

## LAKTOFERRİNİN MULTİFONKSİYONEL KAPASİTESİ VE TERAPÖTİK POTANSİYELİ

ÖZET: laktoferrin (LF) çoğu vücut sıvısında bulunan yüksek fonksiyonel çok yönlülüğü bulunan bir glikoproteindir. Bu çalışmanın amacı LF ile ilişkili özellikleri toplamak ve bilgileri güncellemektedir.

Bu derlemeye göre, LF hem doğuştan hem de adaptif immun cevaplar için iyi bir immunomodülatördür. Parazitler, funguslar ve virüslere karşı antimikrobiyal aktiviteyi destekler ve aynı zamanda doku düzeyi ve anti karsinogenik aktivitede rejeneratif özellikleri mevcuttur. Tüm bu özellikler bu güne kadar çok az avantajı dikkate alınmış olan LF nin majör terapötik potansiyelini göstermektedir.

### 1. Giriş

Laktoferrin (LF) ilk olarak sütün " kırmızı proteini" olarak bilinen glikozile globuler bir proteindir. Ardından Fe<sup>2+</sup> ve Fe<sup>3+</sup> serbest iyonlarının sekestrasyonuna bağlı olarak demir bağlayan bir protein olarak tanımlanmış ve bu medenle metalloprotein grubu içerisine alınmıştır (1). Anne sütü ( özellikle kolostrum) , seminal sıvı, uterin sekresyonlar, gözyaşı ve tükürük gibi insan sekresyonlarında bulunur. LF farklı hücre popülasyonları tarafından sentezlenir; bunlar nötrofiller ( polimorfonükleer lenfositler), makrofajlar ve glandular epitelyal hücreleri içerirler; esas olarak inflamatuvar sürece cevap olarak sekrete edilir (1-4). Bu biyomolekül multifonksiyonel bir kapasiteye sahiptir, bu özellikler şunları içerir: doğuştan ve adaptif immün cevaplar ile ilişkili immunomodülatör özellikler (1-4); bakteri, parazit, mantar ve virüslere karşı antimikrobiyal kapasite (5); doku rejenerasyon kapasitesine katkıda bulunan antioksidan ve antienflamatuvar aktivite (6) ve transforme hücreler ile direk etki veya immun sistem ile indirek etki aracılığı ile antikarsinogenik aktiviteyi.

LF ile ilişkilendirilmiş geniş fonksiyonel kapasite LF nin majör terapötik potansiyelini olabileceğini öne sürmektedir ve literatürün bu derlemesi bu biyomolekülün ve özelliklerinin bilimsel bilgi birikimini toplamak ve güncellemek için dizayn edilmiştir.

### 2. Laktoferrinin İmmunolojik Özellikleri

LF, immun sistem komponentlerini indükleyerek veya baskılayarak doğuştan ve adaptif immun cevapları modifiye etme kapasitesine sahiptir (3,4,8).

LF, yaşamın ilk evrelerinde önemli bir rol oynar ve insan kolostrumu yüksek konsantrasyonlar içerirken (7g/L), anne sütü daha düşük konsantrasyonlar (1g/L) içerir. Kolostrumunun anahtar fonksiyonu yenidoğanlarda immun sistemlerinin gelişimi için esansiyel komponentleri sağlamaktır ve bu nedenle protektif bir fonksiyon sergiler (9,10). Bu yenidoğan barsağında sisemik ve lokal bir düzeyde postprandial pH yı destekleyerek ve immatür barsağın korunması ve gelişimini destekleyerek olur. LF intestinal doku ile ilişkili lenfoid dokunun immun cevabını modüle eder ve aynı zamanda küçük epitelyal hücrelerin konsantrasyon bağımlı proiliferasyon ve diferansiasyonunu uyarar; böylece ince barsak sindirim enzimlerinin kitle, uzunluk ve ekspresyonunu etkiler (1,8,11). Bu etkiler çeşitli ülkelerde çocuklara neden beslenme desteği olarak LF nin verildiğini açıklamaktadır. Şimdiye kadar herhangi bir yan etki bildirilmemiştir (12).

LF nin immun sistemdeki ana fonksiyonlarından biri makrofajlar, denderitik hücreler ve B lenfositleri içeren antijen sunan hücreler ile direk interaksyondur (13). Makrofajlar aynı düzeyde mükemmeliğe sahip fagositik hücrelerdir, mikroorganizmanın intraselüler yıkımı veya replikasyonlarının sitokinler veya nitrik oksit (NO) gibi mediatörler aracılığı ile replikasyonlarının inhibisyonu ile enfeksiyonu kontrol ederler. Aynı zamanda enflamasyonda da yer alırlar, enflamasyon mediatörlerini ve proenflamatuvar sitokinleri sekrete ederler, enflamatuvar sürecin final evresinde doku onarımına katılırlar (13, 14). Makrofajlar LF ile LF reseptörleri aracılığı ile interaksyona geçer ve aktive olurlar, böylece fagositik

kapasitelerini ve ILL\_12 sentezini artırır; IL-12 makrofajların inflame alana daha hızlı saldırmasını ve CD4 T lenfositleri aktive etmesini sağlar (2, 13)

Dendritik hücreler antijen tanınması oldukça spesifik olan heterojen bir hücre popülasyonudur ve immun sistemde immunité ve toleransı kontrol ederek anahtar bir rol oynadığı düşünülmektedir. Yüzeylerindeki spesifik reseptörler aracılığı ile dendritik hücreler ile innteraksiyonu maturasyonlarını ve bu nedenle fonksiyonel aktivitelerini indükler. Rekombinan Bir insan LF si olan Talactoferrin ile dendritik hücre matürasyonu; IL-8 ve kemokin CXCL10 un salınımında anahtar bir rol oynar ve IL-6, IL-10 ve kemokin CCL20 nin üretiminde anlamlı bir rol oynar.

LF, B lenfositlerde ve diğer antijen sunan hücrelerde antijen işleme sürecini aktive ve akselere ederek rol oynar, ayrıca T hücrelerinin interaksiyon ve aktivasyonunu sağlar. LF nin varlığı aynı zamanda B lenfosit diferansiasyon ve maturasyonunu stimule edebilir, bu da T lenfositleri sunma kapasitesini artırır (2). LF nin oral uygulanmasının farelerde IgA ve IgG sekresyonunu arttırdığı bildirilmiştir (2, 16) ve aynı zamanda immunosuprese farede humoral iyileşmeyi üretebildiği ve aktive B lenfositlerinin proliferasyon ve diferansiasyonunu uyarabildiği bildirilmiştir (17).

Özet olarak, LF antijen sunan hücrelerde genel olarak, aktivasyonlarını, maturasyonları ve enflame alanlara migrasyonunu sağlamada immunomodulator bir rol oynar (1,2,4,13).

Fare çalışmasında, Tomita M ev arkadaşları (18) LF nin enterositler, dendritik hücreler, lenfositler üzerindeki reseptörlere bağlanarak sitokinlerin salınımı ve NK, CD4+ ve CD8+ hücrelerinin sayısını indükledikleri saptanmıştır. Bu cevap sistemik immun cevabı yileştirir; immun hücrelerde, humoral faktörlerde ve lenf nodu ve dalaktaki sitokinlerde artışa yol açar daha sonra tüm organizmaya yayılır. Bu etkiler geniş oranda LF nin immunomodulator rolü ile ilişkilendirilebilir; TH1 cevabında, dendritik hücrelerde, makrofajların daha büyük aktivasyonunda ve peritoneal NK hücrelerin daha yüksek sitotoksitesinde artışlara yol açabilir.

LF aynı zamanda T lenfositlerin fonksiyonel kapasitesini CD4 ekspresyonunu maturasyon süreçlerinde rol oynayarak, CD4 ekspresyonunu indükleyerek ve böylece immatür T lenfositlerinin diferansiasyonunu Cd4+ T lenfosit subpopülasyonuna yönlendirerek rol oynar (2,14). Aynı zamanda CD4+ hücrelerin TH1 ve TH2 subpopülasyonları arasındaki dengeyi TH1 cevaplarını başlatarak (IL-2 ve IFN gama sentezi) ve TH2 cevaplarını inhibe ederek (IL-4, IL-5 ve ILL-13 sentezi), hücre cevaplarını aktive ederek ve inflamatuvar faktörlerin salınımını azaltarak değiştirebilirler. Bu nedenle LFTH2 ve TH17 lenfosit subpopülasyonlarının cevabını inhibe ederek alerjik riniti kontrol eder, bu lenfositler direk olarak alerjik cevaplarda yer alırlar (19).

Fakat, LF antienflamatuvar aktiviteye hakim olabilir ve çeşitli klinik çalışmalar LF nin septik şokta direk olarak yer alan TNF alfa'yı kontrol ederek sepsisi önleyebileceğini saptamışlardır (20).

### **3. LF nin antimikrobiyal aktibitesi**

LF nin antibakteriyel aktivitesi gerçmişte hem in vitro hem de in vivo Gram pozitif ve Gram negatif bakterilerde ve bazı asit-alkol dirençli bakterilerde bildirilmiştir. Farklı çalışmalar LF yapısının bu aktivitede esansiyel rolü olacağını göstermişlerdir (2,4,21).

#### **3.1. Antibakteriyel aktivite**

Çeşitli yüksek oranda bölünen mikroorganizmalar (Haemophilus influenzae, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Listeria monocytogenes, Legionella pneumophila, or Mycobacterium tuberculosis) bakterisidal ve/veya bakteriyostatik etkileri olan LF nin aksiyonu için şüpheli oldukları üzerinde durulmuştur (21).

LF nin bakteriyostatik aktivitesi altında yer alan mekanizmalardan birisi geniş miktarlarda demiri bağlama kapasitesi ve büyüme için mikroorganizmaların utilizasyonunu sağlamasıdır (22).

LF nin bakterisidal aktivitesi esas olarak bakteriyel yüzeylerle direk interaksiyon halinde ortaya çıkar. Bu nedenle Gram negatif bakterilerin bakteriyel membranlarının geçirgenliği , LF nin protein fraksiyonunun(yapısında katyonik alanlar mevcuttur) lipopolisakkarit (LPS) ( anyonik karakter) ile interaksiyonu ile ve ardından nötralizasyon ile hasarlanabilir (22). LF, LPS ile bağlanarak bakteriyel adhezyonla örtülebilir, böylece bu mikroorganizmaların en önemli virulans faktörlerinden birini inhibe edebilir (4,21,23).

LFnin LPS veya diğer bakteriyel membran proteinleri ile interaksiyonu lizozomlar gibi natürel bakterilerin etkisini artırdığı bilinmektedir, bunlar mukozada yüksek konsantrasyonlarda sentezlenirler. LF, bakteri yüzeyindeki anyonik moleküllere ( örneğin lipoteikoik asit) bağlanarak ve bakteriyel hücre duvarındaki negatif yükü azaltarak Gram pozitif bakterilere karşı rol oynarlar. Bu lizozom ve peptidoglikan arasındaki ilişkiyi iyileştirir ve enzimatik etkiyi uyarır (1). LF aynı zamanda Rifampisin gibi belirli bakterisit ilaçların etkisini artırabilir (21,22).

Ayrıca, mikrobiyal orijin fraksiyonları ile LF nin interaksiyonu, proinflamatuvar mediatörlerin salınımı uyarır, bunlar sitokinleri (IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 ve TNF- $\alpha$ ), lipid mediatörleri ve rekatif oksijen metabolitlerini içerir. Bakteriyel oligonükleotidlere bağlanma yeteneği B hücreler üzerinde etkisi olduğunu ve böylece esas olarak dendritik hücrelerde, makrofajlarda ve B lenfositlerde bulunan ve inflamatuvar cevap ve patojen saptanmasında anahtar bir rol oynayan TLR-9 gibi Toll-like reseptörler ile interaksiyona girdiği anlaşılmaktadır (8, 21).

### **3.2. Antiviral aktivite**

LF nin zarflı veya zarfsız DNA ve RNA virüslerine karşı antiviral aktivitesi 1994 yılından beri bilinmektedir (24). LF, virüs hedef hücrelerine bağlanıp böylece intraselüler replikasyonunu baskılayarak viral enfeksiyonlardan konağı koruyabilir ayrıca sistemik immun fonksiyonları geliştirebilir (25).

LF nin antiviral etkileri altında çeşitli aksiyon mekanizmaları suçlanmıştır, bunlardan bir tanesi özellikle heparan sülfat gibi glikozaminoglikanlar gibi viral reseptörlere bağlanabilme ve bloke edebilme yetenekleridir. Böylece LF nin HS ye bağlanması konak hücre ve virüs arasındaki ilk ilişkiyi önleyerek viral enfeksiyonu önler (26). İmmün sistem modülasyonu diğer bir öne sürülen mekanizmadır ve LF nin veziküler stomatit virüs enfeksiyonlarında makrofajların fagositik aktivitesini artırdığı saptanmıştır.ç LF uygulaması aynı zamanda NK hücre aktivitesini ve TH1 lenfositlere yanıtı artırır, bu hücreler viral enfeksiyonlara karşı sitokin salın hücrelerdir (25).

Hepatit B virüsü (HBV) ile enfekte hepatositlerin HepG2 hücre dizisi ile ilgili in vitro bir çalışmada Li ve arkadaşları virüsün replikasyonununLF ve demir ve çinko ile doymuş LF ile önemli derecede inhibe edildiğini saptamışlardır, bu durum LF nin anti hepatit B tedavisinde potansiyel bir kaynak olabileceğini öne sürmektedir.

İn vitro ve klinik çalışmalar Komple LF ile veya daha önceki purifiye fraksiyonlarının hepatit C (HCV) enfeksiyonu intraselüler düzeyde inhibe edebileceğini demonstre etmiştir ancak virüsün hedef hücreye girişini önleme kapasitesi ile ilgili çelişkili veriler de mevcuttur (24).

LF nin HIV e karşı da güçlü inhibe edici etkisi mevcuttur; laktoferrisin gibi bazı LF fragmanları HIV-1 reverse transkriptaz ve HIV-1 integrazda hafif inhibitör etkiye sahiptir (26). Carthage ve arkadaşlarına göre (28), LF mukozal seviyede HIV-1 geçişi ile etkileşebilir ve epitelyal hücelere bağlanmasını ayrıca mukozadan lenfoid dokuya HIV difüzyonu için iki kritik basamak olan CD4+ T hücrelerinden dendritik hücelere geçişi önleyebilir.

Herpes simplex virüsü (HSV-1) g,b, deri enfeksiyonları gibi diğer viral süreçlerde, LF sitokinlerin TH1 lenfosit üretimini artırır. Bu sitokinler IFN gama, IL-12 ve IL-18 gibi konağı enfeksiyonlara karşı koruyan sitokinleri içerir (25).

### **3.3. Antifungal Aktivite**

LF nin veya fraksiyonlarının maya ve küflere karşı geniş spektrumlu antifungal aktivitesi iyi bilinmektedir (29, 30) ve diğer antifungal ilaçlarla sinerjistik etki bildirilmiştir (31). Candida genus mayalarının aksiyonu mikozizde en iyi bilinen mekanizmalardandır (32) ve 10 ve 100 µg/L konsantrasyonlarda yaşlılarda tükürükten izole edilen LF nin C. Albicans ve C. Glabratanın büyümesini inhibe ettikleri saptanmıştır. Bu bulgular LF nin ileri yaşta aspirasyon pnömonisi riskini azaltmada yararlı olabileceğini öne sürmektedir (33).

### **3.4. Antiparazitik aktivite**

LF nin anti parazitik aktivitesi komplekstir ve türler arasında farklılık gösterir. Çoğu parazitte ana mekanizma demirin sekestrasyonudur, bu konak-parazit enfeksiyonunda majör bir rol oynar. Fakat bazo çalışmalar aynı zamanda etki mekanizması olarak T hücre cevabında artış da öne sürmüşlerdir; Mossalam (34) hem innunsuprese hem de immunokompotent farelerde Toxoplasma Gondii ile enfekte etmeden önce LF uygulaması ile CD4+ T lenfositlerde artış gözlemlemiştir. Aksine Trichomanas foetus ve Trichomanas vaginalis gibi bazı parazitler büyümeler için LF yi kullanırlar (22).

## **4. Antikarsinojenik Aktivite**

LF kanser tipine göre farklı etki mekanizmaları ile antineoplastik aktivite gösterir; bunlar hücre membran alterasyonları, apopotozis indüksiyonu, hücre siklusu arresti, hücre immunomodülasyonu, antianjiogenik etki, metastaz inhibisyonu ve hücre nekrozunu içerir. Fakat bu çoğu mekanizmanın moleküler temeli anlaşılamamıştır (35).

LF kemopreventif ajan olarak bile öne sürülmüştür, buna rağmen oral olarak uygulandığında barsaktan tamamen degrade ve absorbe olmamaktadır ve bu nedenle sindirim sisteminde kalmaktadır fakat bu gastrointestinal immun sistemde karsinogeneze karşı sistemik immun cevaplara yol açabilecek değişiklikleri indükleyebilir (36). Aynı çizgide diğer gıda desteklerinin farklı neoplastik süreçlerde yararlı etkileri gösterilmiştir (37).

LF nin tümör aktivasyonuna karşı olan en çalışılan mekanizması şelasyon aktivitesidir. Dokulardaki demirin varlığının genetik materyalde oksidatif stresi artırabileceği, karsinogenezi riskini artırabileceği düşünülmektedir, böylece LF doku düzeyinde bu iyonları yakalamaktadır (36). Luzi ve arkadaşları (38) demir-serbest sığır LF ( apo-bLf) nin insan epitelyal kanser hücrelerinde (JeLa) apoptotik kapasiteye sahip olduğunu bildirmişlerdir.

## **5. Rejeneratif Özellikler**

Çeşitli çalışmalar LF nin farklı dokularda rejeneratif özelliklerini demonstre etmişlerdir.

Kemikte, LF nin osteoblast proliferasyonunu ve kemik matrisi sekresyonunu aktive ettiği; osteoblast apopotozisi ve osteoklastogenezi inhibe ettiği bulunmuştur (39). Fareler ve sağlıklı postmenapozal kadınlarda yapılan çalışmalar diette LF desteğinin kemik dansitesi ve direncini arttırdığını saptamış ve LF nin osteoporoz önlenmesi için umut verici bir aday olduğunu öne sürmüşlerdir (40).

Yuşuk dokularda LF nin çeşitli yara iyileşme süreçlerini inflamasyon evresine katılarak ve direk deri granülasyonu ve epitelizasyonunu uyararak desteklediği saptanmıştır. Bu etkiler fibroblast ve keratinosit proliferasyonunu ve migrasyonunu stimule etme ev ekstraselüler matrix komponentlerinin

sentezini artırabilme yeteneğine bağlıdır (6, 41); bunlar LF nin yara iyileşmesindeki yüksek terapötik potansiyelini açıklar.

LF fibroblastlarda lipoprotein reseptörleri ile etki eder. Aralarındaki interaksiyon ekstraselüler regüle edici kinazlar 1 ve 2 (ERK 1(2) nin fosforilasyonunu sağlar; bu enzimler diferansiye hücrelerde mitoz regülasyonu ve post mitotoik fonksiyonlara katılırlar ve hücre bölünmesi için esansiyeldirler, bu nedenle doku rejenerasyonuna katkıda bulunurlar. Lipoprotein reseptörü ile interaksiyon da aynı zamanda kinez aktivasyonu ile ilişkilidir, bu da miyozin hafif zincirini fosforile eder. Aynı zamanda LF nin IL-18 ekspresyonunu stimule edebileceği gösterilmiştir; IL-18 granülosit-makrofaj koloni stimule edici faktör (GM-CSF) konsantrasyonunu artırarak yara iyileşmesinin erken dönemi ile ilişki halindedir; makrofajların büyüme faktörlerini sekrete etmesine ve ekstraselüler matriksin formasyonu için kollajen sentezlemeye izin verir (42).

Hassoun ve Sivamani nin sistematik bir derlemesinde (43) LF nin akne, psöriazis ve diabetik ülserasyonlar için yararlı olabileceği saptanmıştır. Fakat bu konuyu ele alan az sayıda çalışma bildirmişlerdir ve LF nin klinik düzenlemelerde tamamlayıcı bir tedavi olması açısından ileri çalışmalar gerektiğini söylemişlerdir ( Tablo 1).

Sonuç olarak, LF iyi dökümente edilen özelliklerine bağlı olarak terapötik ve/veya nötrosetikal bir ürün olarak düşünülebilir. Ek avantajları ucuz üretimi ( sığır sütü) ve iyi toleransıdır. İnsanlarda bu biyomolekülü geliştirmek için ileri çalışmalar gerekmektedir.