



Wykorzystanie ferrytyny roślinnej do wzbogacania żywności w żelazo

Magdalena Zielińska-Dawidziak

Katedra Biochemii i Analizy Żywności, Wydział Nauk o Żywności i Żywieniu, Uniwersytet Przyrodniczy, Poznań

Application of phytoferritin into food fortification in iron

Summary

Various actions have been taken in object to improve human diet in iron with high bioavailability. One of the new possibility of food fortification is introduction phytoferritin into. In order to do this various strategies are used as increasing of native ferritin supply in human diets as far as application genetic engineering for receiving cultivated plants with high expression of this plant. The most important feature of ferritin introducing into food is its high bioavailability.

Key words:

ferritin, iron, supplementation, biofortification.

1. Wstęp

Dostarczanie odpowiednich ilości żelaza w diecie ma podstawowe znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania organizmu człowieka, ponieważ żelazo jest ważnym składnikiem wielu białek i enzymów istotnych dla prowadzenia procesów życiowych. Niedobory tego mikroelementu dotyczą olbrzymiej części populacji, powodując liczne schorzenia, w tym nieodwracalną utratę zdolności uczenia się u dzieci czy anemię (1). Suplementacja żywności w żelazo okazuje się przy tym niezwykle trudna, ponieważ wymaga wyjątkowo szerokiej wiedzy odnośnie do zarówno bioprzyswajalności dodawanego składnika, jego działania na zdrowie zwierząt i człowieka, jak i oddziaływań z innymi składnikami żywności. Uważa się, że zwiększanie wartości

Adres do korespondencji

Magdalena
Zielińska-Dawidziak,
Katedra Biochemii
i Analizy Żywności,
Wydział Nauk o Żywności
i Żywieniu,
Uniwersytet Przyrodniczy,
ul. Mazowiecka 48,
60-623 Poznań.

odżywczej żywności pochodzenia roślinnego poprzez biofortyfikację spowoduje bardziej wydajne i zrównoważone rozwiązanie problemu niedoborów żelaza (2). Wykorzystuje się w tym celu zarówno klasyczne metody hodowli, metody genetyczne, jak i ich łączenie. Głównym celem prowadzonych projektów jest wzbogacenie roślin w ferrytynę roślinną.

2. Funkcja ferrytyny

Ferrytyna jest białkiem istotnym dla funkcjonowania praktycznie wszystkich żywych organizmów, czego dowodzi powszechność występowania tego białka w żywych organizmach, począwszy od bakterii do komórek eukariotycznych. Często podkreślana jest przy tym wysoce konserwatywna struktura przestrzenna, czyli płaszcz białkowy, nazywany najczęściej muszlą, wypełniony żelazem. Płaszcz ten utworzony jest z 24 lub 12 podjednostek białkowych. Każda z tych podjednostek skręcona jest w cztery długie helisy, połączone w pary. Wewnątrz polipeptydowych łańcuchów apoferrytyny tkwi konserwatywne centrum ferrokasydazy, które warunkuje zdolność ferrytyny do utleniania Fe^{2+} do mniej toksycznego Fe^{3+} i wiązania go w formie wodorotlenku żelazowego w połączeniu ze zmienną ilością fosforanów. Ferrytyna roślinna cechuje się, w porównaniu do zwierzęcej, wysoką zawartością fosforanów (3).

Ferrytyna jest jedynym znanym białkiem, które ma zdolność do zakumulowania 10^{-2} M żelaza, podczas gdy rozpuszczalność związków żelaza (III) w fizjologicznych warunkach pH, temperatury, w obecności powietrza wynosi zaledwie 10^{-18} M. Rolą ferrytyny jest skoncentrowanie żelaza w komórkach do takiego poziomu, który umożliwi ich prawidłowe funkcjonowanie (10^{-3} - 10^{-5} M) (3,4).

Konserwatywność sekwencji ferrytyny, drugo-, trzecio- i czwartorzędowej struktury wśród roślin i zwierząt jest bardzo wysoka, co potwierdzone zostało możliwością wykorzystania fragmentu sekwencji ferrytyny zwierzęcej (żabiej) do klonowania genu ferrytyny roślinnej (sojowej) (5,6).

Fitoferrytyna rozmieszczona jest nierównomiernie w organach roślin. Znajduje się przede wszystkim w plastydach – w chloroplastach liści, w amyloplastach korzeni i nasion, a w roślinach motylkowych najwięcej ferrytyny syntezowane jest w brodawkach korzeniowych (7,8).

Podstawowe funkcje, jakie pełni ferrytyna w organizmach roślinnych, to: magazynowanie żelaza na potrzeby komórek, a zatem także funkcja donorowa i jednocześnie ochronna przed nadmiernym stężeniem żelaza. Co najważniejsze, ferrytyna magazynuje żelazo w formie Fe^{3+} , czyli niezdolnej do katalizowania tworzenia wolnych rodników. Zdolność do magazynowania żelaza przez ferrytynę jest ogromna i sięga aż do 4500 atomów żelaza wewnątrz płaszczu białkowego, w biodostępnej postaci. Dodatkowo białko to reguluje w komórkach stężenie metali przejściowych (9) i odgrywa podstawową rolę w łagodzeniu skutków powstawania reaktywnych

form tlenu (10) i ataku patogenów (11). W najnowszych pracach sugeruje się również znaczenie ferrytyny w ochronie genomu (12).

3. Ferrytyna i dieta

Coraz częściej wspomina się o kolejnej funkcji ferrytyny roślinnej, która jest związana z jej znaczeniem w żywieniu człowieka. Na szeroką skalę prowadzone są badania nad bioprzyswajalnością naturalnie występującej ferrytyny, głównie roślin strączkowych (13). Początkowo, podczas doświadczeń przeprowadzonych na grupie mężczyzn – ochotników z prawidłowym poziomem żelaza, stwierdzono jego niską biodostępność z roślin strączkowych, czyli głównie żelaza ferrytynowego. Kiedy jednak badania te wykonano na grupach szczurów wykazujących znaczne niedobory żelaza, wykazano jego dobrą przyswajalność (14,15). Dobrą bioprzyswajalność żelaza stwierdzono również podczas badań biodostępności izolatów ferrytynowych (16). Rezultaty te całkowicie potwierdziły się w badaniach prowadzonych na grupie Amerykanek wykazujących niedobory żelaza (17). Odmienne wyniki w porównaniu do tych, które uzyskano podczas doświadczeń z udziałem zdrowych mężczyzn (18), sugerują przede wszystkim zależność biodostępności ferrytyny od wyjściowego poziomu żelaza u osobników wchodzących w skład grupy eksperymentalnej. Możliwość adaptacji organizmu do wykorzystywania żelaza ferrytynowego jest wyjątkowa i bardzo pożądana, ponieważ nadmierna kumulacja żelaza w organizmie wywoływać może m.in. oksydacyjne uszkodzenia lipidów i organelli komórkowych.

Obecnie endogenna ferrytyna została uznana za alternatywne i naturalne źródło żelaza do suplementacji diety człowieka (19). Biodostępność żelaza ferrytynowego nie różni się bowiem od biodostępności żelaza z siarczanu żelaza (II), który jest standardową substancją kontrolną. Coraz częściej sugeruje się jednak, że jego stosowanie do wzbogacania żywności i suplementacji powinno być ograniczane, przede wszystkim ze względu na wywoływany przez FeSO_4 efekt prooksydacyjny, a także znaczne przebarwienie żywności (20). Należy przy tym jeszcze raz podkreślić, że sens dodawania do diety roślin, które są bogatym źródłem ferrytyny, polega na tym, że biodostępność żelaza zamkniętego w białkowej muszli jest w małym stopniu zależna od zmienności innych składników diety. Bardzo ważną z punktu widzenia technologii żywności jest znaczna odporność ferrytyny na wiele czynników denaturujących, takich jak niskie pH, temperatura (do 85°C) i wielu proteolitycznych enzymów (3,4), co warunkuje utrzymanie żelaza ferrytynowego wewnątrz cząsteczki białkowej podczas wielu procesów technologicznych. Ferrytyna pozostaje również odporna na trawienie *in vitro* (21,22).

Obecnie doskonalą się metody hodowlane dla odmian cechujących się wysoką zawartością tego białka oraz poszukuje nowych odmian soi, przeprowadzając naturalną selekcję i krzyżowanie, aby uzyskać odmiany o podwyższonej zawartości ferrytyny w nasionach (21).

Nie powiodło się natomiast zwiększanie zawartości ferrytyny, głównie w ziarniakach zbóż i nasionach roślin strączkowych, metodą nawożenia środkami bogatymi w sole żelaza. Wiązanie żelaza poprzez korzenie roślin uprawnych i transportowanie ich do pożądaných fragmentów roślin, głównie nasion i ziarniaków tych roślin było zupełnie nieproporcjonalne do ilości dostarczonego żelaza. Metoda ta, jak do tej pory, jest bardzo kosztowna, mało wydajna, a przy tym powoduje wyraźne zmiany w wyglądzie roślin i ich żywotności (przebarwienie, karłowacenie) oraz w plonowaniu (21,22).

Inną drogą wzbogacania żywności w fitoferrytynę jest wprowadzenie do roślin genów kodujących ferrytynę. Na wyjątkową uwagę zasługuje transformacja ryżu genem ferrytyny sojowej za pośrednictwem *Agrobacterium tumefaciens*. Zawartość żelaza w nasionach transgenicznego ryżu wzrosła trzykrotnie w porównaniu do zawartości w nasionach nietransformowanych (23). Potwierdzono przy tym porównywalną przyswajalność żelaza z otrzymanego transgenicznego ryżu w badaniach wykonanych na szczurach wykazujących niedobory żelaza (24) do żelaza z ferrytyny sojowej. Otrzymany rezultat potwierdził możliwość wykorzystania kolejnej drogi biofortyfikacji żywności w żelazo.

Wprowadzenie do kukurydzy dodatkowo, oprócz genów kodujących ferrytynę, genu fitazy z *Aspergillus* poza zwiększeniem zawartości żelaza w ziarniakach kukurydzy (20-70%) spowodowało wzrost jego biodostępności (25), jednak w wyniku obróbki termicznej następowała degradacja tego enzymu. Ten kierunek eksperymentów nad dodatkowym zwiększeniem biodostępności ferrytyny roślinnej jest szczególnie intensywnie badany. Poszukuje się zarówno metodą naturalnej selekcji odmian o niskim poziomie fitynianów, jak i możliwości wprowadzenia do genomu roślin hodowlanych termostabilnej fitazy.

Wiele zalet związanych z wprowadzaniem ferrytyny roślinnej do żywności nie powinno przysłonić aspektów, które wymagają dalszego, dokładnego przebadania. Przede wszystkim należy tutaj wymienić zdolność ferrytyny do kumulacji innych metali, w tym berylu, glinu, cynku, kadmu i ołowiu zamiast żelaza w mineralnym rdzeniu (26-29). Wysokie stężenie toksycznych metali w glebie bezpośrednio przekłada się na kumulację tych metali w roślinach, a zatem i w ferrytynie roślinnej, a następnie w organizmach spożywających je ludzi. Dlatego należy bardzo dokładnie kontrolować ryzyko wprowadzenia z ferrytyną innych metali do żywności.

Jednak ze względu na wyjątkowo obiecujące rezultaty badań nad biodostępnością żelaza ferrytynowego należy spodziewać się szybkiego jej zastosowania do komercyjnego wytwarzania nutraceutyków i wzbogacanej w żelazo żywności.

4. Podsumowanie

Żelazo ferrytynowe jest niehemową formą żelaza, które cechuje się wysoką bio przyswajalnością w organizmie człowieka, nie powodując drastycznych zmian w żywności, do której jest dodawana. Wymagane są oczywiście dalsze badania nad

wpływem na przyswajalność żelaza ferrytynowego substancji poprawiających i inhibujących dostępność żelaza niehemowego. Uzyskane dotychczas rezultaty wskazują na potencjalnie duże znaczenie ferrytyny w łagodzeniu ogólnoswiatowych problemów związanych z niedoborami żelaza.

Publikacja finansowana przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego (grant N312 029 31/2098).

Literatura

1. World Health Organization, (2001), *Iron Deficiency Anemia. Assessment, Prevention and Control*.
2. Haas J. D., Beard J. L., Murray-Kolb L. E., del Mundo A. M., Felix A., Gregorio G. B., (2005), *J. Nutr.*, 135, 2823-2830.
3. Theil E. C., (2000), *Handbook of Metalloproteins*, Eds. Messerschmidt A., Huber R., Poilos T., Wieghardt K., 771-781, John Wiley and Sons, Chichester.
4. Liu X., Theil E. C., (2005), *Accounts Chem. Res.*, 38, 167-175.
5. Ragland M., Briat J. F., Gagnon J., Laulhere J. P., Masseset O., Theil E. C., (1990), *J. Biol. Chem.*, 265, 18339-18344.
6. Theil E. C., (2003), *J. Nutr.*, 133, 1549-1553.
7. Theil E. C., Hase T., (1993), *Iron chelation in Plants and Soil Microorganism*, Eds. L. L. Barton, B. C. Hemming, 133-156, Academic, San Diego.
8. Seckback J., (1982), *J. Plant Nutr.*, 5, 369-394.
9. Rama Kumar T., Prasad M. N. V., (1999), *J. Plant. Physiol.*, 155, 652-655.
10. Deak M., Horvarth G. V., Davletova S., Török K., Vass I., Barna B., Kiraly, Dudits D., (1999), *Nat. Biotechnol.*, 17, 192-196.
11. Mata C. G., Lamattina L., Cassia R. O., (2001), *Eur. J. Plant Pathol.*, 107, 557-562.
12. Surguladze N., Patton S., Cozzi A., Fried M. G., Connor J. R., (2005), *Biochem. J.*, 388, 731-740.
13. Theil E. C., Briat J. F., (2004), *Harvest Plus Technical Monograph 1*, Washington, DC and Cali, International Food Policy Research Institute and International Center for Tropical Agriculture, 6.
14. Beard J. L., Burton J. W., Theil E. C., (1996), *J. Nutr.*, 126, 154-160.
15. Theil E. C., Burton J. W., Beard J. L., (1997), *Eur. J. Clin. Nutr.*, 51, S28-31.
16. Krejpcio Z., Smól J., Twardowski T., Wójciak R., (2003), *J. Nutr.*, Supplement, 133, 239E.
17. Murray-Kolb L. E., Welch R., Theil E. C., Beard J. L., (2003), *Am. J. Clin. Nutr.*, 77, 180-184.
18. Lynch S. R., Dassenko S. A., Beard J. L., Cook J. D., (1984), *Am. J. Clin. Nutr.*, 40, 42-47.
19. Theil E. C., (2004), *Annu. Rev. Nutr.*, 24, 327-343.
20. Hurrel R. F., (2002), *J. Nutr.*, 132, 806-812.
21. Lönnerdal B., (2003), *J. Nutr.*, 133, 1490-1493.
22. Drakakaki G., Christou P., Stoger E., (2000), *Transgenic Res.*, 9, 445-452.
23. Davila-Hicks P., Theil E. C., Lönnerdal B., (2004), *Am. J. Clinical Nutr.*, 80, 936-940.
24. Goto F., Yoshihara T., Shigemoto N., Toki S., Takaiwa F., (1999), *Nat. Biotechnol.*, 17, 282-286.
25. Murray-Kolb L. E., Theil E. C., Takaiwa F., Goto F., Yoshira T., Beard J. L., (2002), *J. Nutr.*, 132, 957-960.
26. Drakakaki G., Marcel S., Glahn R. P. Lund E. K., Pariagh S., Fischer R., Christou P., Stoger E., (2005), *Plant Mol. Biol.*, 59, 869-880.
27. Szczekan S. R., Joshi J. G., (1989), *Biochim. Biophys Acta*, 990, 8-14.
28. Rama Kumar T., Prasad M. N. V., (1999), *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 62, 502-507.
29. Polanams J., Ray A. D., Watt R. K., (2005), *Inorg. Chem.*, 44, 3203-3209.
30. Smól J., (2001), praca doktorska, IChB PAN, Poznań.