

Biochemie der Spurenelemente des Menschen

(772.309, 2 Std.)

Eisen 1

Chemie des Eisens

Eisenaufnahme, Transport und Speicherung beim Menschen

Eisenaufnahme bei anderen Organismen

Hämproteine

Myoglobin und Hämoglobin

Peroxidasen und Katalasen

Cytochrome P450

Cytochrome

Nichthäm-Eisenproteine

Periodic Table | Electron Configuration | Plot Data | Element Data

Groups

Iron, Fe

Element Data

Iron, Fe

Atomic number (Z)	Electronegativity (Pauling)	Ionic radius
26	1.83	82 (2+) pm
Molar Mass	Electron configuration	Ionization energy
55.85 g/mol	[Ar]3d ⁶ 4s ²	(1) 759 kJ/mol
Atomic Radius	Stable isotopes	(2) 1561 kJ/mol
124 pm	⁵⁴ Fe, ⁵⁶ Fe, ⁵⁷ Fe, ⁵⁸ Fe	(3) 2957 kJ/mol
Normal state	Melting point	Density
solid / metal	1538 °C	7.87 g/cm ³
Enthalpy of fusion	Boiling point	Molar heat capacity
14.9 kJ/mol	2861 °C	25.1 J K ⁻¹ mol ⁻¹
Enthalpy of vaporization	Standard molar entropy	
351 kJ/mol	27.3 J K ⁻¹ mol ⁻¹	

Periodic Table | Electron Configuration | Plot Data | Element Data

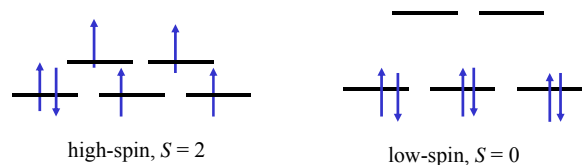
Iron, Fe

Orbitals: 7s, 6s, 5s, 4s, 3d, 4p, 3p, 2p, 1s

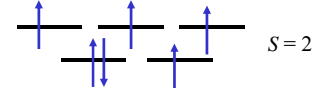
Orbitals: 6d, 5d, 4f, 3d

Ferro-Eisen, Fe(II) ist ein d^6 -System. Hier ist die Ligandenfeldaufspaltung in oktaedrischer und tetraedrischer Umgebung gezeigt.

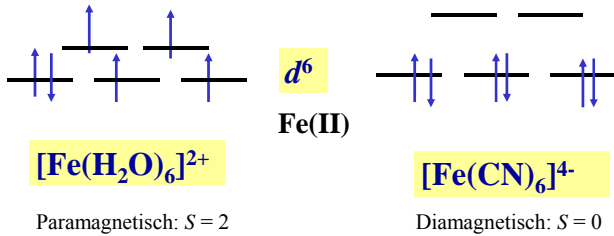
Oktaedrisches Feld



Tetraedrisches Feld



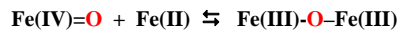
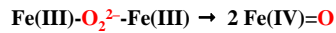
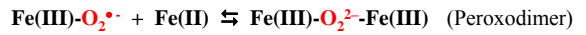
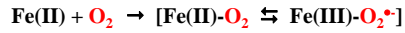
Bei oktaedrischer Koordination ergibt sich für Spurenelement-Ionen der Elektronenkonfiguration d^4 bis d^7 die Alternative einer low-spin und high-spin Form. Welche der Alternativen vorliegt, wird durch die Orbitalaufspaltung aufgrund der Stärke des Ligandenfeldes bestimmt.



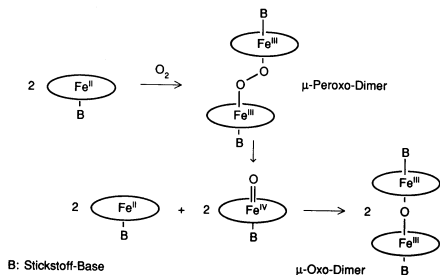
Aspekte der Chemie des Eisens

A. Irreversible Oxidation

Irreversible Oxidation: In wässriger Lösung werden Eisen(II)-Spezies häufig unter Bildung von μ -Oxidieisen(III)-Dimeren, **Fe(III)-O-Fe(III)**, oxidiert:

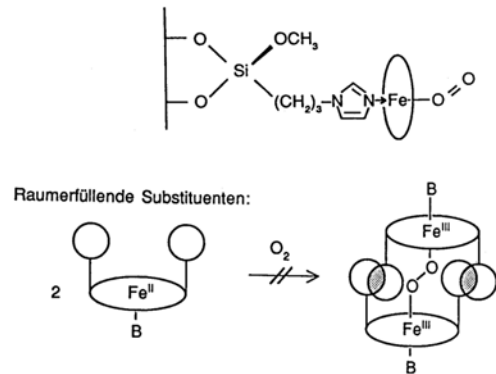


Auch Eisen(II)-Porphyrinkomplexe werden innerhalb von Millisekunden bei Raumtemperatur unter Bildung von μ -Oxo-diporphyrinatoeisen(III)-Dimeren oxidiert.

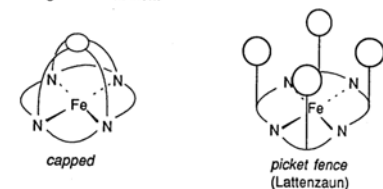


Unterdrückung der Dimerisierungsreaktion entweder durch tiefe Temperaturen ($< -40^\circ\text{C}$) oder durch sterische Behinderung (z.B. Protein).

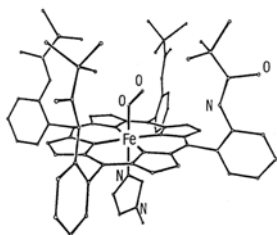
Immobilisierung am festen (polymeren) Träger:



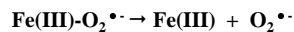
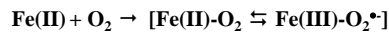
Abschirmung in Hohlräumen:



Ein oxygenierter Lattenzaun-Porphyrinkomplex:

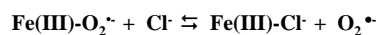
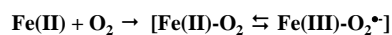


B. Autoxidation: Freisetzung von Superoxid nach Bindung von O_2 an Fe(II)-Spezies:

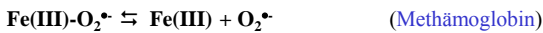
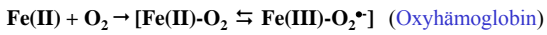


Diese Reaktion findet permanent als Nebenreaktion in den Erythrocyten statt. Bildung von **Methämoglobin** aus **Oxyhämoglobin**.

Diese Reaktion läuft bevorzugt in Gegenwart stärkerer nukleophiler Substanzen (z.B. Cl^-) und/oder in Gegenwart von Protonen ab, die das Superoxid-Anion, $\text{O}_2^{\bullet-}$, als **Hydroperoxyl-Radikal**, HO_2^{\bullet} , stabilisieren:



Bildung von **Methämoglobin** *in vivo*. Täglich werden etwa 3 % des gesamten **Hämoglobins** in **Methämoglobin** durch diese Autoxidationsreaktion umgewandelt:

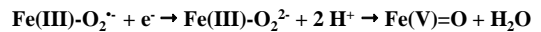


Reparatur durch Reduktion des Ferri-Eisens in das Ferro-Eisen, Fe(II), durch ein **Flavoprotein Reductase-System** [**NAD(P)H Cytochrom *b*₅ Oxidoreduktase**] und Entfernung von **O₂[•]** durch **Cu/Zn-Superoxid-Dismutase**.

Nur das Ferro-Eisen, Fe(II), im **Hämoglobin** (Ferro-Hämoglobin oder **Desoxyhämoglobin**) kann nämlich Sauerstoff, O₂, binden (siehe Eisen 2).

C. Reaktion in Gegenwart exogener Reduktionsmittel

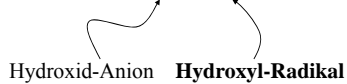
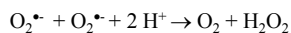
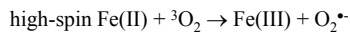
In Gegenwart exogener Reduktionsmittel erfolgt eine weitere Reduktion:



Tritt kontrolliert z.B. in der Monooxygenasereaktion in den **Cytochromen P-450** auf.

Diese Reaktion wurde auch im **Hämoglobin** bzw. **Myoglobin** in Gegenwart (kleiner) Reduktionsmittel beobachtet.

D. **Überschuß an freiem Eisen** ist für alle Organismen gefährlich. Vor allem **high-spin Eisen(II)** führt in Anwesenheit von Sauerstoff zu dessen Aktivierung. Konsequenz: Bildung von Radikalen und Peroxiden:



Bioverfügbarkeit des Eisens

Ferri, Fe(III), ist in Abwesenheit starker Komplexbildner bei pH 7 praktisch unlöslich. Im Gegensatz dazu sind Fe(II)-Komplexe labiler. Die starke positive Ladung von Fe(III) stabilisiert meist das Säureanion (die konjugierte Base) protischer Liganden (z.B. des Wassers). Die pK_a-Werte der Liganden sind daher stark abgesenkt.

Hydrolysereaktionen von Fe(III) bei 25°C:

Reaktion	pK _a
$[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+} \rightarrow [\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{OH})]^{2+} + \text{H}^+$	2,2
$[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_5(\text{OH})]^{2+} \rightarrow [\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_4(\text{OH})_2]^+ + \text{H}^+$	3,5
$[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_4(\text{OH})_2]^+ \rightarrow [\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{OH})_3] \downarrow + \text{H}^+$	6
$[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_3(\text{OH})_3] \downarrow \rightarrow [\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_2(\text{OH})_4]^- + \text{H}^+$	10

Fazit: die Bioverfügbarkeit von Eisen bei pH 7 ist gering:
10⁻¹⁶ M

Redox-Chemie des Eisens

Standard-Reduktionspotentiale von verschiedenen Eisenproteinen bei pH 7.0

Komplex	Koordinationszahl	Typ	Fe(III)/Fe(II) E° (mV)
Fe(OH ₂) ₆ ³⁺	6	Aquokomplex	770
Cytochrom <i>a</i> ₃	6	Häm	390
HIPIP	4	Fe ₄ S ₄ (SR) ₄ ⁻	350
Cytochrom <i>c</i>	6	Häm	250
Rubredoxin	4	Fe(SR) ₄	- 60
Ferredoxin	4	Fe ₄ S ₄ (SR) ₄ ²⁻	- 400

Chemie des Eisens

Eisenaufnahme, Transport und Speicherung

Verteilung einiger eisenhaltiger Proteine im erwachsenen Menschen

Protein	Molekülmasse (kDa)	Menge an Eisen (g)	% der Gesamteisenmenge
Hämoglobin	64,5	2,6	65
Myoglobin	7,8	0,13	6
Transferrin	76	0,007	0,2
Ferritin	444	0,52	13
Hämosiderin	>300	0,48	12
Katalase	260	0,004	0,1
Peroxidasen	variabel	gering	gering
Cytochrom c	12,5	0,004	0,1
Cytochrome c Oxidase	>100	<0,02	<0,5
P-450 Systeme	ca. 50	gering	gering
Eisen-Schwefelprot.	variabel	0,04	1
Ribonukleotid-Reduktase		gering	gering

Essentielle Elemente in der menschlichen Nahrung (RDA-Werte). Empfohlene tägliche Nährstoffzufuhr in mg.

• Element	Erwachsener	Säugling
• Zn	15	6
• Fe	10-20	7.3
• Mn	2,5-5	1,3
• Cu	2-3	1,0

Heutzutage sind **Brot, Fleisch und Wurstwaren** durch die Häufigkeit des Verzehr die wichtigsten Quellen für die Versorgung mit Eisen. Eisen kommt in nennenswerten Mengen in Hülsenfrüchten, grünen Gemüsen, in Getreide und im Fleisch, vor allem in Innereien wie Leber und Nieren, vor.

Durch die Verzehrsmengen sind **Brot mit 21 %, Fleisch mit 16 %, Wurst mit 11 % und Gemüse mit 9 %** die wichtigsten Eisenquellen in unserer Ernährung. Für die Eisenzufuhr ist der **Grad der Verwertung** wichtig, daher gehört das Fleisch trotz seines geringeren Eisengehalts zu den wichtigsten Lieferanten. Eisen aus Fleisch wird mit einer Resorptionsrate von 23 bis 35 % weitaus besser aufgenommen als Eisen aus Pflanzen, von dem nur 3 bis 8 % verwertet werden. Vegetarier, vor allem Veganer, die auch auf Eier und Milch verzichten, sollten auf eine ausreichende Eisenzufuhr besonders achten.

An Eisen reiche Lebensmittel enthalten in 100 Gramm:

Linsen, getrocknet 6,9 mg; Bohnen, getrocknet 6,1 mg; Erbsen getrocknet 5,0 mg; Haferflocken 4,6 mg; Spinat 4,1 mg; Vollkornbrot, Roggen 3,3 mg; Mangold 2,7 mg; Rindfleisch, mager 2,6 mg; Vollkornbrot, Weizen 2,0 mg; andere Fleischsorten (Lamm, Kalb, Schwein, Geflügel) 1,6 mg

Vitamin C-haltige Lebensmittel und Säfte und die Aminosäure Cystein verbessern die Eisenaufnahme im Körper, daher ist z.B. der Verzehr von Wirsing, Spinat, Bohnen und Erbsen für die Eisenversorgung von Vegetariern gut geeignet. Generell ist der tägliche Bedarf von etwa 15 mg Eisen nicht allein aus pflanzlichen Lebensmitteln zu decken. **Phosphate und Calcium erniedrigen die Eisenaufnahme.**

Ein **Eisenmangel** beeinträchtigt die körperliche Leistungsfähigkeit.

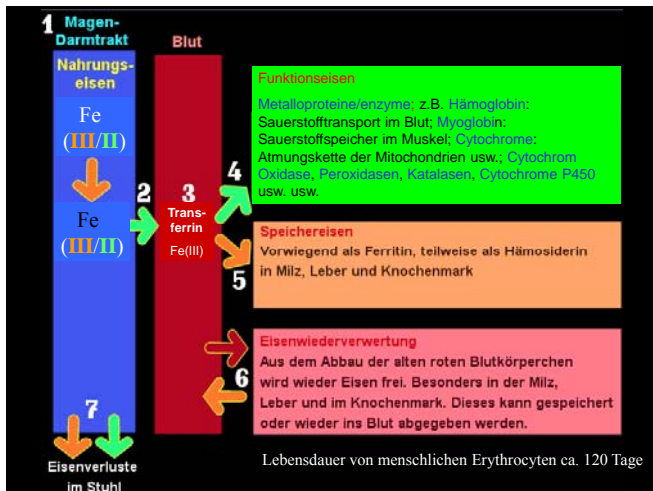
Es gibt eine Reihe von typischen, jedoch recht unspezifischen Symptomen: Man wird schnell müde, leidet unter **Kopfschmerzen**, fühlt sich schwach, ist stärker reizbar, nervös und wetterfühlilig. Es kann zu **Blässe**, spröder, rauher Haut und zu brüchigem Haar kommen, Rillen in den Fingernägeln und Risse in den Mundwinkeln können sich bilden. Weiters können **Herzklopfen, Atemnot**, Zungenbrennen und Verstopfung entstehen.

Eisenmangel verhindert die Aktivität wichtiger Enzyme (siehe Eisen 2 & 3), die an vielen Körperprozessen beteiligt und damit beeinträchtigt sind. Weiters wird die Thermoregulation (Wärmehaushalt des Körpers) gestört, es können Abwehrschwächen auftreten und die Anfälligkeit für Infektionen kann steigen.

Eisenmangel ist ein häufiges Problem, das meist durch länger bestehende unbemerkte Blutungen oder zu geringe Eisenaufnahme aus der Nahrung entsteht.

Eisenüberladung kommt bei einer nicht so seltenen Erbkrankheit, der **Hämochromatose**, vor und als Begleiterscheinung anderer Erkrankungen.

Zur Diagnose des Eisenmangels, aber auch zum Erkennen des Eisenüberschusses sollten **Transferrin, Ferritin** und eventuell die löslichen **Transferrin-Rezeptoren** im Blut bestimmt werden. Die Bestimmung von Eisen allein ist zuwenig, ja manchmal sogar irreführend.



Eisenresorption

Als **Eisenresorption** bezeichnet man die Aufnahme von Eisen durch die Mukosa des oberen Dünndarms, vor allem im Duodenum. Der menschliche Organismus kann Eisen nur in zweiwertiger Form, Fe(II), aufnehmen. Der Vorgang der Resorption unterteilt sich in

a) Reduktion

Das mit der Nahrung aufgenommene Eisen ist zum großen Teil dreiwertig, Fe(III). Es wird zunächst an der **apikalen Membran der Enterozyten** von der membranständigen **Ferri-Reduktase** zu zweiwertigem Eisen, Fe(II), reduziert.

Enterozyten sind die (hochprismatischen) Zellen des resorptiven Epithels, welches das Darmlumen auskleidet; auf ihrer apikalen Seite tragen diese Zellen einen dichten Saum von Mikrovilli.

b) Aktiver Transport und Komplexierung

Anschließend erfolgt der aktive Transport von Fe(II) in das Zellinnere durch das **Transportprotein DMT1** ("divalent metal ion transporter-1").

Der Transport ist ein Co-Transport von Fe(II) und H⁺ und wird auch als **DCT1** ("divalent cation transporter-1") bezeichnet.

In der **Mukosazelle** angekommen, werden die Eisenionen sofort mit **Apoferitin** zu ihrer "Lagerform" **Ferritin** komplexiert.

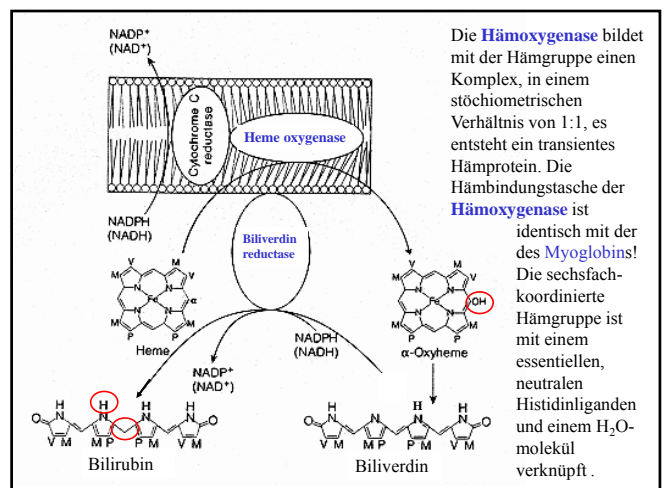
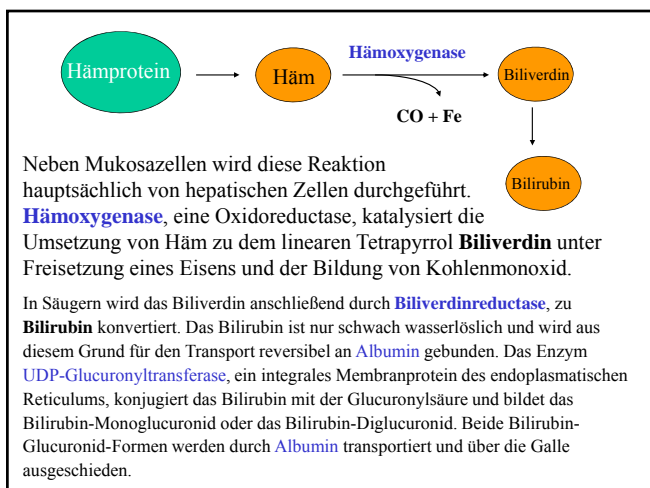
c) Sezernierung

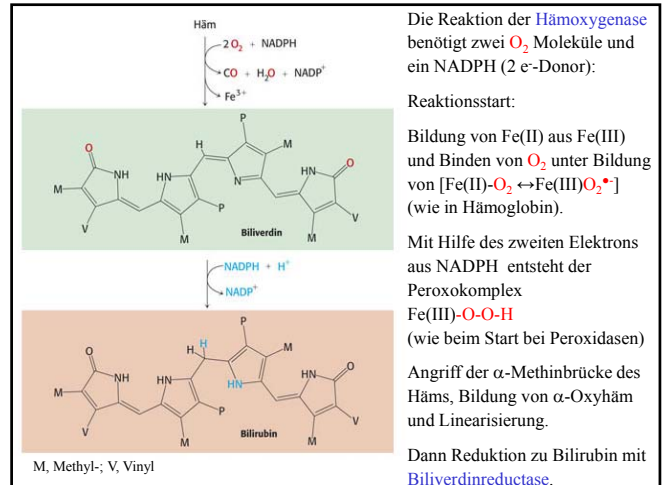
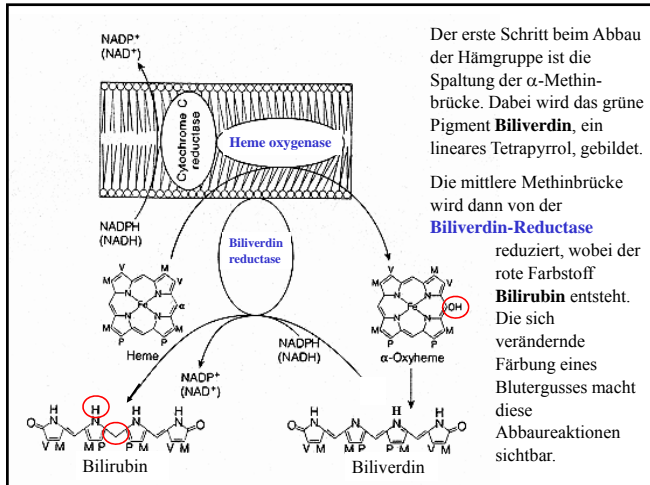
Der Weitertransport der Eisenionen erfolgt am basalen Zellpol. Dort werden sie vom Membranprotein **Ferriportin** (FP) in den Extrazellulärraum sezerniert, wo sie von **Caeruloplasmin** wieder zu Fe(III) oxidiert und von **Transferrin** aufgenommen werden.

Caeruloplasmin ist eine glycosylierte "blaue" Oxidase mit Oxidationseigenschaften für Ferro-Eisen und Bindungs- und Transportfunktion für Kupfer; über 95% des Serumkupfers liegen gebunden in diesem Protein vor (siehe Kupfer 2). Im Blut erfolgt die Bindung der Eisenionen an **Transferrin** und der Abtransport auf dem Blutweg.

Resorption von Hämeisen

In sehr vielen Nahrungsstoffen ist Eisen mit Porphyrin komplexiert (Hämeisen-Proteine). Bei einem postulierten Transportweg wird die Existenz eines **Häm-Rezeptors** auf der apikalen Membran der Mukosazelle angenommen. Er nimmt den Komplex aus Porphyrin und Eisen (= Häm) auf. Häm wird im endoplasmatischen Retikulum (ER) durch die **Hämoxygenase-1** zu Porphobilinogen und Fe(II) degradiert. Der Rest des Eisen-Transports vollzieht sich wie oben dargestellt.





Transport durch Serumproteine (Transferrine)

Transport (**Transferrine**) und Speicherung (**Ferritine**, **Hämosiderin**) müssen vollkommen reversibel funktionieren. Verhinderung von lokalen Überschuss- oder Mangelerscheinungen. **Transferrine** und **Ferritine** wurden in den verschiedensten Organismen gefunden. Auch in Pflanzen existieren Eisenspeicherproteine (**Phytoferritine**).

Transferrine sind Glycoproteine mit molaren Massen von ca. 80 kDa (**Ovo-**, **Serum-** und **Lactotransferrin**). Prozentanteil an Kohlehydraten schwankt von Spezies zu Spezies und Gewebe zu Gewebe. Ihre Funktion liegt in der Wechselwirkung mit Rezeptoren.

Hauptfunktion: **Solubilisierung und Transport von Eisen** unter Bedingungen, bei denen $Fe(III)$ als freies Ion völlig unlöslich wäre. Durch die effiziente Bindung haben **Transferrine** auch **antibakterielle Wirkung**.

Das Eisentransportprotein **Ovotransferrin**, früher als Conalbumin bezeichnet, wurde erstmalig 1900 aus Hühnereiweiß rein dargestellt.

1946 gelang die Extraktion des **Serum-Transferrins** aus menschlichem Blut.

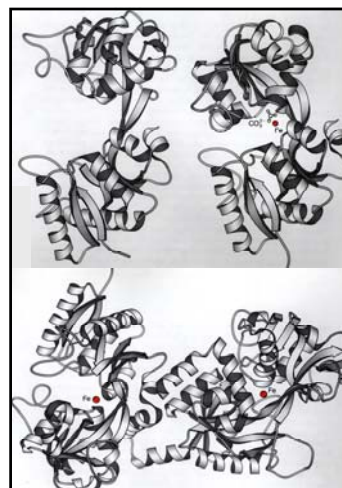
1949 wurde nachgewiesen, dass ein Molekül **Transferrin** zwei Eisen-Ionen aufnimmt ($K_f = 10^{20} \text{ mol}^{-1} \text{ L}$), dabei werden gleichzeitig stöchiometrische Mengen an Carbonat gebunden.

Die Hauptfunktion des **Serum-Transferrins** im menschlichen Organismus besteht darin, als **Transportmolekül** Eisen vom Ort der Resorption, der Speicherung oder des Abbaus der roten Blutkörperchen zu den blutbildenden Zellen im Knochenmark zu transportieren. Der Großteil des Eisens wird dabei von den Vorläufern neuer Erythrocyten aufgenommen, um Hämoglobin zu bilden. Während der Schwangerschaft wird eine größere Menge von Eisen an die Placenta und von dort an den Fetus geliefert.

Eine zweite indirekte Aufgabe der **Transferrine** ist der **Schutz gegen Infektionskrankheiten**. Die Proteine nehmen Eisen mit einer solch hohen Affinität auf, dass dieses parasitären Mikroorganismen nicht mehr zur Verfügung steht und deren Entwicklung dadurch gehemmt wird.

Transferrine sind daher Teil des unspezifischen Immunsystems. Die antibakteriellen entzündungshemmenden Eigenschaften von **Lactoferrin** (aus Milch und anderen Sekreten) oder **Ovotransferrin** dienen so etwa dem Schutz von Schleimhäuten und des sich entwickelnden Embryos.

Alle **Transferrine** können pro Molekül zwei $Fe(III)$ -Ionen, aber auch andere Metall-Ionen wie $Cr(III)$, $Al(III)$, $Cu(II)$, $Mn(II)$, $Co(III)$, $Cd(II)$, $Zn(II)$, $VO(II)$, $Sc(II)$, $Ga(III)$, $Ni(II)$ oder Lanthanoid-Ionen aufnehmen. Der Transport von $Al(III)$ durch **Transferrin** in das zentrale Nervensystem (ohne dass dieses dort wie $Fe(III)$ durch Reduktion wieder mobilisiert werden kann) stellt einen wesentlichen Aspekt der Toxizität von Aluminium dar.



Vergleich zwischen apo-(links) und eisengebundener (rechts) Form von **Lactoferrin**. Zwei ähnliche Domänen, die ein Eisenatom binden. Die beiden Domänen bewegen sich bei der Bindung von Eisen und Carbonat aufeinander zu.

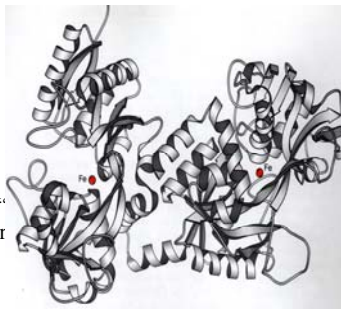
Holoprotein ist Dimer. 42% Homologie zwischen C- und N-Terminus der Polypeptidkette. Wahrscheinlich Entwicklung durch Genduplikation aus monofunktionellem Vorläufer. Peptidkette in der Leber synthetisiert.

Röntgenstruktur der eisengebundenen Form eines Transferrins (**Lactoferrin**)

Apotransferrin ist farblos, die mit Fe(III)-beladene Form ist rot-braun.

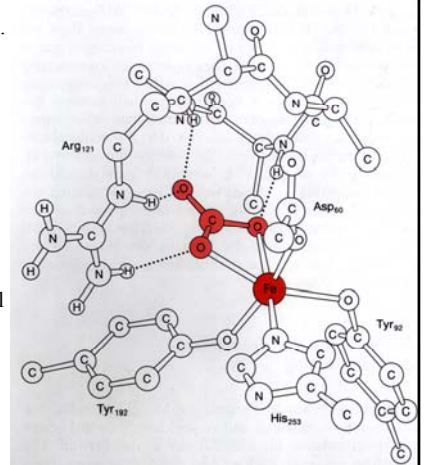
Die Anlagerung des Metall-Ions an eine der beiden Koordinationsstellen im N- und C-terminalen Bereich erfolgt gleichzeitig mit „synergistischer“ Bindung eines Carbonats und der Freisetzung von drei Protonen (Ladungseffekt). Funktion bei Freisetzung: Freisetzung durch Protonierung im Endosom!

Die beiden Bindungsstellen für das Eisen sind nicht äquivalent; am C-Terminus liegt eine etwas stärkere Affinität vor, was sich bei der Komplexbildung bei niedrigen pH-Werten äußert.



Struktur des aktiven Zentrums von **Lactoferrin**. Die Metallzentren sind annähernd oktaedrisch koordiniert.

Zwei Tyrosinat-Reste (verantwortlich für die Farbe: LMCT-Übergang), ein η^1 -Aspartat, ein Histidin, ein η^2 -koordiniertes Carbonat, welches sowohl an das Metall als auch über mehrere Wasserstoffbrücken an das Protein gebunden ist.

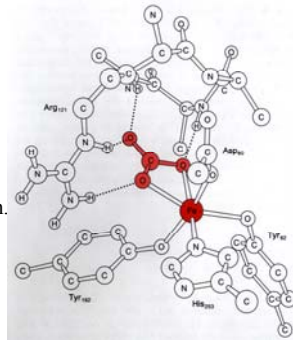


Sowohl Ferro, Fe(II), als auch Ferri, Fe(III)-Ionen werden vom **Transferrin** aufgenommen. Fe(II) ist jedoch nur schwach gebunden.

Stabilität der Fe(III)-Komplexe nimmt mit sinkendem pH-Wert ab. Bei pH 4,5 kann Citrat das Eisen aus dem Transferrinkomplex bereits herauslösen.

Mechanismus der Zuführung des Fe(III) an Apotransferrin immer noch ungeklärt.

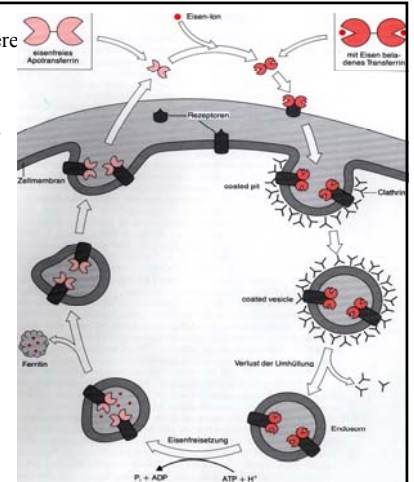
Wie wird **Transferrin** nun an die Zellen weitergegeben? **Rezeptorvermittelte Endocytose**: Anlagerung des Eisen-Transferrin-Komplexes an einen spezifischen **Rezeptor** in der Zellmembran. Einschnürung zum **Endosom**. **Freisetzung** des Eisens und **Rücktransport des Apotransferrins** ins Plasma.



Transferrin-Rezeptor (dimere Glycoprotein) bindet eisenhaltiges Transferrin, jedoch kein Apotransferrin.

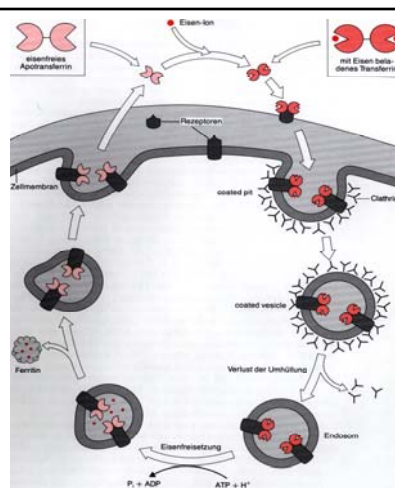
Ausbildung eines „coated vesicles“.

Endosomenbildung (ATP-getriebene Protonenpumpe senkt pH auf 5-6): Protonierung der Carbonat und -Tyrosinat-Liganden führt zu Eisenfreisetzung!



Dieser Zyklus erklärt, warum eine kleine Menge an Transferrin-Molekülen durchschnittlich 40 mg Eisen pro Tag transportiert, während ihre individuelle Aufnahmekapazität bei etwa 7 mg Eisen beträgt.

Dauer eines Zyklus etwa 15 Minuten.



Speicherung von Eisen

Ferritine und **Hämosiderin** dienen der Eisenbevorratung und dem Schutz vor unkontrollierten Reaktionen von freiem Eisen.

Ferritin ist ein lösliches Protein, das bis zu 20%_w Eisen enthalten kann. Apoferritin kann bis zu 4500 Eisenatome aufnehmen (entspricht ca. 1 Eisenatom pro Aminosäure!). Bereits 1935 isoliert.

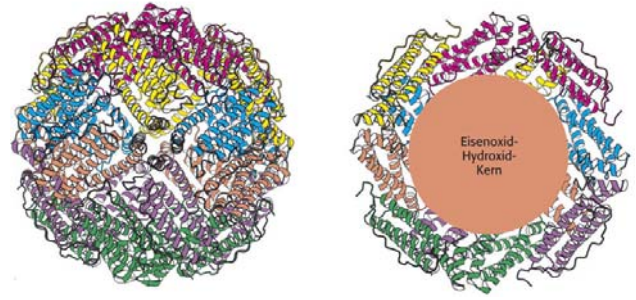
Mensch: 13% des Eisens ist im **Ferritin** gespeichert (hauptsächlich in Leber, Milz, Knochenmark). Pflanzen: **Phytoferritin**.

Hämosiderin ist ein unlösliches Protein, das dem Ferritin sehr ähnlich ist; die Proteinkomponente ist nicht genau definiert; es kann bis zu 35%_w Eisen enthalten. Es wird vermutet, dass es durch Zersetzung von Ferritin in den Lysosomen entsteht.

Eisen, das wie oben beschrieben in Zellen freigesetzt wird, muss entweder sofort biosynthetisch verwertet oder in unschädlicher Form gespeichert werden.

Insbesondere seit der biogenen Anreicherung der Atmosphäre wurde ein solches System nötig, welches einerseits die **Bevorratung** des immer weniger bioverfügbaren (weil als Fe(III)-Hydroxid/oxid ausgefallenen) Eisens dient, gleichzeitig jedoch die **unkontrollierte Reaktion reduzierten Eisens mit O₂** und seinen Folgeprodukten ("Sauerstoff-Aktivierung") verhindern kann.

Apoferritin, der eisenfreie Proteinanteil des Ferritins, hat eine durchschnittliche Molekülmasse von 440 kDa. Es kann aus eisenhaltigem **Ferritin** durch Reduktion mit Natriumdithionit oder Ascorbat in Gegenwart geeigneter Chelatbildner hergestellt werden.



24 Ferritinpolypeptide bilden eine nahezu kugelförmige Hülle. Im Kern ist Eisen als Eisenoxid/hydroxid gespeichert.

Ferritin ist ein wasserlösliches Protein (440 kDa) aus 24 UE (zu je 175 As)

Hohlkugel mit 120 Å Außendurchmesser

Innenraum mit 75 Å Durchmesser (im Holo-ferritin mit anorganischem Material gefüllt)

UE aus vier langen α -Helices (zu Bündel gruppiert) und querliegender kurzer (fünfter) α -Helix

Hydrophobe Kanäle (vierzählige Symmetrie): 12 Leu pro Kanal

Hydrophile Kanäle (dreizählige Symmetrie): 3 Asp und 3 Glu pro Kanal; Eintritt und Austritt der Metallionen?

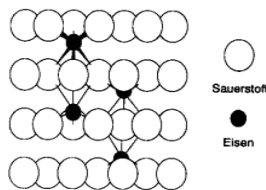
Proteininnenraum: hydrophile Reste

Freisetzung des Eisens durch Reduktion mit Natriumdithionit oder Ascorbat in Gegenwart von Chelatbildnern

Die Ferritine von Säugetieren sind weitgehend isomorph. Hingegen weichen die aus Bakterien isolierten Ferritine merklich ab. **Bakterioferritine** enthalten zusätzlich Häm-Eisen-Gruppen mit axialer Methionin-Koordination.

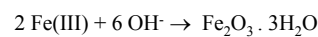
Im Zentrum der aus **Apoferritin** gebildeten Protein-Hohlkugel ist Raum für den anorganischen Kern, der maximal 4500 Eisen-Zentren in vorwiegend oxidisch gebundener Form enthalten kann; die übliche Füllmenge beträgt ca. 1200 Fe-Zentren. Der Kern besitzt eine so hohe Elektronendichte, dass er ohne Färbung im Elektronenmikroskop sichtbar ist!

Rein stöchiometrisch liegt Eisen als $\text{Fe}_9\text{O}_9(\text{OH})_8(\text{H}_2\text{PO}_4)$ vor.

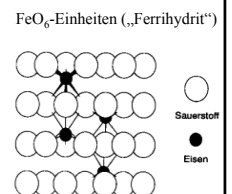
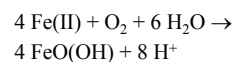


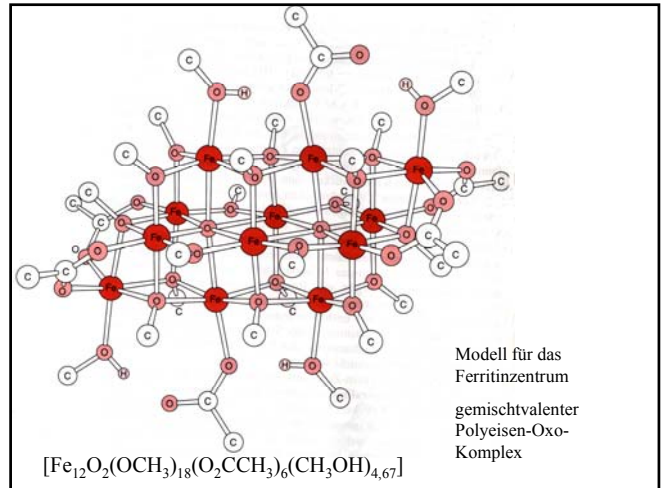
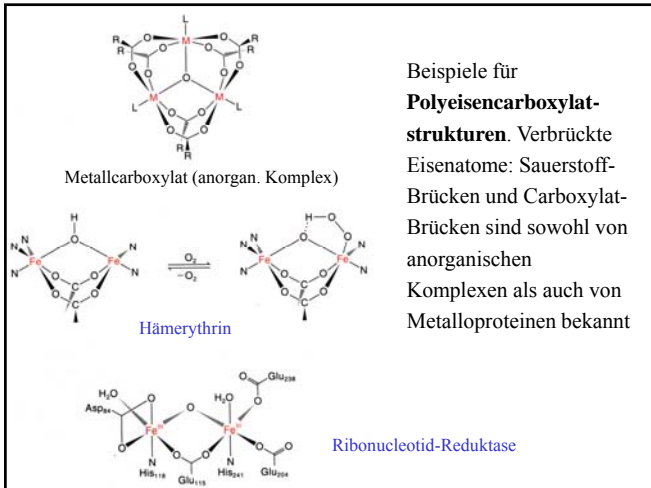
Frage: Wie entsteht im **Ferritin** der Eisen-Oxo-Kern?

- z. T. ungeklärt; Beispiel für **BIOMINERALISATION**
- $\{\text{Fe}_2\text{O}\}$ bekannt aus bioanorganischer Chemie von Nichthäm-Eisenproteinen (z.B. **Hämerythrin**, **Ribonukleotid-Reduktase**)
- $\{\text{Fe}_2\text{O}\}$ -Spezies bilden sich bei der Eisen(III)-Hydrolyse bzw. bei der Oxidation von Eisen(II)-Verbindungen durch Sauerstoff:



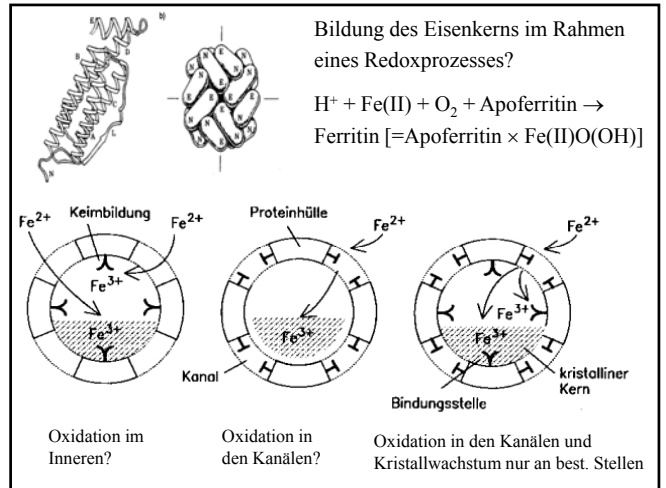
oder





Es wird vermutet, dass Fe(II)-Ionen durch die Kanäle zwischen den Untereinheiten in das Innere des Apoferritins gelangen (3000 Fe/s) und dann an "Ferroxidase"-Zentren katalytisch oxidiert werden. An der Innenwand des **Apoferritins** befinden sich vor allem Carboxylatgruppen (Glutamat, Aspartat), deren vollständige Veresterung die Eisenaufnahme blockiert.

Carboxylat-gebundene und bereits teilweise oxidierte oligomere Eisen-Zentren können offenbar als Ausgangspunkte für die Anlagerung, die Oxidation von weiteren Fe(II) und für das Wachstum des Eisenkerns dienen; gemischtvalente Fe(II)/Fe(III)-Zentren sind bevorzugte Keimbildungszentren des Ferritin-Kerns. Als Oxidationsmittel würde letztendlich O_2 dienen, dessen Verbreitung ja auch erst den Aufbau eines solchen löslichen, vesikulären Eisen-Speichers und Eisen/ O_2 -Schutzsystems notwendig machte.



Mechanismus der Eisenerfreisetzung?

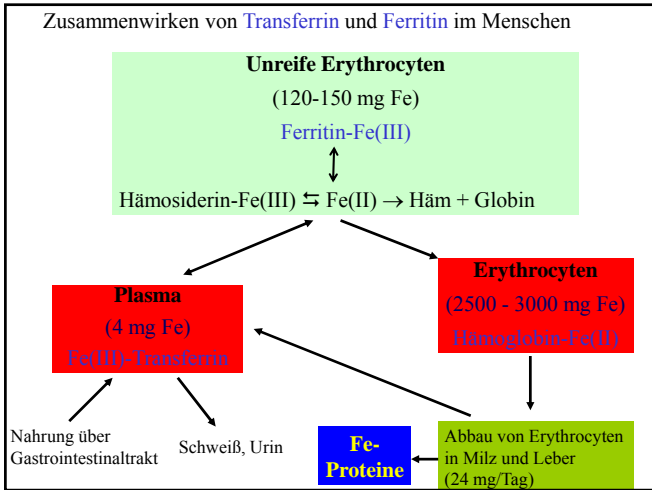
Freigesetzt wird Fe(II)! Natur des Elektronendonors unbekannt!

- Hypothese: Die hydrophilen Kanäle mit dreizähliger Symmetrie dienen dem Transport von Fe(II) aus dem Ferritin heraus, während die hydrophoben Kanäle mit vierzähliger Symmetrie für den Einlass von kleinen Reduktionsmitteln dienen. Eisen(II)-Chelatbildner erleichtern die Eisenerfreisetzung.
- Hypothese: Elektronentransfer durch die Proteinhülle, wobei Fe(III) reduziert und als Fe(II) durch die hydrophilen Kanäle transportiert wird. Erwiesen ist, dass zwischen den Eisenzentren im Inneren und an der Außenseite des Ferritins ein dynamisches Gleichgewicht existiert.

Hämosiderin

Neben **Ferritin** dient **Hämosiderin** dem Organismus als Eisenspeicher, insbesondere bei Eisenüberschuss.

Hämosiderin wurde 1929 erstmals aus der Pferdemiß isoliert. Während sich Aufbau und Struktur der Eisen-Kerne von **Ferritin** und **Hämosiderin** noch ähneln, weiß man über die Proteinkomponente des **Hämosiderins** sehr wenig. Das Eisen/Protein-Verhältnis liegt im sehr großen **Hämosiderin** (4 MDa) noch höher als im **Ferritin** (ca. 35% Fe). Man vermutet daher, dass diese nicht löslichen Partikel aus der Zersetzung des **Ferritins** in Lysosomen entstehen. Dieser Hypothese zufolge tragen lysosomale **Proteasen** zum teilweisen Abbau der Proteinhülle des **Ferritins** bei. Der dadurch freigesetzte Eisenkern zerfällt und formiert sich zum amorphen **Hämosiderin**.

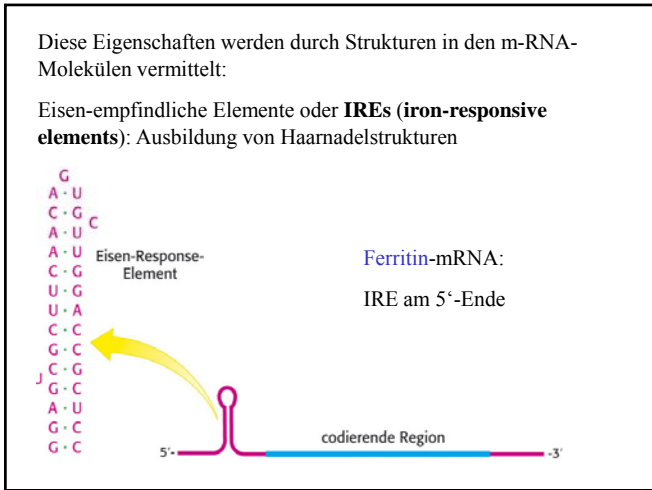


Regulation der Eisenaufnahme in Säugetieren

Expression des **Ferritins** und des **Transferrin-Rezeptors** wird metallabhängig **auf der Stufe der Translation** reguliert. Die Expressionsstärke von **Ferritin** und **Transferrinrezeptor** reagiert in entgegengesetzter Weise auf Veränderungen der Eisenkonzentration.

Bei niedrigem Eisenspiegel in der Zelle wird **Ferritin**-mRNA nur sehr langsam übersetzt. Dafür nimmt bei Eisenknappheit die Menge des **Transferrinrezeptors** zu.

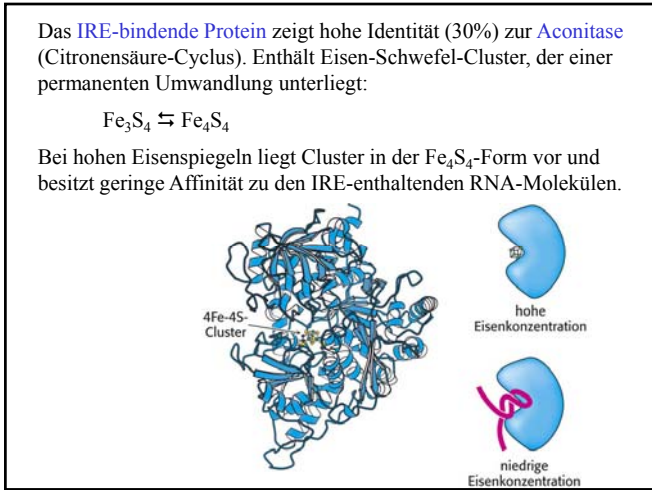
Umgekehrt wird die m-RNA für den **Transferrin-Rezeptor** unter eisenreichen Bedingungen relativ instabil, während jene von **Ferritin** an Stabilität gewinnt.



Die Ferritin-mRNA enthält in dem nichttranslatierten Abschnitt am 5'-Ende eine **Stammsschleife (=IRE)**. Diese Struktur bindet ein Protein mit 90 kDa, das man **IRE-bindendes Protein (IRP)** nennt.

Das gebundene **IRP** blockiert die Initiation der Translation.

Bei steigender Eisenkonzentration bindet **IRP** Eisen als **4Fe-4S-Cluster**. IRP, das Eisen gebunden hat, kann sich **NICHT** mit der mRNA zusammenlagern, weil die Bindungsstellen für Eisen und RNA sich in einem erheblichen Umfang überlappen. In Gegenwart von Eisen löst sich also die mRNA für Ferritin vom IRP und wird translatiert.

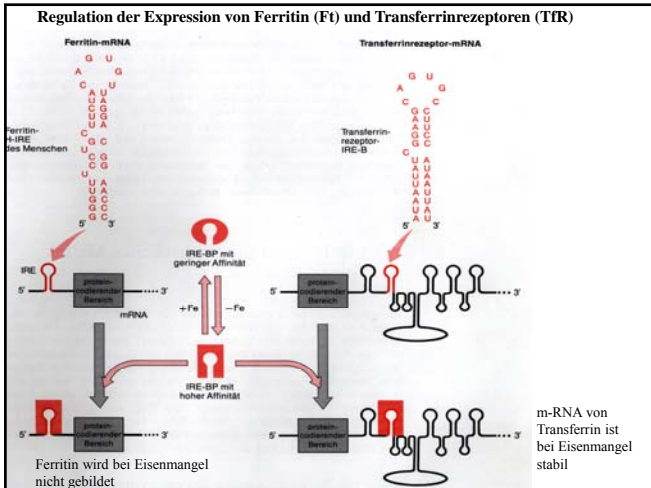


Die **Transferrin-Rezeptor** m-RNA enthält mehrere IREs am nichttranslatierten 3'-Ende:

5' \rightarrow codierende Region \rightarrow Eisen-Response-Element \rightarrow 3'

Bei niedriger Eisenkonzentration heftet sich **IRP** an diese IREs. Wegen der Lage der Bindungsstellen (3') lässt sich die m-RNA für den **Transferrinrezeptor** dann aber immer noch translatieren.

Bei steigender Eisenkonzentration löst sich **IRP** und die m-RNA wird rasch abgebaut. Eine Zunahme der Eisenkonzentration in der Zelle führt also zur Zerstörung der m-RNA für den **Transferrinrezeptor**.



Chemie des Eisens

Eisenaufnahme, Transport und Speicherung beim Menschen

Eisenaufnahme bei anderen Organismen

Eisen ist essentielles Spurenelement für fast alle Organismen (Ausnahme: Milchsäurebakterien).

Alle Organismen müssen biochemische Mechanismen für Aufnahme, Transport und Speicherung entwickelt haben:

- Aktive oder passive **Resorption** im Zuge der Nahrungsaufnahme (Lösung, Komplexbildung)
- Gezielter **Transport** des Eisens durch Membranen in die Zelle(n) und **Verarbeitung** innerhalb der Zelle(n), z.B. Einbau in Proteine
- **Eliminierung** aus dem Stoffwechsel durch Ausscheidung bzw. durch vorübergehende Speicherung
- Effektive **homöostatische Kontrolle**: Auswirkung von Eisen-Ionen auf die Expression von Genen (Prokaryoten) oder Translation von Proteinen (Eukaryoten)

Mangel an Eisen ist auch für Mikroorganismen gefährlich.

Beispiel: Pathogene Mikroorganismen benötigen für Vermehrung kontinuierliche Eisenzufuhr (Infektion bei Menschen ist daher immer mit Absinken des Eisengehaltes im Blutplasma korreliert) → Effektive Komplexbildner haben daher eine antibiotische und zellschützende Wirkung

- Bakterien, Pilze:** Entwicklung von löslichen Chelatbildnern (**Siderophore**, „Eisenträger“) mit sehr hoher Affinität für Eisen. **Bakterioferritine**.
- Pflanzen:** (**Phyto**-)Siderophore, **Phytoferritine**.
- Tiere, Mensch:** **Transferrine**, **Ferritine**, **Hämosiderin**

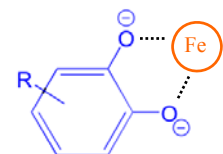
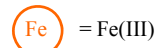
Siderophore sind natürlich vorkommende Komplexbildner mit niedrigem Molekulargewicht (500-1000 Da) und hoher Spezifität für Eisen.

Funktion: Eisen-Aufnahme und -Transport in Mikroorganismen und Pflanzen

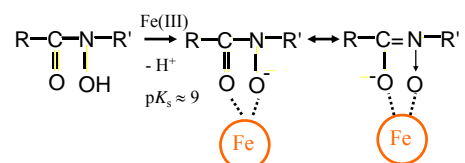
Mit Fe(III) bilden **Siderophore** sehr dissoziationsstabile Chelat-Komplexe.

Zwei Klassen von **Siderophoren**:

- Catecholate** (Bakterien)



- Hydroxamate** (Pilzen, Hefen)



Typisch: Bildung spannungsfreier ungesättigter Fünfring-Chelatsysteme mit negativ geladenen Sauerstoff-Koordinationsatomen

Harte Liganden für „harte“ hochgeladene Lewisäure Fe(III)

Catecholate: Enterobactin, Parabactin, Agrobactin

Hydroxamate: Ferrichrome, Desferrioxamine, Komplexe basierend auf Fusarinin, Rhodotorulasäure und Aerobactin

Komplexbildungskonstante ist ein Maß für die Stabilität dieser Komplexe:

$$\text{Fe(III)} + \text{Sid}^{n-} \rightleftharpoons \text{FeSid}^{(3-n)}$$

$$K_f = \frac{[\text{FeSid}^{(3-n)}]}{[\text{Fe}^{3+}][\text{Sid}^{n-}]}$$

[], molare Konzentration; Fe(III), hydratisiertes Eisen; Sidⁿ⁻, anionischer Siderophor-Ligand;

Stabilitätskonstanten und Redoxpotential von Eisenkomplexen natürlicher Siderophore hängen zusammen!

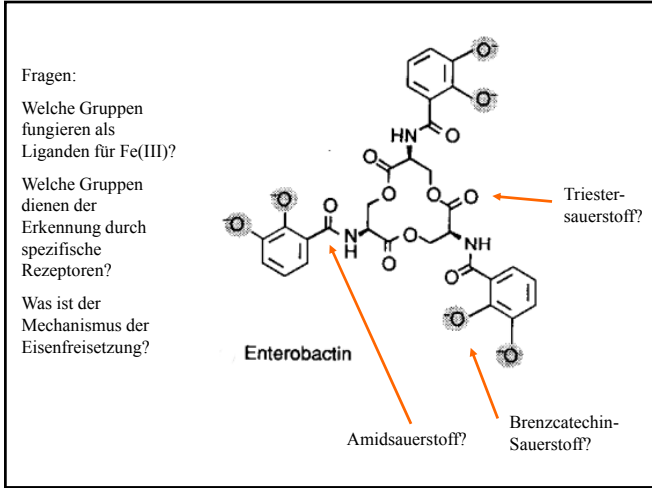
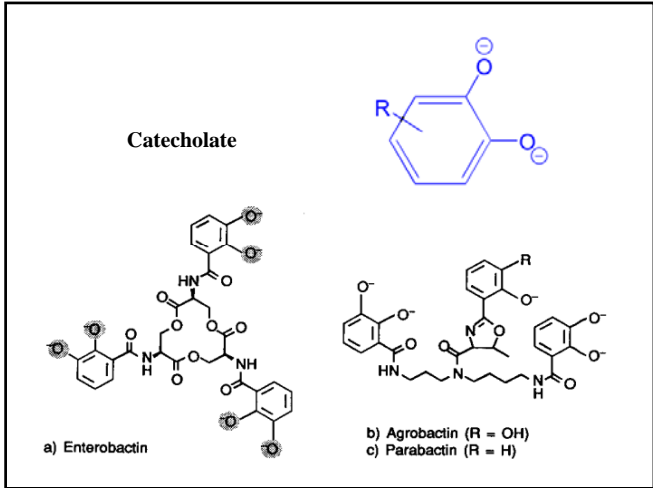
Siderophor-Ligand	log K _f Fe(III)-Komplex	E ⁰ (mV) (pH 7)	Liganden-Typ
Coprogen	30.2	447	Hydroxamat
Desferrioxamin B	30.5	468	Hydroxamat
Ferrichrom A	32.0	448	Hydroxamat
Aerobactin	22.5	336	Hydroxamat, Carboxylat
Enterobactin	52	790	Catecholat
Mugineinsäure (Phytosiderophor)	18.1	109	Catecholat, Amino-N

Zusammenhang zwischen Komplexbildungskonstante und Redoxpotential!

Frage: Wie wird Eisen aus diesen Komplexen wieder an die Zelle abgegeben? Reduktions- und/oder Protonierungsreaktion?

Die Bildungskonstanten, K_f für entsprechende Fe(II)-Komplexe sind aufgrund der geringen Ladung und des größeren Ionenradius wesentlich kleiner. Das Standard-Redoxpotential kann Aufschluß über die mögliche Eisenfreisetzung geben:

- ◆ Freisetzung durch Reduktion
- ◆ Freisetzung durch Protonierung gekoppelt mit Reduktion
- ◆ Freisetzung durch Protonierung



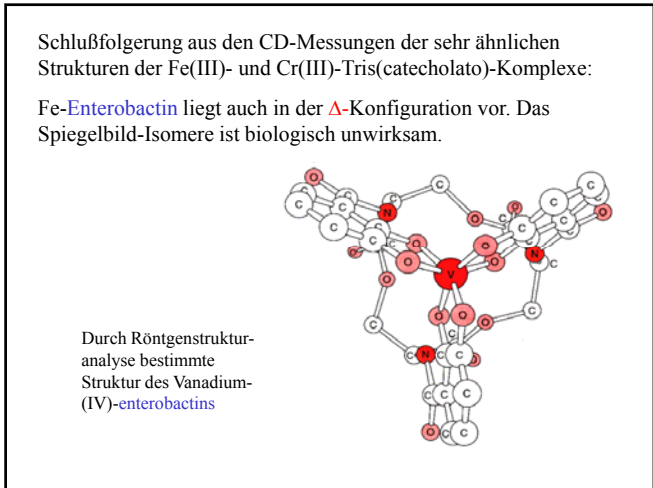
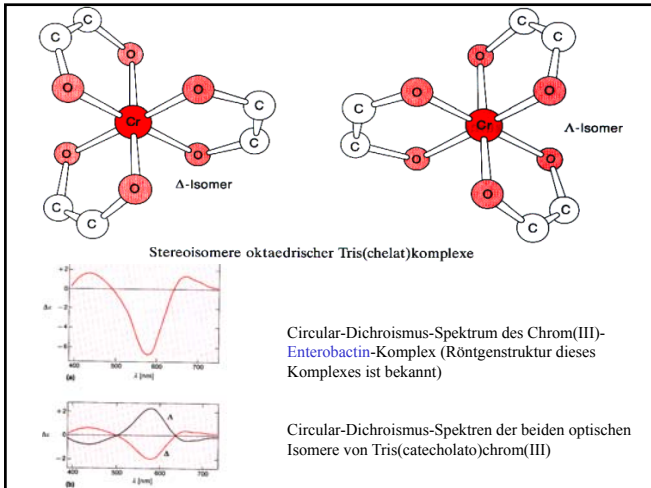
Beispiel:

Enterobactin (*Salmonella typhimurium*, *E. coli*).

Relativ gut untersuchtes System

Struktur des Eisen-Enterobactin-Komplexes? Das UV-Vis-Spektrum des Fe(III)-Enterobactin-Komplexes ist dem Tris(catecolato)eisen(III) ähnlich → Die Brenzcatechin-Dianionen fungieren als Liganden!

Artifizielle anorganische Komplexe:
Tris(catecolato)chrom(III)komplexe sind optisch aktiv (HPLC liefert 2 optische Isomere)



Solubilisierung und Mobilisierung von Eisen in Bakterien:

- ◆ Synthese der Siderophore (Regulation)
- ◆ Abgabe an die Umgebung
- ◆ Selektive Bindung an Eisen (**Sequestrierung**)
- ◆ Aufnahme in die Zelle
- ◆ Freisetzung in der Zelle

Aufnahme: Passive Diffusion in entsprechenden ungeladenen Komplexen oder ionenspezifische Kanäle?

Fe-Enterobactin-Komplex: Transport benötigt ATP

- ◆ Wechselwirkung des Fe(III)-Enterobactins mit spezifischen Rezeptoren an der äußeren und inneren Membran von *E. coli*
- ◆ Transport durch einen energieabhängigen Prozeß
- ◆ Kinetik der Aufnahme mit Hilfe von Radioisotopen des Eisens verfolgbar

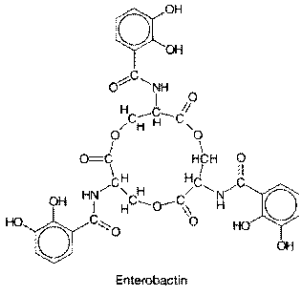
Welche Strukturen werden von den Rezeptoren erkannt?

- ◆ Rhodium bildet kinetisch inerte Komplexe (daher Studienobjekt). Rhodium-Catecholatkomplexe hemmen die Aufnahme von $[\text{Fe}(\text{ent})]^{3-}$ nicht
- ◆ Modifikation des Liganden an der Amidbrücke führt zu sehr wirksamen Inhibitoren der Eisenaufnahme in die Bakterienzellen
- ◆ Trilactonring ist für biologische Funktion unwesentlich, kann ersetzt werden

a) Mesitylen b) ein Triamin c) Cyclododecan

MECAM:
 Trilactonring durch 1,3,5-Trimethylenbenzol ersetzt
 $K_f = 10^{46}$
 Inhibitor der $[\text{Fe}(\text{ent})]^{3-}$ -Aufnahme
 Wird von den Zellen absorbiert und kann als Eisenquelle dienen.

Synthetische **Enterobactin**-
Analoga in Therapie?



Extrem hohe Affinität für Eisen
($K_f = 10^{52}$)

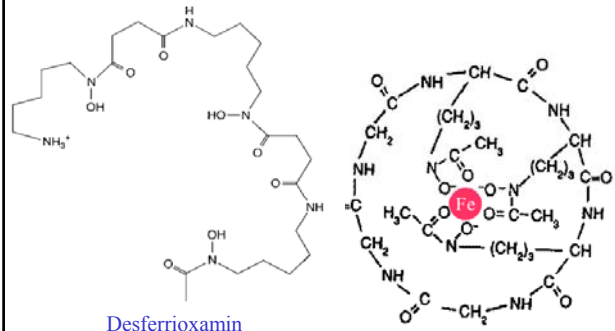
Fe(III)-Mobilisierung aus Glas
Wäre ideal für Eisen-Therapie,
jedoch:

Triesterring ist hydrolytisch labil

Catecholeinheiten sind
oxidations-empfindlich
(Oxidation zu *o*-Semichinonen
oder *o*-Chinonen)

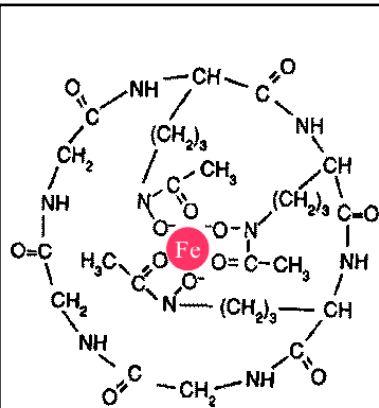
Eisenkomplex wirkt
wachstumsfördernd auf
Bakterien (→ Infektion)

Hydroxamate:



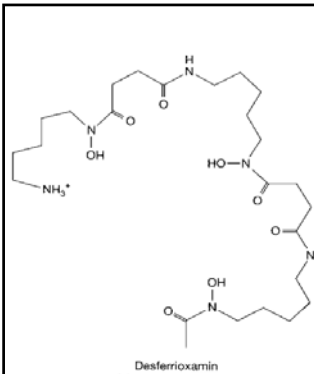
Desferrioxamin

Ferrichrom



Zyklisches
Hexapeptid aus
Glycin und N-
Hydroxy-L-Ornithin
(mit 3 acetylierten
Hydroxamin-
Gruppen)

Ferrichrom



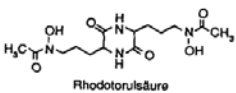
Desferrioxamin wird von
Streptomycetes-Arten
synthetisiert.

Der mit Eisen beladene Komplex
von Desferrioxamin wird als
Ferrioxamin B bezeichnet. Als
Desferal (Ciba Geigy) bei
chronischem Eisenüberschuß (z.B.
nach Blutinfusionen) verwendet.

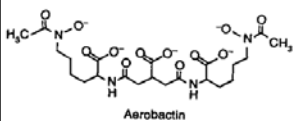
Blutinfusionen führen zu konstanter
Anreicherung des Eisens im Körper,
da nur wenige mg pro Tag
ausgeschieden werden können.

Desferrioxamin komplexiert Eisen
auch aus Transferrin und Ferritin,
jedoch nicht aus Hämproteinen!
Komplex wird mit dem Urin
ausgeschieden.

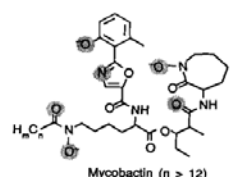
Nachteil: Komplexbildung langsam,
hohe Dosen notwendig!



Dipeptid des N-Hydroxy-L-
ornithins (von der Hefe
Rhodotorula pilaminea
synthetisiert).



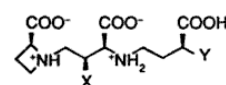
Abkömmling der Citronensäure
(die äußersten Carbonsäurereste
sind durch Hydroxamgruppen
ersetzt). Von *E. coli* und
Aerobacter aerogenes
synthetisiert.



Mehrere Strukturmerkmale:
2 Hydroxamatgruppen,
Phenolat-Gruppe sowie
Oxazolin-Gruppe

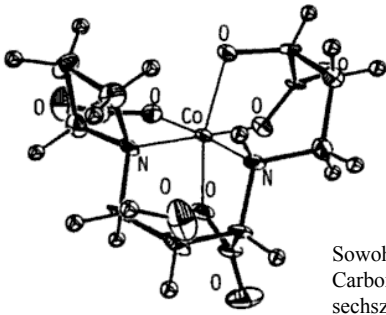
Pflanzen bilden sog. **Phytosiderophore** um Eisen für z.B. die
Photosynthese und Chlorophyll-Biosynthese zu mobilisieren. Das
Angebot an Eisen in den verschiedensten Böden ist sehr
unterschiedlich. Reis reagiert z.B. sehr empfindlich auf Fe-Mangel.

Eisen muß aus seinen Oxiden gelöst und mittels **Phytosiderophore**
in den pflanzlichen Kreislauf aufgenommen werden. Bei diesem
Prozess sind auch häufig symbiontisch Mikroorganismen
mitbeteiligt. Jedoch synthetisieren Pflanzen auch eigene
Phytosiderophore wie z.B. **Mugineinsäure** und **Nicotianamin**.



Carboxylat und
Amino-Funktionen
als Liganden

X = OH, Y = OH: **Mugineinsäure**
X = H, Y = NH₂: **Nicotianamin**



Co(III)-Komplex von
Mugineinsäure

Sowohl Amino- als auch
Carboxylatgruppen des
sechszähligen Liganden
sind an der
Koordination des
Metalls beteiligt.

Regulation der Biosynthese von Siderophoren bei **Bakterien**?

- ◆ **Auf der Stufe der Transkription**
- ◆ Ein einziges Protein, **Fur** (*Fe uptake regulator*) reguliert koordinativ eine große Anzahl von Genen

Fur: Dimer, pro UE 17 kDa

Bindet an spezifische DNA-Abschnitte, wenn zweiwertige Metall-Ionen, wie z.B. Fe(II) anwesend sind → Unterdrückung der Transkription relevanter Gene der Eisenaufnahme

Vgl. Expression von **Ferritin** und **Transferrin-Rezeptor** in Säugern: auch metallabhängig reguliert, jedoch auf der Stufe der Translation.