częstych przetoczeń krwi w niedokrwistościach (np. talasemii, anemii sierpowatej, niedokrwistości syderoblastycznej, aplastycznej, hemolitycznej, porfirii, zespole mielodysplastycznym). Rozwijają się też w ostrej i przewlekłej niewydolności wątroby (zapalenie wątroby typu C i B, chorobie alkoholowej, niealkoholowej tłuszczeniowej chorobie wątroby) oraz przewlekłych chorobach nerek leczonych hemodializami.

Nadmiar żelaza gromadzi się w tkankach. W typowej postaci hemochromatozy żelazo jest odkładane głównie w hepatocytach i komórkach mięsnych innych narządów (mięśniu sercowym, płucach, trzustce, stawach, gonadach), prowadząc do ich poważnego uszkodzenia i niewydolności. W hemosyderozie wtórnej żelazo jest spichrzone głównie w komórkach RES różnych narządów, które są lepiej przystosowane do magazynowania nadmiaru żelaza, stąd zwykle



nie dochodzi do uszkodzenia i dysfunkcji narządowej (ANDREWS 2008, ROMANOWSKI i współaut. 2006, SIKORSKA i współaut. 2006). Mimo sprawnej regulacji wchłaniania żelaza na poziomie enterocytów, czasem z pokarmu pobierane jest ono w zbyt dużych, względem potrzeb, ilościach. Przyczyną jest dieta zbyt bogata w żelazo (głównie dobrze przyswajalne żelazo hemowe w mięsie), spożywanie zbyt dużych ilości alkoholu (zwiększa zakwaszenie poprzez stymulację wytwarzania HCl w żołądku, co sprzyja pobieraniu żelaza) i kwasu askorbinowego (redukuje żelazo pokarmowe i ułatwia jego wchłanianie). Podobne skutki może mieć przyjmowanie żelaza w postaci leków czy suplementów diety, a także inhalowanie cząsteczek żelaza w zanieczyszczonym powietrzu. U osób zdrowych hemosyderoza jest umiarkowana i nie prowadzi do poważnych powikłań (WEINBERG 1999, MOALEM i współaut. 2004).

Nadmiar żelaza uszkadza różne tkanki i narządy głównie poprzez indukcję tworzenia toksycznych RFT. Sprzyja ponadto zakażeniom powodowanym przez wszystkie grupy mikroorganizmów: wirusy, bakterie, grzyby i pierwotniaki. Już ilość żelaza, która dwukrotnie zwiększa stopień wysycenia ustrojowych białek wiążących żelazo (głównie TF i LF) wyraźnie ułatwia namnażanie patogenów (WEINBERG 1978). Zarówno w testach na zwierzętach laboratoryjnych, jak i badaniach na ludziach stwierdzono, że żelazo podawane różnymi drogami (dożylnie, dootrzewnowo, domięśniowo, doustnie) i pod różnymi postaciami (sole nieorganiczne i organiczne żelaza, dekstran żelaza, hem, hemina, hemoglobina, ferrytyna) nasilało wzrost drobnoustrojów, co uwidaczniało się (w zależności od rodzaju badania) w obniżeniu dawki patogenów powodującej śmierć, skróceniu czasu przeżycia badanych osobników, zwiększeniu liczby patogenów w danym narządzie wewnętrznym. Przykładowo, w jednym z testów, w którym myszy zakażano gronkowcem, śmiertelność wzrosła z 0 do 95% wśród zwierząt po dootrzewnowym podaniu żelaza. U 57% szczurów po domięśniowej iniekcji żelaza stwierdzono obecność zarodźca malarii we krwi, podczas gdy jedynie 20% zwierząt nie otrzymujących żelaza uległo zakażeniu. Jednocześnie obserwowano prawie 3-krotny wzrost stopnia wysycenia osoczowej TF. Domięśniowa iniekcja dekstranu żelaza zwiększyła zapadalność (z 0,3 do 2,1 przypadków/1000) na wywołane bakteriami grupy coli zapalenie opon mózgo-

wo-rdzeniowych u noworodków. Większość zakażeń pojawiła się już w ciągu pierwszych 2–5 dni podawania preparatu żelaza. W testach *ex vivo* surowica chorych dzieci nie działała bakteriostatycznie wobec *E. coli*, co korelowało z dużą zawartością żelaza. Liczba przypadków infekcji spadła, gdy ograniczono użycie żelaza (WEINBERG 1978).

Ciekawe spostrzeżenia wynikają z obserwacji osób niedożywionych (w tym z niedoborami mikroelementów), którym podawano preparaty żelaza. Nie tylko nie poprawiło to stanu badanych, ale wręcz naraziło ich na częstsze zakażenia różnymi patogenami i pogorszyło przebieg choroby. Takie badania przeprowadzono m.in. na nomadach somalijskich (n = 137) z umiarkowanym niedoborem żelaza z powodu ubogiej w żelazo jednodostajnej diety mlecznej (MURRAY i współaut. 1978). Wśród 67 osób otrzymujących placebo stwierdzono jedynie 7 epizodów zakażeń, a w grupie 71 osób otrzymujących siarczan żelazawy tych epizodów było aż 36. Obejmowały one głównie aktywację wcześniejszych zakażeń: malarii, brucellozy i gruźlicy, ale też ropnie skóry, infekcje oczu, żółtaczkę, zapalenie płuc oraz zakażenia przywrami *Schistosoma*. Testy *ex vivo* potwierdziły uzyskane wyniki: żadna z ubogich w żelazo surowic pacjentów z grupy placebo nie podtrzymywała wzrostu bakterii *Salmonella* Typhimurium, ale w obecności surowic aż 6 z 8 osób leczonych preparatem żelaza bakterie te rosły. W wielu innych badaniach potwierdzono, że żelazo podawane doustnie czy parenteralnie przyspiesza wzrost *M. tuberculosis*, zwiększa liczbę zakażeń tym patogenem, pogarsza ich przebieg i zwiększa śmiertelność wśród chorych (WESSLING-RESNICK 2010). Malaria to kolejny przykład infekcji, na którą silnie wpływa status żelaza chorego. Spośród 109 osób z obszaru głodu w Nigerii, którym zaczęto podawać dietę bogatą w żelazo aż 51 (47%) miało ataki choroby, podczas gdy w grupie niesuplementowanej jedynie 23 spośród 72 osób (32%). Aktywacja malarii wystąpiła już w ciągu pięciu dni zastosowania diety i korelowała ze znacznym wzrostem stężenia osoczowego żelaza i stopnia wysycenia osoczowej TF. Nagły wzrost zasobów żelaza w ustroju może zatem nie tylko sprzyjać nowym zakażeniom, ale też aktywować zakażenia latentne, dotąd kontrolowane przez organizm (WEINBERG 2009a). Trzyletnia obserwacja noworodków w Nowej Zelandii dała podobne wyniki. Dzieciom pochodzenia polinezyjskiego (ale nie europejskiego) poda-



wano dekstran żelaza. Stwierdzono aż 7-krotny wzrost liczby epizodów sepsy i zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych spowodowanych przez niepatogenne szczepy *E. coli* i innych bakterii jelitowych już w pierwszym tygodniu po iniekcji żelaza. Dzieci pochodzenia europejskiego pozostały zdrowe. Tę dziwną epidemię zakażeń przerwało zaprzestanie podawania preparatu żelaza (WEINBERG 2009a).

Pogorszenie zdrowia osób z niedożywieniem białkowo-kalorycznym (kwashiorkor) po podaniu preparatów z żelazem może też być skutkiem niedostatecznej ilości białek wiążących żelazo. Stężenia osoczowej TF u niedożywionych dzieci nigeryjskich nie przekraczały 0,32 mg/ml, co stanowi zaledwie 10-15% normy i korelowały pozytywnie z przeżyciem dzieci (MCFARLANE i współaut. 1970). Taka niewielka ilość białka jest całkowicie wysycona żelazem i nie ma już zdolności wiązania i ochrony ustroju po jego podaniu. U pacjentów ze znacznym niedożywieniem brakuje też istotnych składników układu odpornościowego (głównie odpowiedzi humoralnej). Zatem suplementacja żelaza bez uprzedniego zastosowania odpowiedniej diety białkowej pozwalającej odtworzyć istotne składniki białkowe ustroju może przynieść pacjentom więcej szkody niż pożytku, zwiększając podatność na zakażenia. Gdy takim osobom podano żelazo przed wprowadzeniem diety białkowej znacznie wzrosła ich podatność na zakażenia gronkowcowe (WEINBERG 2009a).

Na podstawie tych obserwacji wydaje się, że utrzymywany pewien stały niedobór żelaza wśród ludności zamieszkującej tereny endemiczne niektórych zakażeń może być elementem ekologicznego przystosowania – swoistego kompromisu, który zapewnia najlepszą koegzystencję gospodarza i patogenu. Należy zatem rozważyć podejmować suplementację żelaza u osób na tych obszarach. Zasadne jest jej połączenie z dokładną diagnostyką i leczeniem zakażeń endemicznych.

Częstsze infekcje dróg oddechowych występujące u palaczy tytoniu również można powiązać z kumulacją żelaza. Gram liści tytoniu zawiera około 84 µg żelaza, z czego 0,1% przenika do dymu. Oznacza to, że nałogowy palacz wypalając paczkę papierosów dziennie zapewnia sobie pokazną ilość, bo 1,12 µg żelaza w ciągu jednego tylko dnia. Makrofagi pęcherzyków płucnych palaczy zawierają 4-5-krotnie więcej żelaza w porównaniu z osobami niepalącymi. Badania na ponad 500

osobach w USA wykazały, że palenie jest najsilniejszym niezależnym czynnikiem ryzyka pneumokokowego (*Streptococcus pneumoniae*) zapalenia płuc. Co ważne, wzrost zagrożenia infekcją dotyczył nie tylko palaczy aktywnych, ale też biernych. W badaniu 84 dzieci z inwazyjnym meningokokowym (*Neisseria meningitidis*) zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych znacznie większe ryzyko zachorowania stwierdzono u dzieci, których matki paliły papierosy. Podobnie większe było ryzyko tej choroby u osób dorosłych, czynnych i biernych palaczy. Badanie 158 osób zakażonych wirusem HIV wykazało, że zakażenia oportunistycznym drożdżakiem *Cryptococcus neoformans* były aż 2-krotnie częstsze u palaczy niż u osób niepalących. Podobne obserwacje poczyniono u pracowników hut, spawalni i odlewni, którzy narażeni byli na wdychanie zanieczyszczeń z dużą zawartością żelaza. W ich płucach stwierdzono złogi żelaza, co korelowało ze zwiększoną podatnością na infekcje dróg oddechowych (WEINBERG 2009a).

Również pacjenci z hipersyderemią obciążeni chorobami genetycznymi są bardziej podatni na zakażenia. W talasemii i anemii sierpowatej przeładowanie żelazem w wyniku częstych transfuzji krwi sprzyja wielu infekcjom, a szczególnie bakteriami z rodzajów *Klebsiella*, *Salmonella*, pneumokokowemu zapaleniu płuc i zapaleniu szpiku. W HH dominują zakażenia patogenami zewnątrzkomórkowymi oraz względnie wewnątrzkomórkowymi, bo żelazo gromadzi się głównie w komórkach mięsnych, a nie w komórkach RES (gdzie namnażają się patogeny wewnątrzkomórkowe). Choć nie stwierdzono znacznego nasilenia infekcji w tej grupie chorych, obserwowano większą podatność na zakażenia bakteriami Gram-ujemnymi (m.in. *E. coli*, *Vibrio* sp., *Yersinia* sp., *L. monocytogenes*, *Plesiomonas shigelloides*), infekcje grzybicze (*Aspergillus fumigatus* i *Rhizopus* sp.) oraz wirusowe [wirus zapalenia wątroby typu B i C (HBV i HCV), wirus cytomegalii (CMV), HIV, parwowirus]. Nie zanotowano zakażeń obligatoryjnymi patogenami wewnątrzkomórkowymi (*Chlamydia*, *Coxiella*) ze względu na małe zapasy żelaza w fagocytach tych chorych (MOALEM i współaut. 2004, KHAN i współaut., 2007, WEINBERG 2009a). Niedawno opisano ciekawy przypadek takiej śmiertelnej infekcji u 60-letniego naukowca, który zaraził się laboratoryjnym szczepem pałeczki dżumy (*Yersinia pestis*). Bakterie były niejadliwe i nie wywoływałyby

choroby u zdrowej osoby. Jednak, jak się okazało, badacz cierpiał na niezdiagnozowaną wcześniej HH (z mutacją C282Y w genie *HFE*); w jego wątrobie stwierdzono rozległe depozyty żelaza, a w surowicy podniesione poziomy żelaza i ferrytyny oraz zwiększone wysycenie TF (FRANK i współaut. 2011).

Inaczej niż bakterie, grzyby i pasożyty, wirusy do namnażania nie potrzebują żelaza. Jednak wirusowa egzystencja zależy od metabolizmu komórek gospodarza, a ten z kolei jest uzależniony od dostępności żelaza. Dostatek żelaza usprawnia składanie cząsteczek wirusów, sprzyja zatem zakażeniom wirusowym. Większą podatność i gorszy przebieg infekcji wirusowych w stanie przeładowania organizmu żelazem potwierdzono w licznych badaniach na zwierzętach i obserwacjach klinicznych (WEINBERG 1996, KHAN i współaut. 2007). Niektóre wirusy mogą zmieniać gospodarkę żelazem swojego żywiciela w ten sposób, że powodują nagromadzenie żelaza w tkankach. Podczas infekcji wirusem HIV depozyty żelaza znajdują się w makrofagach, komórkach gleju, komórkach mięśniowych i nabłonkowych. Nadmiar żelaza zwiększa aktywność wirusowej odwrotnej transkryptazy o ponad 80%, zwiększa wytwarzanie wirusowego antygeny p24 i przyspiesza śmierć zainfekowanych komórek. Jaki jest mechanizm akumulacji żelaza w zakażonych komórkach? Białko Nef wirusa obniża o 90% ekspresję białka HFE w komórkach gospodarza, co hamuje ekspresję hepcydyny i poprzez akumulację żelaza stymuluje tworzenie cząsteczek wirusowych. Pacjenci zakażeni HIV z hemosyderozą mają znacznie zwiększone ryzyko śmierci (WEINBERG 2009a). Podobnie zakażenie wirusem HCV łączy się ze spichrzaniem żelaza w wątrobie, co z kolei pogarsza przebieg choroby, osłabia odpowiedź na terapię za pomocą IFN- $\gamma$ , sprzyja procesom nowotworzenia i zwiększa śmiertelność pacjentów (KHAN i współaut. 2007, HINO i współaut. 2013). Mechanizm, przez który wirus powoduje akumulację żelaza w komórkach wątroby nie jest do końca poznany, choć wiadomo już, że hamuje ekspresję hepcydyny. Jedno z białek wirusowych indukuje tworzenie RFT hamując transport elektronów w mitochondrium. RFT z kolei hamują wiązanie czynnika transkrypcyjnego C/EBP $\alpha$  do promotora genu hepcydyny, obniżając jego transkrypcję. Większa absorpcja żelaza z jelita i uwalnianie z magazynów ustrojowych prowadzi do jego spichrzania, głównie w wątrobie. Złożoność zależności między chorobą wirusową a meta-

bolizmem żelaza często wręcz uniemożliwia określenie, czy to zaburzenia w metabolizmie żelaza zwiększają podatność na zakażenie i nasilają chorobę, czy zmiany w gospodarce żelazem są raczej jej wynikiem.

Status żelaza w ustroju wpływa również na przebieg wielu schorzeń przewlekłych, nie tylko o podłożu infekcyjnym. Nadmiar lub nieprawidłowe rozlokowanie żelaza ma swój udział w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych, endokrynologicznych, kardiomiopatii i miażdżycy tętnic, nowotworzenia, endometriozy, chorób stawów, osteoporozy, mukowiscydozy, zwyrodnienia plamki żółtej, zespołu metabolicznego (cukrzyca, otyłość i nadciśnienie) (WEINBERG 2009b). Za rolę żelaza w rozwoju i przebiegu tych schorzeń może na przykład przemawiać poprawa stanu chorych na cukrzycę czy raka po wykonaniu flebotomii (upustów krwi) czy użyciu związków chelatujących żelazo, które uszczuplają jego ustrojowe zapasy (WESSLING-RESNICK 2010). Z drugiej strony, nie można wykluczyć udziału czynników zakaźnych w patogenezie wielu różnych chorób przewlekłych. Dziś już potwierdzony jest np. związek *Chlamydia pneumoniae* z chorobami sercowo-naczyniowymi, a wzrost tego patogeny jest silnie hamowany przez ograniczenie dostępności żelaza (WEINBERG 2009b).

Ze względu na toksyczność żelaza, w stanach jego nagromadzenia w ustroju stosuje się leczenie, którego celem jest usunięcie jego nadmiaru. Zawsze korzystna jest dieta uboga w żelazo, unikanie alkoholu i kwasu askorbinowego (witaminy C). Ponadto w HH stosuje się przeważnie cyklicznie powtarzane flebotomie. W schorzeniach ze spichrzaniem żelaza po transfuzjach krwi leczenie polega na zastosowaniu związków chelatujących żelazo, które po jego związaniu są usuwane z moczem i/lub kałem (SIKORSKA i współaut. 2006). Od ponad 40 lat w użyciu jest desferoksamina (DFO), która może być podawana dożylnie lub podskórnie. To związek wyizolowany z pleśni *Streptomyces pilosus*, który bardzo mocno ( $K_d = 10^{-31}M$ ) i swoiście wiąże jony  $Fe^{3+}$ . Mimo to ten siderofor może być używany przez niektóre patogenne bakterie (*Yersinia*, *S. Typhimurium*, *Klebsiella* sp.) i grzyby (*Rhizopus* sp. i *Cunninghamella bertholletiae*) jako źródło żelaza. Obserwowano zakażenia tymi patogenami wśród zwierząt laboratoryjnych i pacjentów po użyciu DFO (KHAN i współaut. 2007, WEINBERG 2009a). Od kilku lat mamy do dyspozycji też dwa nowe niesideroforowe związki chelatujące

żelazo, do zastosowania doustnego: deferasirox (DFX) oraz deferipron (DFP). Preparaty te można używać w monoterapii lub w połączeniu. Najskuteczniejsza jest terapia za pomocą DFO i DFP. Ten drugi związek wchodzi do miocytów serca, wiąże żelazo i wynosi je na zewnątrz komórki, gdzie jest wychwytywane przez DFO i usuwane z ustroju. W fazie prób przedklinicznych lub klinicznych są dwa kolejne chelatory żelaza: deferitryna i SSP-004184 (pochodna desferitiocyny). Obecnie dostępne są również nowe, precyzyjne metody określania tkankowych zapasów żelaza oparte na rezonansie magnetycznym, co

w połączeniu ze skuteczną, nakierowaną na określone tkanki i stosunkowo mało toksyczną terapią przyczynia się do poprawy stanu chorych i przedłuża ich życie (SHETH 2014). Ponadto wciąż trwają badania nad możliwością użycia w terapii bezpiecznych naturalnych niesideroforowych białek chelatujących żelazo: apo-TF i apo-LF, szczególnie uwzględniając szerokie właściwości przeciwmikrobiologiczne i immunoregulatorowe tego drugiego białka. Być może szansą dla pacjentów będzie w przyszłości leczenie za pomocą rekombinowanej hepcydyny, którą można by podawać np. jak insulinę cukrzykom.

### JAK ŻELAZO WPŁYWA NA KONDYCJĘ UKŁADU ODPORNOŚCIOWEGO?

Sprawne działanie układu odpornościowego (podobnie zresztą jak innych tkanek i narządów) zależy od dostępności żelaza. Potrzebują go komórki odpowiedzi wrodzonej (m.in. granulocyty, monocyty/makrofagi) oraz limfocyty T i B, warunkujące nabytą odpowiedź immunologiczną. Wyniki licznych badań potwierdzają osłabienie funkcji obronnych ustroju w sytuacji niedostatków tego minerału. Bardziej wrażliwa na brak żelaza jest wrodzona oraz nabyta odpowiedź komórkowa, niż odpowiedź humoralna. Defekty te (odwracalne po uzupełnieniu niedoborów żelaza) obejmują głównie: osłabioną funkcję granulocytów z obniżoną zdolnością chemotaksji i aktywnością mieloperoksydazy (MPO), a co za tym idzie działaniem bakterio-bójczym tych komórek, mniejszą aktywność makrofagów i komórek NK (ang. natural killer), zmniejszenie liczby i osłabioną zdolność do proliferacji i różnicowania limfocytów T oraz spadek wytwarzania IL-2 przez te komórki. Monocyty i makrofagi mysie i ludzkie w warunkach niedostatków żelaza wytwarzały mniejsze ilości prozapalnych cytokin (IL-6 i TNF- $\alpha$ ) w odpowiedzi na zakażenie, co było połączone z podatnością na infekcję *Salmonella*.

Dość liczne są publikacje prezentujące wyniki testów laboratoryjnych czy obserwacji epidemiologicznych, w których niedobór żelaza osłabiał układ odpornościowy i sprzyjał zakażeniom. Można tu wspomnieć choćby o testach na myszach, gdzie podanie DFO redukowało stężenie żelaza w surowicy i znacznie nasilało przebieg doświadczalnej salmonelozy, czemu towarzyszył spadek wytwarzania H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> przez aktywowane makrofagi. U szczurów z silnym niedoborem żelaza

zakażanych *S. pneumoniae* obserwowano znacznie większą śmiertelność niż u zwierząt kontrolnych. Badania epidemiologiczne z kolei wykazały, że kobiety ciężarne z anemią z niedoboru żelaza są bardziej narażone na zakażenie *H. pylori* niż kobiety zdrowe. Spośród objętych obserwacją 31 pacjentów z przewlekłą kandydią skóry i śluzówek, u 23 stwierdzono niedobór żelaza, a 9 spośród 11 osób leczonych jedynie doustnymi lub parenteralnymi preparatami żelaza wyzdrowiało i rozwinęło późną nadwrażliwość na komórki *Candida* (OPPENHEIMER 2001, ARTYM 2010).

Nie mniej liczne badania wskazują na szkodliwy wpływ nadmiaru żelaza w ustroju na odpowiedź immunologiczną i podatność na infekcje. Przykłady wyników takich testów laboratoryjnych i klinicznych podano powyżej. Żelazo jest tu nie tylko czynnikiem wzrostowym dla patogenów, ale też osłabia układ odpornościowy. Zmienia równowagę odpowiedzi komórkowej Th (CD4<sup>+</sup>) i Tsup/Tc (CD8<sup>+</sup>), w kierunku tej ostatniej. Hamuje aktywność subpopulacji limfocytów Th1, które wytwarzają IFN- $\gamma$ , IL-2 oraz TNF- $\alpha$ , aktywując monocyty/makrofagi do odpowiedzi na infekcję. Obserwowano upośledzoną aktywność komórek fagocytujących, które gorzej odpowiadały na substancje chemotaktyczne i wykazywały słabsze właściwości bójcze wobec pochłoniętych mikrobów. Żelazo zgromadzone w makrofagach znacznie hamowało aktywność IFN- $\gamma$  i zależnych od niego szlaków odpowiedzi odpornościowej. To osłabiało zdolność komórek do zabijania patogenów wewnątrzkomórkowych (np. *Legionella*, *Listeria*, *Ehrlichia*), co korelowało z mniejszym wytwarzaniem TNF- $\alpha$ , antygenów MHC klasy



II i cząsteczek adhezyjnych. Mniejsze było również wytwarzanie NO<sup>•</sup>, którego induktorem jest IFN- $\gamma$ . Samo żelazo hamuje ponadto aktywność enzymu uczestniczącego w syntezie NO<sup>•</sup>, indukowalnej syntazy NO<sup>•</sup> (iNOS). NO<sup>•</sup> jest ważną cząsteczką efektorową makrofagów odpowiedzialną za ich działanie bójcze wobec mikroorganizmów i komórek nowotworowych (WEISS 2002). Toksyczne działanie żelaza na neutrofile może być skutkiem wytwarzania nadmiaru RFT, które uszkodzają błonę komórkową poprzez peroksydację błonowych lipidów (KHAN i współaut. 2007).

Nie dziwi zależność aktywności bójczej fagocytów od dostępności żelaza. W dużej części zależy ona od zdolności do wytwarzania toksycznych RFT w czasie tzw. wybuchu oddechowego. Powstają wtedy spore ilości H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>-•</sup>, a z nich najbardziej reaktywny i toksyczny rodnik hydroksylowy (•OH) w reakcji Fentona katalizowanej przez jony żelaza. Te cząsteczki, jako że niszczą nie tylko drobnoustroje, ale również własne komórki (fagocyty i otaczające tkanki), powinny powstawać w określonym czasie i miejscu oraz odpowiedniej ilości. Tutaj istotną rolę regulacyjną/kontrolną pełni LF. Uwalnia żelazo i sprzyja tworzeniu •OH w kwaśnym środowisku fagosomu (pH ~4,0). W pozostałych sytuacjach odczyn nie spada aż do tak niskich wartości, nawet w miejscach objętych infekcją/zapaleniem (np. w mikrośrodowisku aktywowanych makrofagów pH waha się w granicach 5,0–6,0). Wówczas LF skutecznie wyłapuje wolne żelazo, czyniąc je niedostępnym do tworzenia •OH. Warto przypomnieć,

że TF w takich warunkach „wypuszcza” już swoje żelazo, zatem całe działanie ochronne pozostaje „w rękach” LF (ARTYM 2012). Od dostępności żelaza zależy ponadto aktywność MPO, która przez niektórych badaczy jest nawet uznawana za główną „siłę” bójczą granulocytów obojętnochłonnych. Ten zawierający hem enzym może stanowić aż 5% suchej masy tych komórek. Utlenia on przy udziale H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> jony chlorkowe, bromkowe i jodkowe do odpowiednich kwasów o silnym działaniu bójczym (BARTOSZ 2013).

Powyższe rozważania bezsprzecznie wskazują, że żelazo reguluje podatność na zakażenie, czy to wspomagając wzrost patogenów, czy wpływając na odporność gospodarza. Wydaje się, że istnieje wąski zakres zasobów żelaza, który umożliwi sprawne działanie układu odpornościowego i nie stymuluje wzrostu patogenów. Zwiększenie ilości żelaza (np. poprzez suplementację) może tę równowagę zachwiać, co będzie sprzyjać zakażeniom przez bezpośrednie wzmocnienie wzrostu mikroorganizmów, ale też poprzez osłabienie odporności. Stąd decydując się na podawanie żelaza należy rozważyć wiele czynników takich jak: dawkę, drogę podania preparatów żelaza, wiek pacjentów, ich stan odżywienia, w tym niedobory innych mikroelementów, środowisko życia (regiony endemicznych chorób zakaźnych), stan odporności, towarzyszące choroby (anemia sierpowata, malaria, zakażenie HIV, choroby metaboliczne), czy aktualny status żelaza (OPPENHEIMER 2001, DOHERTY 2007). Nieostrożnie stosowana suplementacja może pogorszyć stan pacjentów.

#### JAK DROBNOUSTROJE ZDOBYWAJĄ ŻELAZO?

Dzięki omówionym już sposobom chelatowania żelaza, stężenie wolnego żelaza w płynach ustrojowych pozostaje niezwykle niskie (około 10<sup>-18</sup> M) i jest wielokrotnie niższe niż wymagane do wzrostu drobnoustrojów – 0,4–4×10<sup>-6</sup> M (μM) (WEINBERG 1978, BULLEN 1981). Wyższe stężenie żelaza jest natomiast w cytozolu komórek (1 μM w LIP) (BARTOSZ 2013), co mieści się w zakresie potrzeb mikroorganizmów. Wiele patogenów z sukcesem pozyskuje żelazo w ustroju gospodarza, mimo jego ograniczonej dostępności. Drobnoustroje wykorzystują jeden (lub więcej) z 3 sposobów nabywania żelaza: (1) wytwarzanie receptorów, które wiążą holo-siderofiliny gospodarza, dostarczają do powierzchni komórki patogenu i odzyskują związane żelazo

(po uprzedniej redukcji jonów Fe<sup>3+</sup> do Fe<sup>2+</sup>), (2) cięcie proteolityczne białek gospodarza bogatych w żelazo (np. Hb), (3) wytwarzanie niskomolekularnych związków, tzw. sideroforów, silnie chelatujących żelazo i odbierających je dzięki temu z siderofilin gospodarza (Tabela 2) (WEINBERG 1999).

Mikroby, które wiążą siderofiliny gospodarza, zwykle są dość ściśle swoiste gatunkowo. I tak, *Helicobacter pylori*, który bytuje w żołądku u ludzi wytwarza białko receptorowe o masie 70 kDa, które wiąże jedynie ludzką LF wytwarzaną przez śluzówkę żołądka, nie może natomiast wiązać bydłowej czy końskiej LF. Podobnie, nie może pozyskiwać żelaza z TF ludzkiej, bydłowej czy końskiej. LF ludzka podana pacjentom nie ogranicza



Tabela 2. Systemy pozyskiwania żelaza w organizmie gospodarza przez komórki patogennych drobnoustrojów.

	Patogen
	Rodzaj białka lub innego czynnika
Białka receptorowe wiążące holo-siderofiliny gospodarza	Białka wiążące TF
	Białka wiążące LF
Siderofory	Siderofory fenolano-katecholowe
	Siderofory hydroksamowe
	Siderofory poli-hydroksy-aminokarboksyłowe
Inne czynniki	Enzymy rozkładające Hb, hem, inne białka hemowe i niehemowe gospodarza
	Receptory dla Hb

ła infekcji *H. pylori*, ale LF bydłęca wyraźnie hamowała wzrost bakterii, ograniczając objawy choroby. LF ludzka skutecznie hamowała natomiast patogen koci, *Helicobacter felis*, w eksperymentalnej infekcji u myszy (ARTYM 2012). Na powierzchni komórek *Haemophilus influenzae* stwierdzono występowanie białek receptorowych o masie 68 i 105/106 kDa, wiążących i wykorzystujących żelazo z, odpowiednio, ludzkich TF i LF. Natomiast patogen bydła, *Haemophilus somnus*, tworzy receptory swoiste dla bydłowej, ale nie ludzkiej TF. *Staphylococcus aureus*, patogen wielu gatunków ssaków, może silnie wiązać TF ludzką, szczurzą i króliczą i nieco słabiej bydłęcą, świńską i ptasią TF. Wytwarza ponadto siderofory. Na powierzchni bakterii z rodziny *Neisseriaceae* (rodzaje *Neisseria* i *Moraxella*) oraz *Pasteurellaceae* (rodzaje *Haemophilus* i *Actinobacillus*) stwierdzono swoiste białka receptorowe dla TF i LF: Tbp (ang. TF binding protein) A i TbpB oraz Lbp (ang. LF binding protein) A i LbpB. Jony żelaza, po uwolnieniu z cząsteczki TF lub LF, są wprowadzane przy udziale transbłonowego białka TpbA lub LpbA do wnętrza bakterii. *Neisseria meningitidis*, patogen człowieka, nabywa żelazo z holo-siderofilin ludzkich oraz blisko spokrewnionych gatunków: szympansa, goryla i orangutana, ale nie ssaków nie należących do naczelných. Patogen rósł natomiast w organizmie myszy, którym podano ludzką TF lub myszy transgenicznych ekspresjonujących ludzką TF. Dwójka rzeźączki (*Neisseria gonorrhoeae*) przy udziale swoistych receptorów pozyskuje żelazo z TF, LF oraz

Hb. Patogeny żyjące w pochwie korzystają ze wszystkich trzech źródeł żelaza: TF i LF w okresie między krwawieniami miesięcznymi oraz w czasie miesiączki również z Hb. Patogeny żyjące w męskiej cewce moczowej nabywają żelazo tylko z siderofilin, gdyż Hb nie jest tu łatwo dostępna.

Podobne zjawisko zaobserwowano dla rzęsistka pochwowego (*Trichomonas vaginalis*). Pierwotniak ten kolonizuje bogate w LF śluzówkę pochwy i męską cewkę moczową. U kobiet objawy zakażenia nasilają się w czasie miesiączki, kiedy ilość LF wzrasta i pojawia się dodatkowo żelazo z Hb. U mężczyzn natomiast zakażenie zwykle jest bezobjawowe lub ulega samoograniczeniu, z powodu braku dostępności żelaza hemoglobino-wego (WEINBERG 2009a, ARTYM 2010). Swoisty receptor dla ludzkiej LF tworzy ponadto *Entamoeba histolytica* (patogen człowieka). Holo-LF po związaniu do komórki pierwotniaka ulega internalizacji i degradacji przez proteazy cysteinowe, stając się dostawcą żelaza. Bydłęce LF i TF, ludzka LF oraz owotransferyna były natomiast wiązane przez białka receptorowe o masie 42 kDa na komórkach *T. gondii*, kosmopolitycznego pierwotniaka, który atakuje i namnaża się wewnątrz komórek różnych organizmów stałocieplnych, w tym człowieka (stąd mała swoistość białek receptorowych dla siderofilin). Co ważne, bydłęca i ludzka LF hamowały wewnątrzkomórkowy wzrost parazytów przez nieznaną, jak dotąd, mechanizm. Inny pierwotniak pasożytujący u ludzi, psów i gryzoni, *Leishmania* sp., używa powierzchniowej reduktazy,

która rozpoznaje holo-LF i redukuje zawarte w niej jony  $\text{Fe}^{3+}$  do przyswajalnych jonów  $\text{Fe}^{2+}$  (ORTIZ-ESTRADA i współaut. 2012). Co ważne, ekspresja receptorów dla siderofilin na komórkach patogenów oraz ich powinowactwo do siderofilin są zwiększone przez ograniczenie dostępności żelaza w środowisku wzrostu. Ekspresja tych białek jest również charakterystyczna dla szczepów patogennych, ale nie saprofitycznych (WEINBERG 1999, 2009a; KHAN i współaut. 2007; ARTYM 2010).

**Siderofory** (gr. *sideros* – żelazo, *phorein* – nosić) wytwarzają prawie wszystkie bakterie i grzyby, zarówno saprofityczne, jak i pasożytnicze, w warunkach stresu niedoboru żelaza. U wielu względnych i bezwzględnych patogenów zaobserwowano wyraźną zależność chorobotwórczości od sideroforów. To niewielkie związki o masie cząsteczkowej 0,5–2,0 kDa, rozpuszczalne w wodzie, bardzo silnie wiążące żelazo ( $K_d \sim 10^{-30}$ – $10^{-50}$  M), pozyskujące je z białek chelatujących lub kompleksów żelaza z niskocząsteczkowymi związkami chelatującymi (np. cytrynianem) gospodarza. Jest to możliwe, bo powinowactwo sideroforów do żelaza jest znacznie wyższe niż białek ustrojowych. Siderofor ze związanym żelazem jest przyłączany do receptora na powierzchni komórki mikroorganizmu, a następnie wnoszony do jej wnętrza, gdzie oddaje związane żelazo (inaczej niż dla większości białek receptorowych, które oddają żelazo na powierzchni komórki). Obecnie znanych jest około 500 sideroforów, które możemy zaliczyć do jednej z 3 grup chemicznych: fenolano-katecholowych, hydroksamowych oraz pochodnych kwasów poli-hydroksy-aminokarboksyłowych (MIKUCKI i LISIECKI 1998). Mikroby tworzące siderofory zwykle mają małą swoistość gatunkową. Na przykład staphyloferryina A wytwarzana przez bytującą u wielu gospodarzy bakterię *S. aureus* usuwa żelazo zarówno z ludzkiej, jak i świńskiej TF. Gronkowiec złocisty może ponadto lizować erythrocyty oraz degradować Hb i asymilować hem. *L. monocytogenes* (patogen różnych gatunków ssaków, ptaków, ryb i skorupiaków) nie wytwarza własnych sideroforów, ale pozyskuje żelazo za pomocą receptorów wiążących siderofory innych bakterii lub naturalne związki katecholowe (dopamina i noradrenalina) obecne w organizmie gospodarza. Patogen tworzy powierzchniową reduktazę żelazową, która rozpoznaje miejsce wiążące jony  $\text{Fe}^{3+}$  w obcym sideroforze, po czym je redukuje do jonów  $\text{Fe}^{2+}$  i asymiluje. W przeciwieństwie do szczepów saprofitycz-

nych, patogenne szczepy *L. monocytogenes* są hemolityczne. Bakterie z rodzaju *Yersinia* tworzą receptory, które mogą wiązać siderofory innych mikrobów (w tym wspomnianą już wcześniej desferoksaminę). Patogenna *Yersinia enterocolitica* wytwarza ponadto siderofor yersiniobaktyneę oraz hemolizynę, wykorzystując hem jako źródła żelaza. Bakterie jelitowe (np. *E. coli*) wytwarzają swoje własne siderofory: enterobaktyneę (enterochelinę) oraz aerobaktyneę, które w postaci wolnej są uwalniane do otoczenia, gdzie wiążą żelazo, po czym pobierane przez bakterie uwalniają je w cytozolu. *Pseudomonas aeruginosa* wytwarza dwa siderofory o odmiennej budowie: pyowerdynę i pyochelinę. Bakterie z rodzaju *Vibrio* mogą pozyskiwać żelazo za pomocą sideroforów (m.in. vibriobaktyny) lub degradując białka hemowe gospodarza przy udziale własnych enzymów proteolitycznych. Niektóre bakterie patogenne wytwarzają toksyny hemolityczne (hemolizyny), dzięki którym nabywają żelazo z hemu i Hb zlizowanych erythrocytów. *Plesiomonas shigelloides* wytwarza beta-hemolizynę, a enteroinwazyjne szczepy *E. coli* (EIEC) – alfa-hemolizynę. Aerolizyna z kolei jest wytwarzana przez *Aeromonas sobria* i ułatwia patogenom pozyskiwanie żelaza z Hb podczas układowych zakażeń. Wirulentne paciorkowce (*Streptococcus* sp.) nie tworzą ani sideroforów ani białek wiążących siderofiliny. Skutecznie jednak zasiedlają wiele gatunków żywicieli dzięki wytwarzaniu enzymów proteolitycznych, które zapewniają dostęp do żelaza w Hb, mioglobinie, ferrytynie i enzymach (np. katalazie) żywiciela. *Porphyromonas gingivalis*, patogen bytujący w jamie ustnej, używa receptora dla Hb by zdobyć żelazo. Co ciekawe, LF wykazując aktywność proteazy cysteinowej usuwa ten receptor z powierzchni komórek bakterii. Ma to szczególne znaczenie ochronne w czasie stanów zapalnych przyzębia, gdzie uwolniona z uszkodzonych tkanek Hb staje się głównym źródłem żelaza dla patogenów (ARTYM 2012).

Grzyb pleśniowy *Aspergillus fumigatus* może wytwarzać siderofory pozyskujące żelazo z TF, po jej uprzedniej degradacji enzymatycznej. Inny komensalny i oportunistyczny gatunek grzyba, *Candida albicans*, używa kilku strategii dla zdobycia żelaza w tkankach gospodarza. Postać komensalna (drożdżakowa, na skórze i śluzówkach) korzysta z sideroforów (innych mikrobów). Gdy forma strzępkowa grzyba atakuje tkanki, wykorzystuje Hb, ferrytynę i TF jako źródła żelaza, a po destrukcji komórek, także żelazo z cy-

tozolojowej LIP, białek żelazowo-siarkowych i innych białek niehemowych. Białka hemowe (Hb, mioglobina, cytochromy), jako chronione wewnątrz komórek, są trudniej osiągalne dla patogenów. Jednak dostęp do nich staje się znacznie łatwiejszy po destrukcji tkanek, co ma miejsce po uszkodzeniu tkanek (w wyniku urazu, stanu zapalnego).

Co ciekawe, gospodarz w drodze ewolucji wytworzył własne białka, tzw. lipokaliny, które wiążą i unieszkodliwiają siderofory. Zaliczamy do nich m.in. lipokalinę 2 (siderokalinę, *Lcn2*; ang. neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL) wiążącą siderofory katecholowe czy lipokalinę obecną we łzach wiążącą siderofory hydroksamowe. Obserwowano istotnie gorsze przeżycie myszy z nokautem genu *Lcn2* po zakażeniu *E. coli* lub *M. tuberculosis*, co potwierdza rolę tych cząsteczek w obronności przeciwzakaźnej (WEINBERG 1999, 2009a; KHAN i współaut. 2007; WESSLING-RESNICK; 2010; ARTYM 2010).

Patogeny wewnątrzkomórkowe nie tworzą receptorów dla siderofilin ani sideroforów, gdyż nabywają żelazo z hemu, ferrytyny czy TF. W ten sposób żelazo uzyskują np. *F. tularensis* czy *L. pneumophila*, bezwzględne patogeny wewnątrzkomórkowe, które nie mogą przeżyć poza komórką, a także *S. Typhimurium*, która może namnażać się również poza komórką (wówczas wytwarza siderofory). Co ciekawe, żyjące wewnątrz erytrocytów pierwotniaki *Plasmodium* sp. nie nabywają żelaza z hemu ani białek gospodarza, ale korzystają z niewielkiej ilości łatwo dostępnego żelaza

w LIP. Inne patogeny wewnątrzkomórkowe, *Ehrlichia chaffeensis*, *E. sennetsu* i *Coxiella burnetii* (należące do rzędu *Rickettsiales*), mogą nawet zwiększać poziom żelaza wewnątrz zaatakowanej komórki poprzez indukcję ekspresji TFR na jej powierzchni (WEINBERG 1999, OPPENHEIMER 2001).

Niektóre stany fizjologiczne organizmu również mogą sprzyjać uwalnianiu żelaza z siderofilin i jego udostępnianiu patogenom. Może się tak dziać w czasie stresu, gdy organizm wytwarza duże ilości katecholamin (adrenaliny, noradrenaliny, dopaminy). Te związki mogą bowiem wiązać TF, LF i albuminę osoczną, usuwając z nich żelazo. Testy *in vitro* wykazały, że uwolnione w ten sposób żelazo indukowało namnażanie bakterii Gram+ i Gram-. Można zatem porównać katecholaminy do pseudosideroforów bakteryjnych (istnieje zresztą podobieństwo strukturalne tych związków do katecholowych sideroforów bakteryjnych, np. enterobaktyny). Te wyniki mogą zapewne, choć w części, tłumaczyć większą podatność na infekcje osób pozostających w stresie, szczególnie przewlekłym. Spostrzeżenia te są istotne również z uwagi na fakt, że związki podobne strukturalnie do naturalnych katecholamin (np. izoprenalina i dobutamina) są powszechnie używane w klinice, m.in. w leczeniu chorób układu krążenia. Brak jak dotąd badań wiążących ich użycie z częstością zakażeń u leczonych pacjentów, ale nie można wykluczyć, że taka korelacja istnieje (ARTYM 2010).

## PODSUMOWANIE

Homeostaza żelaza jest niezbędna dla zachowania zdrowia, również w ochronie przed zakażeniami. Istnieje wąski przedział prawidłowych poziomów żelaza w ustroju, który zapewnia odpowiednie funkcjonowanie wszystkich tkanek, w tym kluczowego dla zwalczania infekcji układu immunologicznego, a jednocześnie uniemożliwia wzrost patogennych drobnoustrojów. Nadmiar i niedobór żelaza sprzyjają zakażeniom, upośledzając funkcje odpornościowe. Nadmiar żelaza dodatkowo, jako czynnik odżywczy, wzmacnia wzrost patogenów. Należy ostrożnie stosować suplementację żelaza u osób z zakażeniami, koniecznie po uprzedniej dokładnej diagnostyce, która pozwoli odróżnić faktyczny niedobór żelaza w ustroju od niedoborów czynnościowych, które towarzyszą wczesnej fazie odpowiedzi

zapalnej na zakażenie, uraz lub stres. Pozorny niedobór żelaza skłania do jego uzupełnienia, gdy tymczasem ustrój używa wszystkich swoich sił, by uporać się z infekcją/urazem poprzez obniżenie stężeń żelaza. Obecnie, rutynowo oznaczane wskaźniki metabolizmu żelaza nie pozwalają odróżnić tych dwu rodzajów anemii. Z uwagą należy prowadzić suplementację żelaza na obszarach endemicznych przewlekłych chorób infekcyjnych (malaria, gruźlica, HIV). Należy również unikać suplementacji żelaza u osób z genetyczną predyspozycją do jego spichrzenia. Pacjenci z objawami nasuwającymi podejrzenie genetycznego podłoża schorzenia, powinni być poddani wnikliwej diagnostyce, a następnie odpowiedniej profilaktyce i leczeniu, co łagodzi przebieg choroby i chroni przed powikłaniami.



## ORGANIZM GOSPODARZA KONTRA DROBNOUSTROJE W WALCE O ŻELAZO. ROLA ŻELAZA W ZAKAŻENIACH

## Streszczenie

Żelazo, poprzez swój udział w wielu procesach metabolicznych, jest niezbędnym składnikiem odżywczym dla wszystkich istot żywych: drobnoustrojów i organizmów wyższych. Problem pojawia się, gdy z żelaza korzysta organizm gospodarza i zasiedlająca go drobnoustroje patogenne. Żelazo warunkuje wzrost patogenów, więc w interesie gospodarza jest ograniczyć jego dostępność dla drobnoustrojów. Z drugiej strony, organizm gospodarza sam potrzebuje odpowiedniej ilości żelaza dla własnych potrzeb metabolicznych, w tym do prawidłowego funkcjonowania kluczowego w zwalczaniu infekcji układu odpornościowego. Najlepszym rozwiązaniem jest więc utrzymywanie zasobów żelaza pod stałą i ścisłą kontrolą. Elementem tej kontroli są białka silnie wiążące jony żelaza, głównie siderofiliny (laktoferyna i transferyna) oraz ferrytyna, albumina, hemopeksyna, haptoglobina i albumina. Odgrywają one rolę zarówno w stanie zdrowia, jak i w czasie zakażenia i zapalenia. Jako odpowiedź na uraz (infekcję, uszkodzenie

tkanek, wzrost nowotworowy) rozwija się ważna fizjologicznie reakcja obronna nazywana hipoferremią/anemią zapalenia lub chorób przewlekłych, której celem jest dalsze czasowe ograniczenie dostępności żelaza dla patogenów i procesów zapalnych. Drobnoustroje w drodze ewolucji rozwinęły własne systemy pozyskiwania żelaza w ustroju żywiciela. To różne białka receptorowe wiążące siderofiliny i odzyskujące z nich żelazo oraz drobnocząsteczkowe związki silnie chelatujące żelazo, siderofory. Patogeny mogą też uzyskiwać żelazo po degradacji proteolitycznej bogatych w żelazo białek gospodarza, np. hemoglobiny. Skuteczność nabywania żelaza przez patogeny stanowi o ich wirulencji. Obecnie stosowane są różne metody lecznicze, które mają wspomóc organizm w walce z zakażeniem poprzez zmniejszenie dostępności żelaza dla patogenów. W zależności od potrzeb stosuje się ubogą w żelazo dietę, cykliczne upusty krwi lub związki chelatujące żelazo: desferriksaminę, deferipron i inne.

## HOST'S ORGANISM AGAINST PATHOGENS IN COMBAT FOR IRON. THE ROLE OF IRON IN INFECTIONS

## Summary

Iron, owing to its participation in various metabolic processes represents an indispensable nutritional element for all organisms – microorganisms and eukaryotic ones. In vertebrates, iron is necessary for metabolism, maintenance of physiological microflora and defense against pathogens of the host. However, the access to iron has to be strictly controlled in order to limit potential expansion of pathogenic bacteria. This controlling system encompasses proteins able to bind iron ions, mainly siderophilins (lactoferrin and transferrin) as well as ferritin, haptoglobin, hemopexin and albumin. These proteins play a role in iron metabolism both in health and infection. Clinical insult, injury, infection or tumor growth initiates an important physiological defense response called hypoferrremia/anemia of inflammation or chronic diseases, aimed at transient

restriction of iron access for pathogens and inflammatory processes. Microorganisms developed during evolution their own systems of iron acquisition in the host's organism including various receptor proteins able to bind siderophilins and regaining from them iron, as well as strongly chelating iron low-molecular compounds, siderophores. Pathogens can also acquire iron following proteolytic degradation of iron-rich proteins, e.g. hemoglobin. The efficacy of iron acquisition by pathogens determines their virulence. At present, various therapeutic strategies are applied, designed to aid the organism in combating infection by diminution of access to iron by pathogens. Depending on circumstances, iron-deficient diet, cyclic bloodletting or iron-chelating compounds such as desferrioxamine and deferiprone, are practised.

## LITERATURA

- AISEN P., ENNS C., WESSLING-RESNICK M., 2001. *Chemistry and biology of eukaryotic iron metabolism*. Int. J. Biochem. Cell. Biol. 33, 940–959.
- ANDREWS N. C., 2004. *Anemia of inflammation: the cytokine-hepcidin link*. J. Clin. Invest. 113, 1251–1253.
- ANDREWS N. C., 2008. *Forging a field: the golden age of iron biology*. Blood 112, 219–230.
- ARTYM J., 2008. *Udział laktoferyny w gospodarce żelazem w organizmie. Część I. Wpływ laktoferyny na wchłanianie, transport i magazynowanie żelaza*. Hig. Med. Dosw. 62, 599–611.
- ARTYM J., 2010. *Udział laktoferyny w gospodarce żelazem w organizmie. Część II. Działanie przeciwmikrobiologiczne i przeciwzapalne poprzez sekwestrację żelaza*. Postepy Hig. Med. Dosw. 64, 604–616.
- ARTYM J., 2012. *Laktoferyna – niezwykle białko*. Wydawnictwo Borgis, Warszawa.
- ARTYM J., ZIMECKI M., 2013. *Rola laktoferyny w zakażeniach i zapaleniu*. Forum Zakażeń 4, 329–345.
- BARTOSZ G., 2013. *Druga twarz tlenu. Wolne rodniki w przyrodzie*. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa.
- BEARD J. L., 2001. *Iron biology in immune function, muscle metabolism and neuronal functioning*. J. Nutr. 131, 568S–580S.
- BULLEN J. J., 1981. *The significance of iron in infection*. Rev. Infect. Dis. 3, 1127–1138.



- BYRD T. F., HORWITZ M. A., 1989. *Interferon gamma-activated human monocytes downregulate transferrin receptors and inhibit the intracellular multiplication of Legionella pneumophilla by limiting the availability of iron.* J. Clin. Invest. 83, 1457-1465.
- CARTWRIGHT G. E., 1966. *The anemia of chronic disorders.* Semin. Hematol. 3, 351-375.
- CARTWRIGHT G. E., LAURITSEN M. A., HUMPHREYS S., JONES P. J., MERRILL I. M., WINTROBE M. M. 1946. *The anemia associated with chronic infection.* Science 103, 72-73.
- COLLINS H. L., 2003. *The role of iron in infections with intracellular bacteria.* Immunol. Lett. 85, 193-195.
- DOHERTY C. P., 2007. *Host-pathogen interactions: the role of iron.* J. Nutr. 137, 1341-1344.
- FANG Y. H., FANG X., XU H., WU Z. H., XU Y. J., 2013. *Efficacy of iron saturated recombinant human lactoferrin on alleviating iron deficiency anemia in rats.* Beijing Da Xue Xue Bao 45, 417-421.
- FRANK K. M., SCHNEEWIND O., SHIEH W. J., 2011. *Investigation of a researcher's death due to septicemic plague.* N. Engl. J. Med. 364, 2563-2564.
- GANZ T., NEMETH E., 2012. *Hepcidin and iron homeostasis.* Biochim. Biophys. Acta 1823, 1434-1443.
- GUTTEBERG T. J., ROKKE O., ANDERSEN O., JORGENSEN T., 1989. *Early fall of circulating iron and rapid rise of lactoferrin in septicemia and endotoxemia: an early defence mechanism.* Scand. J. Infect. Dis. 21, 709-715.
- HENTZE M. W., MUCKENTHALER M. U., GALY B., CAMASCHELLA C., 2010. *Two to tango: regulation of mammalian iron metabolism.* Cell 142, 24-38.
- HINO K., NISHINA S., HARA Y., 2013. *Iron metabolic disorder in chronic hepatitis C: mechanisms and relevance to hepatocarcinogenesis.* J. Gastroenterol. Hepatol. 28 (Suppl. 4), 93-98.
- KHAN F. A., FISHER M. A., KHAKOO R. A., 2007. *Association of hemochromatosis with infectious disease: expanding spectrum.* Int. J. Infect. Dis. 11, 482-487.
- LEIBMAN A., AISEN P., 1979. *Distribution of iron between the binding sites of transferrin in serum: methods and results in normal human subjects.* Blood 53, 1058-1065.
- LIEU P. T., HEISKALA M., PETERSON P. A., YANG Y., 2001. *The roles of iron in health and disease.* Mol. Aspects Med. 22, 1-87.
- LIPÍŃSKI P., STARZYŃSKI R. R., 2006. *Rola białek IRP (iron regulatory proteins) w regulacji ogólnoustrojowej homeostazy żelaza: lekcje płynące z badań na myszach z nokautem genów Irp1 i Irp2.* Postepy Hig. Med. Dosw. 60, 322-330.
- LIPÍŃSKI P., JARZĄBEK Z., BRONIEK S., ZAGULSKI T., 1991. *Protective effect of tissue ferritins in experimental Escherichia coli infection of mice in vivo.* Int. J. Exp. Pathol. 72, 623-630.
- LIPÍŃSKI P., STARZYŃSKI R. R., STYS A., GAJOWIAK A., STAROŃ R., 2014. *Metabolizm hemu jako integralny element homeostazy żelaza.* Postepy Hig. Med. Dosw. 68, 557-570.
- LOCKE A., MAIN E. R., ROSBASH D. O., 1932. *The copper and non-hemoglobinous iron contents of the blood serum in disease.* J. Clin. Invest. 11, 527-542.
- MAJKA G., ŚPIEWAK K., KURPIEWSKA K., HECZKO P., STOCHEL G., STRUŚ M., BRINDELL M., 2013. *A high-throughput method for the quantification of iron saturation in lactoferrin preparations.* Anal. Bioanal. Chem. 405, 5191-5200.
- McFARLANE H. S., REDDY S., ADCOCK K. J., ADESHINA H., COOKE A. R., AKENE J., 1970. *Immunity, transferrin, and survival in kwashiorkor.* Br. Med. J. 4, 268-270.
- MEANS R.T., 1995. *Pathogenesis of the anemia of chronic disease: a cytokine-mediated anemia.* Stem Cells 13, 32-37.
- MIKUCKI J., LISIECKI P., 1998. *Siderofory – agresywny bakteryjne.* Post. Mikrobiol. 37, 73-97.
- MOALEM S., WEINBERG E. D., PERCY M. E., 2004. *Hemochromatosis and the enigma of misplaced iron: implications for infectious disease and survival.* Biolmetals 17, 135-139.
- MURRAY M. J., MURRAY A. B., MURRAY M. B., MURRAY C. J., 1978. *The adverse effect of iron repletion on the course of certain infections.* Br. Med. J. 2, 1113-1115.
- NAIRZ M., THEURL I., LUDWICZEK S., THEURL M., MAIR S. M., FRITSCH G., WEISS G., 2007. *The coordinated regulation of iron homeostasis in murine macrophages limits the availability of iron for intracellular Salmonella typhimurium.* Cell. Microbiol. 9, 2126-2140.
- OPPENHEIMER S.J., 2001. *Iron and its relation to immunity and infectious disease.* J. Nutr. 131, 616S-635S.
- ORTIZ-ESTRADA G., LUNA-CASTRO S., PINA-VAZQUEZ C., SAMANIEGO-BARRON L., LEON-SICAÍROS N., SERRANO-LUNA J., DE LA GARZA M., 2012. *Iron-saturated lactoferrin and pathogenic protozoa: could this protein be an iron source for their parasitic style of life?* Future Microbiol. 7, 149-164.
- PAESANO R., BERLUTTI F., PIETROPAOLI M., GOOLSBE W., PACIFICI E., VALENTI P., 2010. *Lactoferrin efficacy versus ferrous sulfate in curing iron disorders in pregnant and non-pregnant women.* Int. J. Immunopathol. Pharmacol. 23, 577-587.
- ROMANOWSKI T., SIKORSKA K., BIELAWSKI K. P., 2006. *Molekularne podstawy dziedzicznej hemochromatozy.* Postepy Hig. Med. Dosw. 60, 217-226.
- SHEETH S., 2014. *Iron chelation: an update.* Curr. Opin. Hematol. 21, 179-185.
- SIKORSKA K., BIELAWSKI K.P., ROMANOWSKI T., STALKE P., 2006. *Hemochromatoza dziedziczna – najczęstsza choroba genetyczna człowieka.* Postepy Hig. Med. Dosw. 60, 667-676.
- VAN SNICK J. L., MASSON P. L., HEREMANS J. F., 1974. *The involvement of lactoferrin in the hyposidermia of acute inflammation.* J. Exp. Med. 140, 1068-1084.
- VAN SNICK J. L., MARKOWETZ B., MASSON P. L., 1977. *The ingestion and digestion of human lactoferrin by mouse peritoneal macrophages and the transfer of its iron into ferritin.* J. Exp. Med. 146, 817-827.
- VIATTE L., VAULONT S., 2009. *Hepcidin, the iron watcher.* Biochimie 91, 1223-1228.
- VOGEL H. J., 2012. *Lactoferrin, a bird's eye view.* Biochem. Cell. Biol. 90, 233-244.
- WEINBERG E. D., 1978. *Iron and infection.* Microbiol. Rev. 42, 45-66.
- WEINBERG E. D., 1996. *Iron withholding: a defense against viral infections.* Biometals 9, 393-399.
- WEINBERG E. D., 1997. *The lactobacillus anomaly: total iron abstinence.* Persp. Biol. Med. 40, 578-583.
- WEINBERG E. D., 1999. *Iron loading and disease surveillance.* Emerg. Infect. Dis. 5, 346-352.
- WEINBERG E. D., 2009a. *Iron availability and infection.* Biochim. Biophys. Acta 1790, 600-605.
- WEINBERG E. D., 2009b. *Iron toxicity. New conditions continue to emerge.* Oxid. Med. Cell. Longev. 2, 107-109.
- WEINSTEIN D. A., ROY C. N., FLEMING M. D., LODA M. F., WOLFS DORF J. I., ANDREWS N.C., 2002. *Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: implications for the anemia of chronic disease.* Blood 100, 3776-3781.

- WEISS G., 2002. *Iron and immunity: a double-edged sword*. Eur. J. Clin. Invest. 32 (Suppl. 1), 70-78.
- WEISS G., GOODNOUGH L.T., 2005. *Anemia of chronic disease*. N. Engl. J. Med. 352, 1011-1023.
- WESSLING-RESNICK M., 2010. *Iron homeostasis and the inflammatory response*. Annu. Rev. Nutr. 30, 105-122.
- ZAGULSKI T., ZAGULSKA A., JĘDRA M., JARZĄBEK Z., 1985. *Rabbit plasma iron level after in vivo administration of lactoferrin*. Prace i Mater. Zoot. 36, 95-105.
- ZAGULSKI T., JĘDRA M., JARZĄBEK Z., ZAGULSKA A., 1986. *Protective effect of lactoferrin during a systemic experimental infection of rabbits with Escherichia coli*. Anim. Sci. Pap. Rep. 1, 59-75.
- ZAGULSKI T., LIPIŃSKI P., ZAGULSKA A., BRONIEK S., JARZĄBEK Z., 1989. *Lactoferrin can protect mice against lethal dose of Escherichia coli in experimental infection in vivo*. Br. J. Exp. Path. 70, 697-704.