

Artur Słomka¹, Wiesława Włodarczak², Ewa Żekanowska¹

Udział żelaza niezwiązanego z transferyną w patofizjologii chorób człowieka

¹ Zakład Zaburzeń Hemostazy Katedry Patofizjologii Collegium Medicum
im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytet Mikołaja Kopernika w Toruniu
Kierownik: dr hab. n. med. Ewa Żekanowska, prof. UMK

² Instytut Ochrony Zdrowia, Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa
im. Stanisława Staszica w Pile

STRESZCZENIE

Żelazo jest pierwiastkiem niezbędnym do transportu tlenu, syntezy kwasów nukleinowych oraz wzrostu i proliferacji komórek. Jednakże żelazo wolne, niezwiązane z transferyną (NTBI), może być niezwykle toksyczne, ponieważ generuje powstawanie reaktywnych form tlenu, co prowadzi do uszkodzenia wszystkich biomolekuł. Żelazo niezwiązane z transferyną może brać udział w patogenezie i progresji wielu chorób hematologicznych, jak również w etiopatogenezie uszkodzeń centralnego układu nerwowego u noworodków, chorób neurodegeneracyjnych oraz cukrzycy.

Słowa kluczowe: żelazo, żelazo niezwiązane z transferyną, przeładowanie żelazem

The role of non-transferrin bound iron in pathophysiology of human diseases

ABSTRACT

Iron is an essential element for oxygen transport, nucleic acids synthesis, cell growth and proliferation. The free iron called non-transferrin bound iron (NTBI) is toxic, it generates reactive oxygen species, causing damage of all biomolecules. Non-transferrin bound iron may play the central role in pathogenesis and progression of haematological diseases and also in pathophysiology of central nervous system damages in newborns, neurodegenerative disorders and diabetes.

Key words: iron, non-transferrin bound iron, iron overload

Charakterystyka żelaza niezwiązanego z transferyną

Żelazo niezwiązane z transferyną (*non-transferrin bound iron*, NTBI) zostało po raz pierwszy opisane w 1978 roku u pacjentów chorych na talasemię z zaawansowaną syderozą [1, 2]. Ta frakcja żelaza wykrywana jest przede wszystkim u osób z saturacją transferyny $\geq 100\%$ [1, 3–6]. Dzięki opracowaniu bardzo czułych metod diagnostycznych NTBI zostało również wykryte u chorych z niepełną satura-

cją transferyny [1, 7]. Zjawisko to można tłumaczyć małą efektywnością przekazywania NTBI z niskocząsteczkowych ligandów do cząsteczek transferyny [8]. Chemiczna natura NTBI nie jest do końca poznana. Uważa się, że NTBI połączone jest z niskocząsteczkowymi ligandami, takimi jak: AMP, ATP, mleczan, fosforan, cytrynian, octan, aminokwasy i węglowodany oraz białkami – albuminą i ceruloplazminą [1, 3, 4, 6, 7, 9, 10–19]. Przyjmuje się, że NTBI stanowi wszystkie formy żelaza związane z innymi ligandami niż transferyna [1, 7]. Badania z użyciem deferok-

saminy (DFO – silny chelator żelaza) wykazały, że istnieją dwie formy NTBI, jedna bezpośrednio chelatowana przez DFO, druga ulegająca temu procesowi tylko w obecności szczawianów lub kwasu nitrylotrioctowego (NTA) [1]. W surowicy chorych na hemochromatozę wykrywana jest wyłącznie pierwsza forma NTBI, podczas gdy u chorych na β -talasemię wykrywane są obie formy [1, 20]. Pierwsza frakcja NTBI – niskocząsteczkowa (*low molecular weight-NTBI*, LMW-NTBI) związana jest z fosforanami lub cytrynianami, druga – wielkocząsteczkowa (*high molecular weight-NTBI*, HMW-NTBI) związana jest z albuminą lub ceruloplazminą [20]. Generowanie NTBI może być związane z fagocytozą erytrocytów przez makrofagi [1]. Proces ten jest szczególnie nasilony w niedokrwistościach hemolitycznych, gdzie makrofagi uwalniają do krwiobiegu heterogenną grupę związków składającą się z hemoglobiny, ferrytyny i żelaza związanego z niskocząsteczkowymi ligandami [1]. Mało prawdopodobne jest, aby u pacjentów z nadmierną kumulacją żelaza ferrytyna była źródłem NTBI, ze względu na duże powinowactwo tego białka do jonów żelaza [1]. Zaobserwowano, że przyjmowanie witaminy C, w dawce przekraczającej dobowe zapotrzebowanie, może istotnie zwiększać generację NTBI [1, 4]. Żelazo niezwiązane z transferyną jest bardzo szybko i sprawnie usuwane z krwiobiegu [9]. Jak wynika z badań przeprowadzonych na modelach zwierzęcych, 60% do 80% NTBI usuwane jest przez hepatocyty, podczas gdy łączeniu z transferyną ulega tylko 2% [9, 21]. Okres półtrwania NTBI w krwiobiegu wynosi około 30 sekund [9]. Z badań eksperymentalnych przeprowadzonych na retikulocytach królika i szczura wynika, że komórki pobierają NTBI w zależności od saturacji oraz temperatury, a proces ten jest hamowany przez trypsynę [18]. Parkes i wsp. wykazali, że komórki HepG2 (*human liver carcinoma cell line*) pobierają NTBI niezależnie od transferyny, a proces ten zależy od ilości żelaza komórkowego [18, 19]. Żelazo niezwiązane z transferyną pobierane jest również przez makrofagi za pomocą białka Nramp1 (*natural resistance macrophage associated protein 1*) oraz przez enteroocyty i prekursor erytrocytów poprzez Nramp2 [22]. Zaproponowano, że NTBI może być transportowane do wnętrza komórek za pomocą mobilferryny, $\alpha_v\beta_3$ -integryny i receptora dla transferyny typu 2 (*transferrin receptor-2*, TfR-2) [22, 23]. Mwanjewe i wsp. w badaniach na hodowlach komórkowych guza chromochłonnego PC12 (*pheochromocytoma*) dowiedli, że NTBI może być pobierane za pośrednictwem kanału dla wapnia TRPC6 (*transient receptor potential canonical 6*) [22]. Pobieranie NTBI przez ten typ komórek wzrasta po dodaniu do hodowli

czynnika wzrostu neuronów NGF (*nerve growth factor*) oraz diacylglicerolu (DAG) [22]. Może mieć to duże znaczenie w patogenezie chorób neurodegeneracyjnych, takich jak choroba Parkinsona [22]. Z kolei Liuzzi i wsp. dowiedli, że komórki HEK293H (*human embryonic kidney cells*) pobierają NTBI poprzez transporter dla cynku Zip14 (*Slc39a14, solute carrier family 39 (zinc transporter), member 14*) [21]. Shvartsman i wsp. wykazali, że NTBI pobierane do wnętrza komórek ulega połączeniu z ferrytyną i IRP1 (*iron responsive protein*) i jest transportowane do mitochondrium w formie nielabilnej [19].

NTBI może brać udział w reakcjach wolnorodnikowych (Fentona, Haber-Weissa), uszkadzając białka, lipidy i DNA [1, 2, 4, 8, 9, 13–17, 24–27]. NTBI powoduje depolimeryzację polisacharydów, pękanie wiązań w DNA, peroksydację lipidów i inaktywację enzymów [12, 15]. Uszkadza błonę komórkową, zaburza kaskadę sygnałów wewnątrzkomórkowych oraz indukuje apoptozę [26, 28]. Dodatkowo NTBI hamuje rozwój limfocytów cytotoksycznych [29]. Żelazo niezwiązane z transferyną ma również zdolność *in vitro* do hamowania tworzenia kolonii przez prekursor erytrocytów oraz granulocytów [14]. Dodatek apotransferyny do hodowli prekursorów hamuje działanie wolnego żelaza i chroni przed jego toksycznym wpływem [14]. Thephinlap i wsp. wykazali, że katechiny zawarte w zielonej herbacie są naturalnymi chelatorami NTBI [14]. NTBI nie jest wykrywane w surowicy krwi zdrowych ludzi [9, 14, 27, 30, 31].

Oznaczanie stężenia NTBI może stać się użytecznym narzędziem w diagnostyce chorób związanych z nadmierną kumulacją żelaza. W przeciwieństwie do rutynowo oznaczanych parametrów, takich jak saturacja transferyny czy stężenie ferrytyny, NTBI nie podlega wpływom mediatorów stanu zapalnego.

Metody oznaczania NTBI

Wyróżnia się dwie główne grupy metod służących do oznaczania NTBI w materiale biologicznym [1, 6, 10, 11, 16]. Pierwszy rodzaj, opierający się na reakcji NTBI z EDTA (kwas etylenodiaminotetraoctowy, *ethylenediaminetetraacetic acid*) lub NTA (kwas nitrylotrioctowy, *nitrilotriacetic acid*), wymaga stosowania mikrofiltracji w celu usunięcia białek surowicy [1, 7, 10, 11, 13, 32]. Wykazano, że kwas NTA wiąże żelazo z transferyny (~0,5 $\mu\text{mol/l}$) oraz ferrytyny (~0,3 $\mu\text{mol/l}$) [10]. Detekcja NTBI w ultrafiltracie odbywa się za pomocą metod kolorymetrycznych, fluorescencyjnych, wysokosprawnej chromatografii cieczowej (*High Performance Liquid*

Chromatography, HPLC) lub absorpcji atomowej (Electrothermal Atomic Absorption Spectrometry, ETAAS) [1, 4, 7, 10, 13, 32, 33]. Metoda z użyciem HPLC jest polecana do wykonywania badań u chorych w trakcie terapii deferoxaminą [4, 33]. Technika z wykorzystaniem kwasu nitrylotrioctowego powinna być stosowana u pacjentów z saturacją transferyny bliską 100% oraz nieprzyjmujących preparatów deferoxaminy [33]. W metodach należących do grupy drugiej mobilizacja i detekcja NTBI odbywa się w jednej mieszaninie reakcyjnej [1, 4]. Przykładem tego rodzaju metod jest metoda z bleomycyną, która została po raz pierwszy zastosowana w 1981 roku [5]. Bleomycyna jest lekiem przeciwnowotworowym, słabo wiążącym jony żelaza [8, 16]. W wyniku połączenia cząsteczki bleomycyny z żelazem powstaje kompleks, który w obecności kwasu askorbinowego uszkadza strukturę DNA [1, 5, 8, 10, 32, 34]. Ilość powstających uszkodzeń DNA jest wprost proporcjonalna do stężenia NTBI w surowicy krwi [1, 8, 10, 25, 34]. Dodatkowo, bleomycyna, w neutralnym pH, nie wykazuje powinowactwa do żelaza związanego z ferrytyną, transferyną, laktoferyną, hemoglobina i katalazami [5, 8, 25]. Bonsdorff i wsp. wykazali, że zastosowanie metody z bleomycyną u pacjentów z nowotworami hematologicznymi pozwala na wykrycie tylko części NTBI, w porównaniu do metody z zastosowaniem NTA [10]. Była ona skuteczna tylko w sytuacji, kiedy saturacja transferyny wynosiła powyżej 80% [10]. Prawdopodobnie kwas NTA chelatuje żelazo z kompleksów niedostępnych dla cząsteczki bleomycyny [10]. Dodatkowo, w metodzie z bleomycyną powstaje bardzo dużo substancji interferujących [5]. Alternatywą dla metody z bleomycyną jest metoda z użyciem deferoxaminy lub transferyny wyznakowanej fluorochromem [1]. W celu zablokowania wolnych miejsc na transferynie, do próbki surowicy dodaje się jonów Co (III), Ga (III) lub roztworu o niskim stężeniu żelaza [1, 4, 7, 33]. Procedura ta jest szczególnie ważna w oznaczaniu NTBI u pacjentów z prawidłową saturacją transferyny [1, 4]. Opisano również inne metody oznaczania żelaza niezwiązanego z transferyną, jak np. filtracja na żelu [13, 33]. Breuer i wsp. zaproponowali łatwe w realizacji jednokrokowe, fluorescencyjne metody do oznaczania NTBI [7, 11]. W metodach tych wykorzystuje się apotransferynę lub kalceinę wyznakowaną fluorochromem [7, 11]. Metody te okazały się bardzo czułe i specyficzne, ponieważ wykrywają NTBI u pacjentów z niepełną saturacją transferyny [7]. Stężenie hemoglobiny do 3 mg/ml osocza (46,5 $\mu\text{mol/l}$ osocza) nie interferuje w oznaczaniu NTBI [35].

Udział NTBI w patofizjologii chorób człowieka

Żelazo niezwiązane z transferyną wykrywane jest u chorych na: talasemię, hemochromatozę, cukrzycę typu 1 i 2, alkoholizm, zapalenie płuc spowodowane przez *Pneumocystis carinii*, przewlekłą niewydolność nerek, u chorych przyjmujących suplementację żelaza, po zabiegach pomostowania aortalno-więcowego, po leczeniu chelatacyjnym, chemioterapii i transplantacji komórek macierzystych oraz u pacjentów dializowanych leczonych preparatami żelaza i erytropoetyną [4, 10, 11, 14, 16, 25, 30, 31, 36, 37].

Choroby hematologiczne

Obecność NTBI u pacjentów z talasemią jest konsekwencją nieefektywnej erytropoezy, transfuzji krwi, zwiększonego jelitowego wchłaniania i nasilonego niszczenia erytrocytów w układzie siateczkowo-śródbłonastym [2, 9, 15, 20]. Gafter-Gvili i wsp. opisali cztery przypadki pacjentów z niedokrwistością megaloblastyczną, u których stężenie NTBI mieściło się w granicach 1,1–2,6 $\mu\text{mol/l}$ [2]. Marwah i wsp. u pacjentów chorych na anemię sierpowatokrwińkową wykazali istotną statystycznie, ujemną korelację pomiędzy stężeniem witaminy E a stężeniem NTBI [38]. Niskie stężenie tokoferolu sugeruje zmniejszoną aktywność antyoksydacyjną erytrocytów, co może prowadzić do uszkodzenia błony komórkowej i ściany naczyń krwionośnych [38]. Bardzo wysokie stężenie NTBI, powyżej 21,5 $\mu\text{mol/l}$ stwierdzono u dorosłych pacjentów chorych na różne typy białaczek, pomimo 50% saturacji transferyny. Prawdopodobnie chemioterapia powoduje uwolnienie dużych ilości żelaza z komórek białaczkowych [35]. Żelazo niezwiązane z transferyną wykrywane jest również u pacjentów z zespołami mielodysplastycznymi i jest wykładnikiem nieefektywnej erytropoezy [2, 28].

Hemochromatoza

Żelazo niezwiązane z transferyną może być obecne w surowicy krwi pacjentów z hemochromatozą pierwotną, wtórną oraz dziedziczną z mutacją HFE C282Y (substytucja tyrozyny na cysteinę w pozycji 282) [8, 9, 33, 39]. Gutteridge i wsp. wykazali, że stężenie NTBI oznaczone metodą z wykorzystaniem bleomycyny u pacjentów chorych na hemochromatozę, którzy przeszli zabieg wenesekcji nie korelowało ze stężeniem żelaza pozahemowego, a wykrywane było wyłącznie u pacjentów ze stężeniem żelaza całkowitego powyżej 40 $\mu\text{mol/l}$ [8]. Ba-

dacze wykazali również, że NTBI ma zdolność peroksydacji lipidów [8, 9]. Peters i wsp. w badaniach z udziałem 14 pacjentów (4 z hemochromatozą i 10 z przeładowaniem żelazem po transfuzjach krwi) wykazali obecność NTBI u 6 z nich, a stężenie NTBI korelowało dodatnio ze stężeniem ferrytyny [8]. W badaniach Aruoma i wsp. stężenie żelaza niezwiązanego z transferyną mieściło się w zakresie 7–21,7 $\mu\text{mol/l}$ i korelowało dodatnio ze stężeniem żelaza pozahemowego oraz ferrytyny [8]. Valk i wsp. w badaniach na 27 homozygotach i 22 heterozygotach chorych na hemochromatozę dziedziczną z obecnością mutacji w genie HFE (Cys282Tyr) wykazali istotnie statystycznie wyższe stężenie NTBI u homozygot w porównaniu z heterozygotami (1,79 $\mu\text{mol/l}$ vs 0,5 $\mu\text{mol/l}$) i osobami zdrowymi (1,79 $\mu\text{mol/l}$ vs -0,3 $\mu\text{mol/l}$) [40]. W obu grupach chorych na hemochromatozę dziedziczną stężenie NTBI dodatnio korelowało ze stężeniem żelaza całkowitego i saturacją transferyny [40]. Podobne wyniki otrzymał Kartikasari i wsp. [39]. W badaniach tych autorów z wykorzystaniem jednoetapowej metody fluorescencyjnej wykazano istotnie statystycznie wyższe stężenie NTBI u homozygot w porównaniu z heterozygotami (7,9 $\mu\text{mol/l}$ vs 4,0 $\mu\text{mol/l}$) oraz osobami zdrowymi (7,9 $\mu\text{mol/l}$ vs 1,6 $\mu\text{mol/l}$) [39]. Badacze dowiedli również, że NTBI ma zdolność do pobudzania adhezji monocytów oraz aktywacji śródbłonna naczyniowego, co objawia się zwiększonym stężeniem molekuł adhezyjnych ICAM-1 (*inter-cellular adhesion molecule-1*), VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule-1*) oraz E-selektyny [39]. Przy użyciu spektroskopii magnetycznego rezonansu jądrowego (*Nuclear Magnetic Resonance*, NMR) Grotveld i wsp. wykazali, że u pacjentów chorych na hemochromatozę idiopatyczną NTBI związane jest głównie z cytrynianem i prawdopodobnie z octanem [12]. Obie formy NTBI mogą być mierzone przy pomocy metody z bleomycyną, obie prowadzą również do nasilenia reakcji wolnorodnikowych [12]. W hemochromatozie obecność NTBI związana jest z większym ryzykiem rozwoju nowotworów [14]. Prawdopodobnie obecność wolnego żelaza w surowicy krwi chorych na hemochromatozę jest główną przyczyną większości objawów klinicznych [40]. Nasiloną peroksydacja lipidów, spowodowana obecnością NTBI, może tłumaczyć wysokie ryzyko zawałów serca u tych pacjentów [40].

Choroby wątroby

Z przeglądu piśmiennictwa wynika, że nadmierna kumulacja żelaza, którego głównym magazynem jest wątroba, prowadzi do toksycznego uszkodzenia wą-

troby, marskości oraz rozwoju raka [17]. Messner i wsp. wykazali, że NTBI jest promotorem transformacji nowotworowej w linii T51B komórek wątroby [17]. NTBI powoduje nasiloną mitozę komórek T51B, co stwierdzono na podstawie wysokiego stężenia cykliny B1 [17]. Przeładowanie żelazem może być odpowiedzialne za dysfunkcję wątroby u pacjentów poddanych przeszczepowi szpiku kostnego [25]. Żelazo niezwiązanego z transferyną u pacjentów poddanych wielokrotnym transfuzjom krwi jest lepszym wskaźnikiem funkcji wątroby niż stężenie ferrytyny [25].

Cukrzyca

Leoncini i wsp. w badaniach u chorych na cukrzycę typu 1 i 2 wykazali obecność NTBI w surowicy 87,5% chorych [31]. Interesujący okazał się fakt, że badacze ci wykryli NTBI u 20,8% osób zdrowych z grupy kontrolnej [31]. Wykazali oni również obecność NTBI w erytrocytach pacjentów chorych na cukrzycę, nie stwierdzili jednak istotnie statystycznych różnic w stężeniu wewnątrzerytrocytarnej puli NTBI pomiędzy pacjentami z cukrzycą typu 1 a cukrzycą typu 2 [31]. Obserwowana zależność pomiędzy stężeniem surowiczego NTBI a stężeniem NTBI w erytrocytach może sugerować zdolność do swobodnego przemieszczania się wolnego żelaza przez błonę krwinek czerwonych [31].

Obecność NTBI w preparatach krwiopochodnych

Stwierdzono obecność NTBI w koncentratkach płytkowych (kcp), co może sprzyjać wzrostowi bakterii *Staphylococcus epidermidis* i zwiększać ryzyko infekcji podczas transfuzji [16]. Zauważono, że wzrost tych drobnoustrojów jest hamowany przez dodanie do koncentratu deferoksaminy [16]. Z tego powodu obecność wolnego żelaza w preparatach krwiopochodnych może przyspieszać rozwój sepsy [10]. Marwah i wsp. wykazali, że NTBI obecne jest również w koncentratkach krwinek czerwonych (kcc) [34]. Przy użyciu metody z bleomycyną dowiedli, że w okresie 3–10 dni po donacji NTBI nie jest wykrywane w kcc, natomiast jego ilość wzrasta wraz z czasem przechowywania koncentratów [34]. Nie stwierdzili oni obecności NTBI w koncentratkach płytkowych oraz świeżo mrożonym osoczu [34]. Prawdopodobną przyczyną istnienia NTBI w kcc jest hemoliza erytrocytów [34]. Wiele chorób z nadmierną kumulacją żelaza, jak np. talasemia czy drepanocytoza, wymaga podawania pacjentom koncentratów krwinek czerwonych, co może po-

wodować dodatkowy wzrost stężenia NTBI u tych chorych [34].

Leczenie cytostatykami

Obecność NTBI w surowicy jest również efektem ubocznym stosowania cytostatyków: cisplatyny, doksorubicyny i bleomycyny [27]. Weijl i wsp. dowiedli, że u pacjentów poddawanych chemioterapii z użyciem cisplatyny NTBI wykrywane jest po 1–4 dniach od rozpoczęcia leczenia, co związane było ze wzrostem stężenia żelaza całkowitego, spadkiem wartości TIBC (*Total Iron Binding Capacity*), zmniejszeniem stężenia hemoglobiny i leukopenią [27]. Z obecnością NTBI u tych pacjentów związany był również wzrost stężenia bilirubiny i aktywności aminotransferazy asparaginianowej (AspAT, *aspartate aminotransferase*), co świadczy o toksycznym wpływie NTBI na wątrobę i nerki [27].

Wpływ NTBI na rozwój płodu

Grupą szczególnie predysponowaną do uszkodzeń spowodowanych przez NTBI są noworodki [15, 26, 31]. Wykazano obecność NTBI w zamartwicy noworodków, co związane jest z delokalizacją żelaza komórkowego i uszkodzeniem tkanki mózgowej [15, 35]. NTBI jest wskaźnikiem nasilenia wewnątrzmacicznych procesów oksydacyjnych i uszkodzenia mózgu u noworodków [15]. Dorrepall i wsp. wykazali obecność NTBI u noworodków z umiarkowaną i ciężką zamartwicą [35]. Stwierdzili, że u noworodków z ciężką zamartwicą, ale bez obecności NTBI rozwój układu nerwowego przebiega prawidłowo [35]. U noworodków z wysokim stężeniem NTBI wykazano obecność grup karbonylowych na cząsteczkach albuminy i α -fetoproteiny, co świadczy o nasileniu generacji reaktywnych form tlenu (ROS, *reactive oxygen species*) [15]. Z badań Marzocchi i wsp. wynika, że wcześniaki mają większe stężenie NTBI oraz produktów oksydacji białek i lipidów niż noworodki urodzone o czasie [15, 35]. Buonocore i wsp. wykazali, że stężenie NTBI we krwi pępowinowej powyżej 15,2 $\mu\text{mol/l}$ jest najlepszym i najwcześniejszym markerem uszkodzeń centralnego układu nerwowego u noworodków [24]. Tkanka nerwowa jest szczególnie wrażliwa na uszkodzenia wolnorodnikowe – błona komórkowa neuronów zawiera duże ilości nienasyconych kwasów tłuszczowych, a w płynie mózgowo-rdzeniowym występuje niskie stężenie transferyny oraz ceruloplazminy i wysokie stężenie witaminy C [24, 35]. Głównym mechanizmem obronnym tkanki nerwowej przed wolnym żelazem jest ferrytyna, której synteza przez

komórki oligodendrogleju zwiększa się w hipoksji, pod wpływem żelaza, nadtlenu wodoru, zasad oraz związków chelatacyjnych [40]. Z tego też powodu żelazo w płynie mózgowo-rdzeniowym noworodków występuje w reaktywnej formie żelazawej [35]. Savman i wsp. wykazali obecność NTBI w płynie mózgowo-rdzeniowym wcześniaków z poszerzeniem komór mózgu (PHVD, *posthemorrhagic ventricular dilatation*) [41]. Nie wykryli natomiast jego obecności u wcześniaków bez PHVD [41]. Niektórzy autorzy sugerują, że uwolnienie żelaza z połączeń z transferyną może mieć związek z kwasicą i hipoksją, które towarzyszą zamartwicy noworodków [24, 26, 35]. Savman i wsp. zaproponowali teorię, że NTBI może pochodzić z ferrytyny lub powstawać podczas katabolizmu cząsteczek hemu [41]. Obecność NTBI w płynie mózgowo-rdzeniowym i surowicy krwi noworodków z encefalopatią niedotlenieniowo–niedokrwienną wykazali Shouman i wsp. [26]. W badaniach przeprowadzonych na grupie 9 noworodków z tym zaburzeniem stwierdzili istotnie statystycznie wyższe stężenie NTBI i MDA (dialdehyd malonowy, produkt peroksydacji lipidów) w porównaniu ze zdrowymi noworodkami [26]. Badania innych autorów wykazały jednak, że żelazo niezwiązane z transferyną obecne jest również w płynie owodniowym w przebiegu ciąży fizjologicznej oraz w surowicy krwi około 25% zdrowych noworodków [24, 35, 42].

Piśmiennictwo

1. Breuer W., Hershko C., Cabantchik Z.I.: *The importance of non-transferrin bound iron in disorders of iron metabolism*. Transfusion Science 2000;23,185–192.
2. Gafter-Gvili A., Prokocimer M., Breuer W., Cabantchik I.Z., Hershko C.: *Non-transferrin-bound serum iron (NTBI) in megaloblastic anemia: effect of vitamin B₁₂ treatment*. Hematol J 2004;5,32–34.
3. Kontoghiorghes G.J.: *Iron mobilization from transferrin and non-transferrin-bound iron by deferiprone. Implications in the treatment of thalassemia, anemia of chronic disease, cancer and other conditions*. Hemoglobin 2006;30,183–200.
4. Prakash M.: *Role of non-transferrin-bound iron in chronic renal failure and other disease conditions*. Indian Journal of Nephrology 2007;17,188–193.
5. Richardson D.R., Dean R.T.: *Does free extracellular iron exist in haemochromatosis and other pathologies, and is it redox active?* Clin Sci 2001;100,237–238.
6. Scheiber-Mojdehkar B., Lutzky B., Schaufler R., Sturm B., Goldenberg H.: *Non-transferrin-bound iron in the serum of hemodialysis patients who receive ferric saccharate: no correlation to peroxide generation*. J Am Soc Nephrol 2004; 15,1648–1655.

7. Breuer W, Cabantchik Z.I.: *A fluorescence-based one-step assay for serum non-transferrin bound iron*. Anal Biochem 2001;299,194–202.
8. Aruoma O.I., Bomford A., Polson R.J., Halliwell B.: *Non-transferrin-bound iron in plasma from hemochromatosis patients: effect of phlebotomy therapy*. Blood 1988;72,1416–1419.
9. Anderson G.J.: *Non-transferrin-bound iron and cellular toxicity*. J Gastroenterol Hepatol 1999;14,105–108.
10. von Bonsdorff L., Lindeberg E., Sahlstedt L., Lehto J., Parkkinen J.: *Bleomycin-detectable iron assay for non-transferrin-bound iron in hematologic malignancies*. Clin Chem 2002; 48,307–314.
11. Breuer W, Ronson A., Slotki I.N.: *The assessment of serum nontransferrin-bound iron in chelation therapy and iron supplementation*. Blood 2000;95,2975–2982.
12. Grootveld M., Bell J.D., Halliwell B., Aruoma O.I., Bomford A., Sadler P.J.: *Non-transferrin-bound iron in plasma or serum from patients with idiopathic hemochromatosis. Characterization by high performance liquid chromatography and nuclear magnetic resonance spectroscopy*. J Biol Chem 1989;264,4417–4422.
13. Jittangprasert P., Wilairat P., Pootrakul P.: *Comparison of colorimetry and electrothermal atomic absorption spectroscopy for the quantification of non-transferrin bound iron in human sera*. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2004;35,1039–1044.
14. Juvonen E., Sahlstedt L., Parkkinen J.: *Inhibition of erythroid and granulocyte-macrophage colony formation by non-transferrin-bound iron in vitro: protective effect of apotransferrin*. Eur J Haematol 2007;79,126–131.
15. Marzocchi B., Perrone S., Paffetti P., Magi B., Bini L., Tani C. i wsp.: *Nonprotein-bound iron and plasma protein oxidative stress at birth*. Pediatr Res 2005;56,1295–1299.
16. Matinaho S., Parkkinen J.: *Non-transferrin bound iron in platelet concentrates promotes the growth of Staphylococcus epidermidis*. Transfusion 2005;45,927–933.
17. Messner D.J., Kondley K.V.: *Neoplastic transformation of rat liver epithelial cells is enhanced by non-transferrin-bound iron*. Gastroenterology 2008;8,1–10.
18. Parkes J.G., Randell E.W., Olivieri N.F., Templeton D.M.: *Modulation by iron loading and chelation of the uptake of non-transferrin-bound iron by human liver cells*. BBA 1995;1243, 373–380.
19. Shvartsman M., Kikkeri R., Shanzer A., Cabantchik Z.I.: *Non-transferrin-bound iron reaches mitochondria by a chelator-inaccessible mechanism: biological and clinical implications*. Am J Physiol Cell Physiol 2007;293,1383–1394.
20. Thephinlap C., Ounjaijean S., Khansuwan U., Fucharoen S., Porter J.B., Srichairatanakool S.: *Epigallocatechin-3-gallate and epicatechin-3-gallate from green tea decrease plasma non-transferrin bound iron and erythrocyte oxidative stress*. Medicinal Chemistry 2007;3,289–296.
21. Liuzzi J.P., Aydemir F., Nam H., Knutson M.D., Cousins R.J.: *Zip14 (Slc39a14) mediates non-transferrin-bound iron uptake into cells*. PNAS 2006;103,13612–13617.
22. Mwanjewe J., Grover A.K.: *Role of transient receptor potential canonical 6 (TRPC6) in non-transferrin-bound iron uptake in neuronal phenotype PC12 cells*. Biochem J 2004; 15,975–982.
23. Graham R.M., Reutens G.M., Herbison C.E., Delima R.D., Chua A.C., Olynyk J.K. i wsp.: *Transferrin receptor 2 mediates uptake of transferrin-bound and non-transferrin-bound iron*. J Hepatol 2008;48,327–334.
24. Buonocore G., Perrone S., Longini M., Paffetti P., Vezzosi P., Gatti M.G. i wsp.: *Non protein bound iron as early predictive marker of neonatal brain damage*. Brain 2003; 126,1224–1230.
25. Harrison P., Neilson J.R., Marwah S.S., Madden L., Barford D., Milligan D.W.: *Role of non-transferrin bound iron in iron overload and liver dysfunction in long term survivors of acute leukaemia and bone marrow transplantation*. J Clin Pathol 1996;49,853–856.
26. Shouman B.O., Mesbah A., Aly H.: *Iron metabolism and lipid peroxidation products in infants with hypoxic ischemic encephalopathy*. J Perinatol 2008;28,487–491.
27. Weijl N.I., Elsendoorn T.J., Moison R.M., Lentjes E.G., Brand R., Berger H.M. i wsp.: *Non-protein bound iron release during chemotherapy in cancer patients*. Clin Sci 2004; 106,475–484.
28. Cortelezzi A., Cattaneo C., Cristiani S., Duca L., Sarina B., Deliliers G.L. i wsp.: *Non-transferrin-bound iron in myelodysplastic syndromes: a marker of ineffective erythropoiesis?* Hematol J 2000;1,153–158.
29. Gehrke S.G., Kulaksiz H., Herrmann T., Riedel H.D., Bents K., Veltkamp C. i wsp.: *Expression of hepcidin in hereditary hemochromatosis: evidence for a regulation in response to the serum transferrin saturation and to non-transferrin-bound iron*. Blood 2003;102,371–376.
30. van der A D.L., Marx J.J., Grobbee D.E., Kamphuis M.H., Georgiou N.A., van Kats-Renaud J.H. i wsp.: *Non-transferrin-bound iron and risk of coronary heart disease in postmenopausal women*. Circulation 2006;113,1942–1949.
31. Leoncini S., Rossi V., Signorini C.: *Oxidative stress, erythrocyte ageing and plasma non-protein-bound iron in diabetic patients*. Free Radic Res 2008;42,716–724.
32. Prezelj M., Knap B.: *Automated assay for non-transferrin-bound iron in serum samples*. Clin Chem Lab Med 2010; 48,1427–1432.
33. Gosriwatana I., Loreal O., Lu S., Brissot P., Porter J., Hider R.C.: *Quantification of non-transferrin-bound iron in the presence of unsaturated transferrin*. Anal Biochem 1999; 273,212–220.
34. Marwah S.S., Blann A., Harrison P., Lumley M.A., Wright J., McDowell J. i wsp.: *Increased non-transferrin bound iron in plasma-depleted SAG-M red blood cell units*. Vox Sang 2002;82,122–126.

35. Dorrepaal C.A., Berger M.H., Benders M.J.N.L.: *Nonprotein-bound iron in postaphyixial reperfusion injury of the newborn*. Pediatrics 1996;98,883–889.
36. Taher A., Musallam K.M., El Rassi F., Duca L., Inati A., Koussa S. i wsp.: *Levels of non-transferrin-bound iron as an index of iron overload in patients with thalassaemia intermedia*. Br J Haematol 2009;146,569–572.
37. Sahlstedt L., von Bonsdorff L., Ebeling F., Parkkinen J., Juvonen E., Ruutu T.: *Non-transferrin-bound iron in haematological patients during chemotherapy and conditioning for autologous stem cell transplantation*. Eur J Haematol 2009;83,455–459.
38. Marwah S.S., Wheelwright D., Blann A.D., Rea C., Beresford R., Phillips J.D. i wsp.: *Vitamin E correlates inversely with non-transferrin-bound iron in sickle cell disease*. Br J Haematol 2001;114,917–919.
39. Kartikasari A.E., Georgiou N.A., Visseren F.L., van Kats-Renaud H., van Asbeck B.S., Marx J.J.: *Endothelial activation and induction of monocyte adhesion by non-transferrin-bound iron present in human sera*. FASEB J 2006;20,353–355.
40. de Valk B., Addicks M.A., Gosriwatana I., Lu S., Hider R.C., Marx J.J.: *Non-transferrin-bound iron is present in serum of hereditary haemochromatosis heterozygotes*. Eur J Clin Invest 2000;30,248–251.
41. Savman K., Nilsson U.A., Blennow M., Kjellmer I., Whitelaw A.: *Non-protein-bound iron is elevated in cerebrospinal fluid from preterm infants with posthemorrhagic ventricular dilatation*. Pediatr Res 2001;49,208–212.
42. Gazzolo D., Perrone S., Paffetti P., Longini M., Vezzosi P., Bruschetti M. i wsp.: *Non protein bound iron concentrations in amniotic fluid*. Clin Biochem 2005;38,674–677.

Adres do korespondencji / Mailing address:

Artur Słomka
 Zakład Zaburzeń Hemostazy Katedry
 Patofizjologii Collegium Medicum im. Ludwika
 Rydygiera w Bydgoszczy Uniwersytet Mikołaja
 Kopernika w Toruniu,
 ul. Marii Skłodowskiej-Curie 9,
 85-094 Bydgoszcz,
 tel.: (052) 585-35-91; fax: (052) 585-35-95,
 e-mail: slomkaartur@gmail.com;

Praca wpłynęła do Redakcji: 13 grudnia 2010

Zaakceptowano do druku: 18 stycznia 2011