

Budowa i rola DBP (Vitamin D-Binding Protein) w stanach fizjologii i patologii u zwierząt i ludzi

JAN P. MADEJ, JANUSZ BORATYŃSKI*, WOJCIECH NOWACKI

Zakład Prewencji i Immunologii Weterynaryjnej Katedry i Kliniki Rozrodu, Chorób Przeżuwaczy oraz Ochrony Zdrowia Zwierząt Wydziału Medycyny Weterynaryjnej AR, ul. Norwida 31, 50-375 Wrocław

*Laboratorium Chemii Biomedycznej, Zakład Onkologii Doświadczalnej Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, ul. Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław i Instytut Chemii i Ochrony Środowiska Akademii im. Jana Długosza, ul. Armii Krajowej 13/15, 42-200 Częstochowa

Madej J. P., Boratyński J., Nowacki W.

Structure and role of DBP (Vitamin D-Binding Protein) on physiological and pathological states in animals and humans

Summary

The vitamin D-binding protein (DBP), also known as group-specific component or Gc globulin, demonstrates a pleiotropic effect in human and animal bodies. DBP binds vitamin D and its derivatives. It plays a key role in the extracellular actin-scavenger system (EASS) through the ability of actin binding. DBP is a precursor of the macrophage-activating factor in the inflammation-primed macrophage activation cascade. It binds various cells to the surface of and can significantly enhance the leukocyte chemotactic activity for C5a and C5a des Arg. Anti-human DBP serum shows a cross-reactivity with the serum of the various species in double immunodiffusion or immunoelectrophoresis tests. The polymorphism of DBP in humans and animals indicates a species-characteristic pattern in PAGE and IEF. Gc globulin may be used as a non-specific marker of diseases and some clinical states of patients.

Keywords: vitamin D binding protein (DBP), Gc protein, Gc globulin, vitamin D, macrophage activating factor (MAF)

Białko wiążące witaminę D, określane skrótem DBP (vitamin D-binding protein), otrzymało w swojej historii kilka innych nazw, najczęściej związanych z pełnioną przez nie funkcją, jak: białko Gc, globulina Gc, składnik grupowo swoisty, białko wiążące kalcyfidol (CaBP) (1), transkalcyferyna (1) i bardziej opisowych. Pełni także funkcję zmiatacza aktywny, jest prekursorem czynnika aktywacji makrofagów – MAF (macrophage activating factor), wiąże kwasy tłuszczowe, lokalizuje się na powierzchni wielu komórek oraz wzmacnia aktywność chemotaktyczną składników C5a i C5a des Arg dopełniacza. Pierwsze informacje na temat tego białka pojawiają się już w 1955 r. (13), choć za jego odkrywcę uznaje się J. Hirschfelda – 1959 r. (17, 20). Początkowo znana była tylko zdolność wiązania witaminy D i jej metabolitów. Dopiero później opisano jego oddziaływanie z innymi haptenami i białkami, np. w 1980 r. odkryto zdolność wiązania aktywny (13).

Budowa

DBP jest białkiem jednołańcuchowym o masie makrocząsteczkowej 52-58 kDa, która zależy od źródła pochodzenia i stosowanej metody analitycznej (tab. 1) (1, 2, 6, 8, 12, 13). Opisano sekwencje cDNA białka wiążącego witaminę D u człowieka, szczura, myszy, królika, kury i żółwia. Ludzkie białko Gc1 (ryc. 1) ma budowę podobną

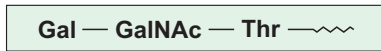
Tab. 1. Właściwości gatunkowe DBP

Gatunek	Masa (kD)	Punkt izoelektryczny – pH	Stężenie w surowicy	Autor
Człowiek	58			13
Człowiek	56			6
Człowiek	51,2		4-8 μM	8
Szczur	54	prążek szybki – 4,9 prążek wolny – 5,0	7,5-9,5 μM u samców 5,8-6,4 μM u samic	12
Szczur	52	5,2	13 μM u samców 9 μM u samic	1
Kura	54/60	6,0 i 5,9	nioski 10 μM niedojrzałe 4 μM koguty 4 μM	2

do bydłęcego DBP (bDBP) (24, 28, 29), natomiast ludzkie białko Gc2 (ryc. 2) oraz DBP myszy (mDBP) i szczura (rDBP) nie zawierają kwasu sjałowego: (24, 26, 28, 29). DBP należy do nadrodziny białek wiążących różne hapteny, np. u żółwia DBP wiąże tyroksynę (23). Struktura DPB jest podobna do albuminy i α -fetoproteiny (AFP) (10). DBP jest zbudowane z trzech podobnych α -helikalnych domen (I, II i III). Białko jest glikoproteina, w której wiązaniami O-glikozydowymi poprzez Thr i Ser związane są di- lub



Ryc. 1. Budowa Gc1 człowieka i DBP bydła (bDBP) (24, 28, 29)



Ryc. 2. Budowa Gc2 człowieka, DBP myszy (mDBP) i DBP szczura (rDBP) (24, 26, 28, 29)

rozgałęzione trisacharydy zbudowane z N-acetylgalaktozaminy (GalNAc), galaktozy oraz kwasu sjałowego (8, 26).

Funkcje

Wiązanie witaminy D. W osoczu DBP występuje w 20-krotnym nadmiarze w stosunku do metabolitów witaminy D, stąd tylko ok. 5% puli tego białka jest zaangażowane w transport tych steroli. W warunkach prawidłowych jedynie 0,04% 25-hydroksycholekalcyferolu (syn. kalcyfidol czyli 25(OH)₂D₃) i 0,4% 1,25-dihydroksycholekalcyferolu (syn. kalcytriol czyli 1,25(OH)₂D₃) jest w formie wolnej, reszta jest związana z DBP (85-88%, silne powinowactwo) i albuminami (12-15%, niskie powinowactwo). DBP posiada jedno miejsce wiązania witaminy D znajdujące się na N-końcu (10). Powinowactwo DBP zależy od pochodnej witaminy D i wynosi odpowiednio:

$$K_d = 5 \times 10^{-9} \text{M} \quad 3 \times \text{niższa} \quad 10 \times \text{niższa}$$

$$[25\text{-OH-D}_3 = 24,25(\text{OH})_2\text{D}_3] > 25\text{-OH-D}_2 > 1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$$

DBP znacznie wydłuża okres półtrwania 25(OH)₂D₃ w surowicy (w kompleksie 25(OH)₂D₃ – DBP okres półtrwania wynosi 10-14 dni) i w mniejszym stopniu witaminy D. Hamuje wychwytywanie tej ostatniej przez wątrobę i podnosi efektywność jej przemiany do 25(OH)₂D₃ (21). Obniża tempo nerkowej 1 α -hydroksylacji 25(OH)₂D₃ (12) oraz ze względu na swoją wielkość, spowalnia bezpośrednią filtrację i wydalanie z moczem (21). DBP w kompleksie z 25(OH)₂D₃ jest filtrowana w kłębuszkach nerkowych, a w kanalikach proksymalnych ulega ponownemu wchłonięciu przy zaangażowaniu receptora endocytarnego – megaliny należącej do rodziny lipoprotein o małej gęstości (16). DBP jest „rozpuszczalnikiem” i nośnikiem dla 25(OH)₂D₃, pełniąc jednocześnie funkcje ochronne (12). Utrzymując stałą ilość metabolitów witaminy D, zgodnie z teorią „wolnego hormonu”, moduluje stopień jej dostępności biologicznej, aktywacji i działania na narządy docelowe (21). DBP chroni organizm przed krótkotrwałymi niedoborami witaminy D w diecie (23), natomiast nie osłabia toksycznego działania jej nadmiaru. DBP jest niezbędne dla endocytozy i później dla metabolizmu wewnątrzkomórkowego witaminy D.

Wiązanie aktyny. DBP jest jednym z najważniejszych składników pozakomórkowego systemu zmiatania aktyny

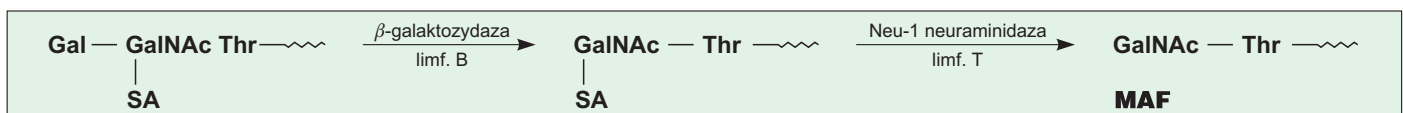
– EASS (extracellular actin scavenger system), do którego należy także gelsolina i profilina (20). Miejsce wiążące aktynę G znajduje się na C-końcu (10, 18, 23). Jedna cząsteczka DBP wiąże jedną cząsteczkę aktyny G ($K = 1-10 \times 10^{-8} \text{ M}$ (13, 18)). W wiązaniu uczestniczą od-

działywania hydrofobowe, jonowe i wodorowe. Okres półtrwania kompleksu wynosi ok. 30 min. w porównaniu z 24 h dla wolnego DBP (18). Białko Gc zapobiega polimeryzacji aktyny G, przeciwdziałając tworzeniu się mikro-zakrzepów i może przyczyniać się bezpośrednio do depolimeryzacji filamentów aktynowych (13). Wiąże silniej aktynę niż gelsolina i profilina. Na przykładzie gelsoliny wykazano, że DPB może przejmować do niej monomery aktyny, przesuwając równowagę oddziaływań w kierunku tworzenia kompleksu aktyna : DBP. Białko Gc nie wiąże aktyny F (fibrylarnej – polimeru aktyny G) (13, 18).

Prekursor MAF. DBP poddane działaniu β -galaktozydazy limfocytów B oraz neuraminidazy Neu-1 limfocytów T ulega konwersji do czynnika aktywującego makrofagi (MAF). Aby nastąpiła aktywacja DBP, wymagane jest dodanie lizofosfatydylocholino (lyso-Pc), która zwiększa płynność błony komórkowej i ekspozycję enzymów oddziałujących z białkiem Gc na powierzchni komórek B (ryc. 3). Obecność neuraminidazy na powierzchni limfocytów T powoduje, iż nie wymagają one wcześniejszego przygotowania (26).

Lokalizacja na powierzchni komórek. DBP lokalizuje się na wielu komórkach. Ma zdolność spontanicznego wiązania się do powierzchni leukocytów i może być przez nie internalizowane, a następnie degradowane w lizosomach (7). Wiąże się z błoną cytoplazmatyczną: ludzkich monocytów (5, 7), limfocytów (7, 23) i neutrofilów (5, 23), limfoblastów linii B (8, 23), fibroblastów (8) komórek Raji, HL-60 (5) i U-937 (5, 7, 23), komórek trofoblastu łożyska człowieka (7, 8, 23), komórek mięśni gładkich (8, 23), groniastych komórek trzustkowych szczura (8, 23), komórek kanalików nerkowych świni (8, 23), spermą człowieka (8, 23), komórek woreczka żółtkowego szczura (23). DBP występuje na powierzchni 30-50% jednojądrzastych komórek krwi obwodowej – PBMCs (peripheral blood mononuclear cells) w tym 95% limfocytów B, 5-8% limfocytów T (7). Połączenie DBP z powierzchnią komórek następuje przy pomocy proteoglikanu – siarczanu chondroityny (5, 8). DBP zasocjowane z powierzchnią komórki najprawdopodobniej nie jest nową formą DBP, a pochodzi z surowicy (6). Większość komórek nie syntetyzuje DBP, lecz przejmuje je z otoczenia (6, 23). W uwalnianie białka Gc do środowiska pozakomórkowego zaangażowana jest elastaza – enzym działający destrukcyjnie na układ wiążący DBP (5).

Wzmaganie aktywności chemotaktycznej składników dopełniacza C5a i C5a des Arg. DBP związane na powierzchni leukocytów, działając już w pikomolowych stężeniach, wzmacnia aktywność chemotaktyczną składowej C5a dopełniacza. Dotąd nie poznano, w jaki sposób



Ryc. 3. DBP jako prekursor MAF (26)

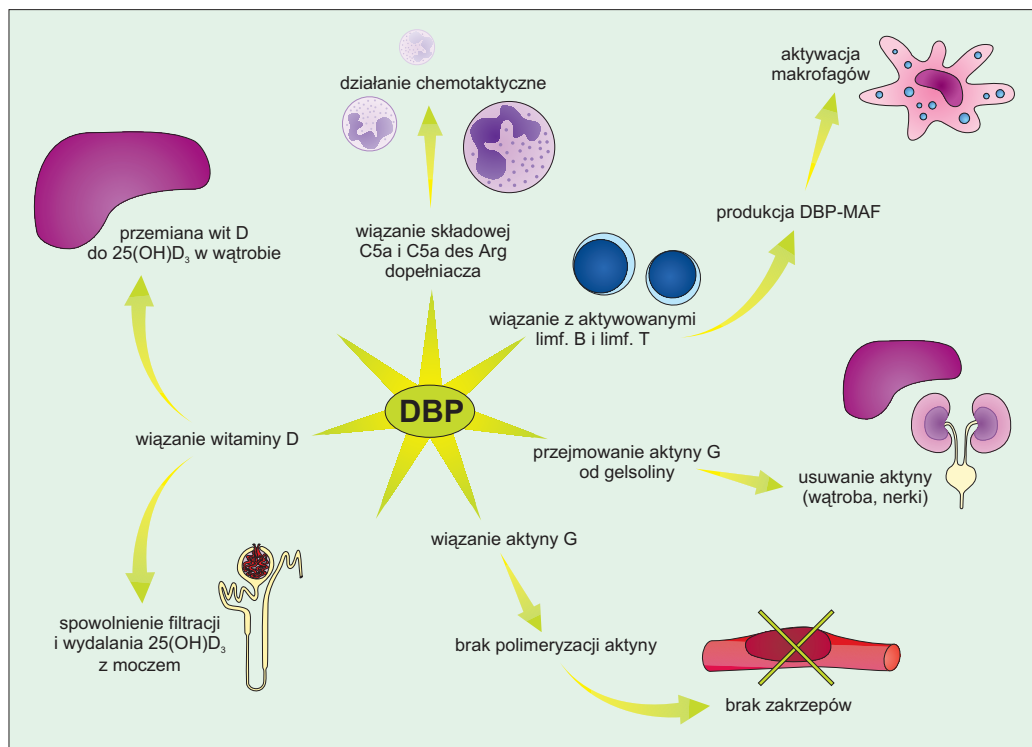
DBP wzmacnia chemotaksję składowej C5a, choć wiadomo, że nie zmienia ono liczby receptorów na neutrofilach (C5aR czyli CD88) ani stałej dysocjacji K_d dla C5a (5).

W wyniku konwersji składowej C5 tworzy silny chemoatraktant C5a i jego pochodną C5a des Arg (6). DBP wzmacnia aktywność chemotaktyczną C5a i C5a des Arg, uważanych za najważniejsze czynniki chemotaktyczne neutrofilów, monocytów i fibroblastów (5, 6, 31), natomiast nie wykazuje podobnego działania w stosunku do formylowanych peptydów, IL-8, leukotrienu B₄ oraz czynnika aktywującego płytki krwi (19, 31). Aktywność chemotaktyczna wymaga związania DBP do powierzchni leukocytów poprzez siarczan chondroityny (5, 6, 23) lub makrocząsteczki zawierające glikozaminoglikany – GAG (6).

C5a jest jednym z najsilniejszych mediatorów odpowiedzialnych za chemotaksję i funkcje efektorowe komórek w odpowiedzi zapalnej. Wywołuje w komórkach docelowych szereg efektów: chemotaksję, degranulację, wybuch tlenowy, zmiany adherencji komórek, skurcz naczyń, wzmacnia przepuszczalność naczyń oraz powoduje skurcz mięśni gładkich (8). DBP przyłączając C5a des Arg do kwasu sjałowego w obrębie łańcucha oligosacharydowego, tworzy kompleks o silnym działaniu chemotaktycznym na ludzkie PMN (polimorphonuclear cells). Natomiast za działanie wspomagające C5a jest odpowiedzialna 20-amino-kwasowa sekwencja w obrębie N-końca domeny I DBP (31). Istnieje kilka teorii dotyczących stymulacji chemotaktycznego działania C5a des Arg przez DBP. Możliwe, że DBP maskuje łańcuch oligosacharydowy C5a des Arg (usunięcie łańcucha oligosacharydowego C5a des Arg wzmacnia aktywność chemotaktyczną) lub wzmacnia siłę wiązania C5a des Arg do jego receptora na PMN. Tworząc kompleksy z C5a des Arg (stosunek molarny DBP/C5a des Arg 1 : 2) DBP może obarczyć receptory teoretycznie nawet dwukrotnie większą liczbą cząsteczek C5a des Arg i tym samym zwiększyć liczbę cząsteczek stymulujących komórkę (19).

Czy bez DBP można żyć?

Początkowo zakładano, że brak DBP jest letalny (3, 10, 13), ponieważ dotychczas nie znaleziono w populacji ludzkiej homozygoty Gc0. Hipoteza ta została obalona poprzez stworzenie myszy z nokautem genetycznym DBP (-/-), które nie tylko żyją, ale są prawidłowej wielkości, wyglądu, bez objawów osłabienia płodności i plenności zarówno u samców, jak i samic (8, 21, 23). Mają one znacząco niższy poziom surowiczego 25(OH)D₃ i 1,25(OH)₂D₃ w porównaniu z DBP (+/+) (21, 23) i nie wykazują objawów



Ryc. 4. Pleiotropowe działanie DBP

niedoboru witaminy D. Obniżony poziom metabolitów witaminy D u tych myszy, odpowiada poziomowi u myszy prawidłowych, utrzymywanych na diecie niedoborowej w tą witaminę. Wydaje się zatem, że ilość „wolnego hormonu”, a co za tym idzie jego biodostępność, w obu przypadkach jest podobna. Różnica polega jedynie na tym, że zdrowe myszy posiadają „zapas” tej witaminy, w postaci kompleksu z DBP. Żywienie myszy DBP (-/-) dietą z nadmiarem witaminy D nie wywołuje u nich objawów hiperkalcemii, takich jak resorpcja kości i zwapnienie tkanek miękkich, obserwowanych u myszy DBP (+/+).

Różnicowanie międzygatunkowe

Genetyczna różnorodność DBP w obrębie różnych gatunków może służyć jako narzędzie charakteryzujące populację (22). Oznaczanie poszczególnych izotypów DBP znalazło chyba największe zastosowanie praktyczne, jako jeden z parametrów pomocnych przy określaniu ojcostwa u koni.

Historycznie najstarsza metoda podwójnej immunodufuzji jest ciągle wykorzystywana w badaniu międzygatunkowego podobieństwa DBP. Stosując surowicę anti-Gc człowieka wykazano antygenowe podobieństwo białka Gc człowieka i różnych gatunków zwierząt (17). Podobieństwo to jest wyrażone jako procent krzyżowo reagującego Gc danego gatunku z surowicą anti-Gc człowieka i wynosi względem surowicy ludzkiej: pies 93%, kot 82%, szczur 74%, świnia 48%, bydło 42%, koza 40%. Prażek precypitacyjny obserwowano także w reakcji z surowicą konia (20), natomiast nie występował on z surowicami kury (9, 17), gołębia, kaczki, gęsi, traszki i ryb (17). Dodatkową informację stanowi fakt, że w podwójnej immunodufuzji surowice psa, kota, świni, bydła i kozy wykazują zgodność. Szczur i świnia morska wykazują częściową zgodność z Gc: psa, kota, świni, bydła i kozy oraz posiadają homologiczne antygeny dla surowicy anti-Gc Ho (17).

Immunosurowica anty-Gc szczura reaguje z surowicą myszy, wykazując częściową zgodność (1, 12), a nie reaguje z surowicą psa, człowieka i kozy (1, 14).

Immunoelktroforeza jest metodą, która pozwala już na określenie poszczególnych izotypów DBP. Przykładem jest rozdział poszczególnych frakcji DBP szczura w gradencie napięcia i reakcja precypitacji z immunosurowicą anty-Gc szczura. Obserwowano łuki precypitacyjne o różnej ruchliwości: wolny i szybki (12).

Dobłą metodą wykorzystywaną do różnicowania poszczególnych gatunków zwierząt jest ogniskowanie izoelektryczne – IEF (isoelectrofocusing) połączone z immunofiksacją przy pomocy immunosurowicy anty-Gc człowieka lub autoradiografią z wykorzystaniem witaminy D₃ znakowanej radioizotopem ¹⁴C. Jest to możliwe, gdyż DBP w zależności od pochodzenia różni się punktem izoelektrycznym oraz zawartością kwasu sjałowego (17). W IEF charakterystyczny gatunkowo polimorfizm białka Gc uwiadcza się szybką F i wolną S wędrówką izotypów. W odniesieniu do ludzkiego szybkiego prążka Gc 1F, od strony anody lokalizują się intensywne prążki psa, kota, kozy i bydła. Po stronie katodowej w odniesieniu do ludzkiego Gc 1S lokalizują się prążki szczura i świnki morskiej. Polimorfizm DBP wykazano na przykładzie surowicy kota (homozygota F lub S wykazują 2 prążki, heterozygota FS – 4 prążki), bydła (homozygota F lub S – 4 prążki; heterozygota FS – 6 prążków) i świni (homozygota F lub S – 1 prążek, heterozygota FS – 2 prążki – silniejszy szybszy i słabszy wolniejszy) (14, 17). Obraz izogniskowania wskazuje, że trzy fenotypy Gc u kota, bydła i świni są kontrolowane przez 2 kodominujące allele Gc^F i Gc^S. Za położenie prążków DBP w przypadku białka świńskiego, koziego i bydłowego odpowiada obecność kwasu sjałowego (17).

Kolejną metodą w badaniu różnic międzygatunkowych jest elektroforeza w żelu poliakrylamidowym (PAGE) w nieobecności SDS, połączona z autoradiografią [¹⁴C] witaminy D₃. Obserwowano wiele fenotypów o charakterystycznym układzie prążków u: bydła, koni, kotów, osłów, mułów i jeleni. Nie zauważono różnych fenotypów u: owiec, kóz, świń, królików, psów, wielbłądów i słońi. Poszczególne warianty fenotypowe białka Gc (tab. 2) są reprezentowane przez różny układ prążków (22). Koń Prze-walskiego, muł, zebra i onager wykazują po jednym prążku (30).

Stosując dwukierunkową elektroforezę (2D electrophoresis) wykazano, że u koni i kotów homozygota jest reprezentowana przez jedną plamkę, heterozygota przez dwie plamki, podczas gdy u bydła homozygota wykazuje dwie plamki, a heterozygota cztery plamki (22).

Tab. 2. Warianty fenotypowe białka Gc u różnych gatunków zwierząt oznaczane metodą PAGE (22)

Liczba prążków	Gatunek	Opis prążków
1	pies, świnia	
2	królik	silniejszy anodowy i słabszy katodowy
3	owca, koza	silny środkowy pomiędzy dwoma słabymi
1/2	koń, kot	homozygoty 1 prążek (F lub S) heterozygoty 2 prążki (FS)
2/4	bydło	3 możliwe homozygoty po 2 prążki (A, B, C) heterozygoty po 4 prążki w różnych kombinacjach

Sytuacje kliniczne wpływające na zmianę poziomu DBP

Białko wiążące witaminę D stanowi jeden ze składników surowicy krwi, który może być wskaźnikiem określonych procesów toczących się w organizmie. Zmiany poziomu DBP mogą zachodzić zarówno w prawidłowych stanach fizjologicznych, jak również wskazywać na zachwianie równowagi w całym ustroju lub na dysfunkcje poszczególnych narządów czy układów.

Poziom DBP w surowicy rośnie podczas ciąży u kobiet i po antykoncepcji (13, 23); estrogenizacja powoduje wzrost nawet o 50% (8, 10). Jego poziom maleje w chorobach wątroby, np. w piorunującym uszkodzeniu wątroby (fulminant hepatic failure) obniża się o ok. 10%, oraz w chorobach nerek, np. w zespole nerczycowym (13, 23). Na spadek poziomu może mieć wpływ ograniczenie w diecie białka i energii (21). W przebiegu szoku septycznego spowodowanego endotoksynami jego poziom spada do 50-80%, przy równoczesnym wzroście procentu Gc z aktywną w postaci kompleksów z 8% (norma) do 51% (13).

Obniżenie poziomu DBP koreluje z nekrozą (wzrost w surowicy aminotransferazy asparaginianowej). Po urazie dochodzi do charakterystycznych zmian całkowitego poziomu białka Gc w surowicy oraz jego formy skompleksowanej. Poziom Gc całkowitego maleje pierwszego dnia po urazie do 87%, następnie wzrasta ok. 4.-5. dnia do 135% i ok. 28 dnia wraca do normy, podczas gdy Gc w postaci kompleksu osiąga swój szczyt w trzecim dniu i spada do poziomu minimalnego w 12. dniu, osiągając normę ok. 28. dnia (4).

Badano także poziom DBP w wysiękach do jamy otrzewnowej w zależności od toczących się procesów chorobowych. Współczynnik DBP w wysięku/DBP w surowicy i DBP w wysięku/białek w wysięku, w wielu infekcjach bakteryjnych był znacząco wyższy niż w gruźlicy (odpowiednio $p < 0,005$, $p < 0,05$), a w wysiękach nowotworowych (odpowiednio $p < 0,0005$, $p < 0,005$). Nie znaleziono różnic istotnych statystycznie pomiędzy tymi wysiękami w stosunku poziomu surowiczego DBP do białek surowicy (11).

Rola DBP w przebiegu wybranych chorób

Wielu autorów zwraca uwagę na rolę DBP jako czynnika mającego znaczenie w rozwoju różnych jednostek chorobowych. Na największą uwagę zasługuje jego pochodna DBP-MAF, czyli czynnik aktywujący makrofagi. Jak już wcześniej wspomniano, powstaje on poprzez odtrawienie od białka Gc galaktozy i kwasu sjałowego.

DBP-MAF jest czynnikiem hamującym angiogenezę, a poprzez szlak metaboliczny za pośrednictwem CD36 (receptor dla trombospondyny 1) może hamować proliferację i chemotaksję. Natomiast zwiększa zdolność makrofagów do fagocytozy poprzez receptor Fc-gamma (25), aktywuje osteoklasty, prowadząc do resorpcji kości (8, 15, 27) oraz wpływa na różnicowanie komórek progenitorowych monocytów w kierunku makrofagów (23). Poza tym DBP-MAF kontroluje aktywność makrofagów w miejscu zapalenia, indukując ich apoptozę, wpływając na aktywność kaspaz przez szlaki białka p38 i INK1/2. Pełni zatem rolę przełącznika, wzmacniając aktywność makrofagów w ognisku zapalnym i następnie, gdy nie są już potrzebne, inicjując ich śmierć (8).

Chorobą, w której przebiegu dochodzi do dysfunkcji osteoklastów i związanej z nią zredukowanej resorpcji kości, jest osteopetroza czyli marmurowatość kości. Jest to choroba dziedziczna charakteryzująca się nadmierną gęstością kości, co powoduje, że są one kruche (8). Badania na myszach z osteopetrozą wskazują na defekt β -galaktozydazy limfocytów B, co nie pozwala na syntezę MAF, a w konsekwencji na aktywację makrofagów (27). DBP-MAF może mieć też zastosowanie w klinice, gdyż jest on skuteczny w nanogramowych ilościach jako stymulator resorpcji kości *in vitro*, w porównaniu z mikrogramowym poziomem wymagany dla IFN γ (8).

W chorobach nowotworowych, a także w takich chorobach wirusowych, jak AIDS, może również dochodzić do zaburzeń syntezy DBP-MAF. Pacjenci z zaawansowanym nowotworem nie są zdolni do aktywacji makrofagów, ponieważ komórki nowotworowe skutecznie inaktywują DBP, wydzielając kodowaną w onkogenie endoglikozydazę (α -N-acetylgalaktozaminidazę), której aktywność różni się od fizjologicznego enzymu. Ma to szczególne znaczenie, gdyż DBP-MAF wykazuje działanie anty-angiogenne oraz antyproliferacyjne na komórki nowotworowe. Uniwersalnym wskaźnikiem klinicznym dla różnych procesów nowotworowych może być poziom α -N-acetylgalaktozaminidazy, który wykazuje odwrotną korelację z DBP i jest proporcjonalny do obciążenia przez nowotwór. Inaktywacja DBP-MAF przez α -N-acetylgalaktozaminidazę może być związana z etiologią stanów immunosupresyjnych, jak to ma miejsce w infekcji HIV i układowym toczniu rumieniowatym – SLE (systemic lupus erythematosus), gdzie obserwowano osłabienie tempa usuwania kompleksów immunologicznych przez komórki fagocytarne (8).

Niektóre izotypy białka Gc człowieka predysponują do wystąpienia przewlekłej obturacyjnej choroby płuc (COPD). Jest to choroba o podłożu genetycznym, prawdopodobnie obejmująca także gen kodujący DBP. Uszkodzenie mięszu płuc, występujące w przebiegu COPD, jest prawdopodobnie związane ze zdolnością przemiany DBP do DBP-MAF, który z kolei wzmacnia stymulację makrofagów. U ludzi tylko izoformy Gc1F, Gc1S i 10% Gc2 posiadają łańcuchy cukrowe, które umożliwiają przemianę do MAF, stąd wyższe poziomy Gc2 skutkują obniżoną aktywnością makrofagów w płucach. Obecność homozygoty allelu Gc2 umożliwia ochronę płuc, pomimo wpływu czynników etiologicznych np. częstego palenia papierosów (8). Do dziś nie badano związku pomiędzy fenotypem Gc u koni (GcF lub GcS) a podatnością na wystąpienie COPD.

Podsumowanie

DBP jest białkiem budzącym stałe zainteresowanie nauki, ze względu na jego udział w wielu ważnych procesach życiowych. Liczne prace z zakresu medycyny człowieka donoszą o jego roli w patogenezie wielu chorób. Niestety, jego rola w biologii zwierząt nie jest w pełni poznana. Jego cechy są wykorzystywane w stosowanym na dużą skalę określaniu ojcostwa u koni. Obecność DBP w kręgowcach wskazuje na jego duże znaczenie na różnych szczeblach ewolucji, a reakcje krzyżowe przeciwciał anty-Gc człowieka z surowicami różnych gatunków zwierząt sugerują jego znaczną konserwatywność w filogenezie. Celowe jest zatem podejmowanie dalszych prób izolacji i szczegółowej charakterystyki DBP u różnych gatunków zwierząt.

Piśmiennictwo

1. Bouillon R., Van Baelen H., Rombauts W., Moor P.: The isolation and characterization of the vitamin D-binding protein from rat serum. *J. Biol. Chem.* 1978, 253, 4426-4431.
2. Bouillon R., Van Baelen H., Tan B. K., De Moor P.: The isolation and characterization of the 25-hydroxyvitamin D-binding protein from chick serum. *J. Biol. Chem.* 1980, 255, 10925-10930.
3. Cooke N. E.: Rat vitamin D binding protein. *J. Biol. Chem.* 1985, 261, 3441-3450.
4. Dahl B., Schiodt F., Gehrchen P., Ramlau J., Kiaer T., Ott P.: Gc-globulin is an acute phase reactant and an indicator of muscle injury after spinal surgery. *Inflamm. Res.* 2001, 50, 39-43.
5. DiMartino S. J., Shah A. B., Trujillo G., Kew R. R.: Elastase controls the binding of the vitamin D-binding protein (Gc globulin) to neutrophils: a potential role in the regulation of C5a co-chemotactic activity. *J. Immunol.* 2001, 166, 2688-2694.
6. DiMartino S., Richard R. K.: Initial characterization of the vitamin D binding protein (Gc-globulin) binding site on the neutrophil plasma membrane: evidence for a chondroitin sulfate proteoglycan. *J. Immunol.* 1999, 163, 2135-2142.
7. Esteban C., Geuskens M., Ena J. M., Mishal Z., Macho A., Torres J. M., Uriel J.: Receptor-mediated uptake and processing of vitamin D-binding protein in human B-lymphoid cells. *J. Biol. Chem.* 1992, 267, 10177-10183.
8. Gompe P. T., Bertolini J.: Therapeutic potential of vitamin D-binding protein. *Trends Biotechnol.* 2004, 22, 340-345.
9. Haddad J. G., Walgate J. J.: 25-hydroxyvitamin D transport in human plasma. *J. Biol. Chem.* 1976, 253, 4803-4809.
10. Haddad J. G.: Plasma vitamin D-binding protein (Gc-globulin): multiple tasks. *J. Steroid Biochem. Molec. Biol.* 1995, 53, 579-582.
11. Hamashima Y., Kanazawa T., Hirata A., Yamai Y., Fujihara H., Sekine K., Nagao K.: Measurement of vitamin D-binding protein in pleural fluids and sera by means of a turbidimetric immunoassay measuring system. *Clin. Chim. Acta* 2002, 321, 23-28.
12. Imawari M., Akanuma Y., Muto Y., Itakura H., Kosaka K.: Isolation and partial characterization of two immunologically similar vitamin D-binding protein in rat serum. *J. Biochem.* 1980, 88, 349-360.
13. Lee W., Galbraith R.: The extracellular actin-scavenger system and actin toxicity. *N. Engl. J. Med.* 1992, 326, 1335-1341.
14. Ljungqvist L., Hyldgaard-Jensen J.: Genetic polymorphism of the vitamin D binding protein (Gc protein) in pig plasma determined by agarose isoelectrofocusing. *Anim. Blood Groups Biochem. Genet.* 1983, 293-297.
15. Mohamad S. B., Hitoshi H., Nagasawa H., Usui K., Yoshihira U.: Characterization of human Gc protein-derived macrophage activation factor (GcMAF) and its functional role in macrophage tumoricidal activity. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2003, 510, 77-82.
16. Nykjaer A. and all: Cubilin dysfunction causes abnormal metabolism of the steroid hormone 25(OH) vitamin D $_3$. *Med. Sci.* 2001, 98, 13895-13900.
17. Ogata M., Nakasono I., Iwasaki M., Kubo S., Suyama H.: Comparative immunological and electrophoretic analysis of Gc protein in sera from various animals. *Comp. Biochem. Physiol.* 1988, 193-199.
18. Otterbein L. R., Christophe C., Graceffa P., Dominguez R.: Crystal structures of the vitamin D-binding protein and its complex with actin: Structural basis of the actin-scavenger system. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2002, 99, 8003-8008.
19. Perez H. D., Kelly E., Chenoweth D., Elfman F.: Identification of the C5a des Arg chemotaxin. *J. Clin. Invest.* 1988, 82, 360-363.
20. Rząsa A., Nowacki W., Stefaniak T., Nikolajczuk M.: Globulina Gc u świń. *Med. Wet.* 2004, 60, 193-195.
21. Safadi F. F., Thornton P., Magiera H., Hollis B. W., Gentile M., Haddad J. G., Stephen A., Liebhaber, Cooke N. E.: Osteopathy and resistance to vitamin D toxicity in mice null for vitamin D binding protein. *J. Clin. Invest.* 1999, 103, 239-251.
22. Van de Weghe A., Van Zeveren A., Bouquet Y.: The vitamin D binding protein in domestic animals. *Comp. Biochem. Physiol.* 1982, 73B, 977-982.
23. White P., Cooke N.: The multifunctional properties and characteristics of vitamin D-binding protein. *Trends Endocrinol. Metab.* 2000, 11, 320-327.
24. Yamamoto N., Homma S.: Vitamin D $_3$ binding protein (group-specific component) is a precursor for the macrophage-activating signal factor from lysophosphatidylcholine-treated lymphocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1991, 88, 8539-8543.
25. Yamamoto N., Kumashiro R., Yamamoto M., Willett N. P., Lindsay D. D.: Regulation of inflammation-primed activation of macrophages by two serum factors, vitamin D $_3$ -binding protein and albumin. *Infect. Immun.* 1993, 61, 5388-5391.
26. Yamamoto N., Kumashiro R.: Conversion of vitamin D binding protein (group-specific component) to a MAF by the stepwise action of β -galactosidase of B cells and sialidase of T cells. *J. Immunol.* 1993, 151, 2794-2802.
27. Yamamoto N., Naraparaju V. R.: A defect in β -galactosidase of B lymphocytes in the osteopetrotic (op/op) mouse. *Immunol. Lett.* 1996, 50, 35-40.
28. Yamamoto N., Naraparaju V. R.: Role of vitamin D $_3$ -binding protein in activation of mouse macrophages. *J. Immunol.* 1996, 1744-1749.
29. Yamamoto N., Naraparaju V. R.: Vitamin D $_3$ -binding protein as a precursor for macrophage activation factor in the inflammation-primed macrophage activation cascade in rats. *Cell. Immunol.* 1996, 170, 161-167.
30. Zallen P. Z.: Evolutionary conservation of equine Gc alleles and of mammalian Gc/albumin linkage. *Genetics* 1979, 92, 1347-1354.
31. Zhang J., Kew R. R.: Identification of a region in the vitamin D-binding protein that mediates its C5a chemotactic cofactor function. *J. Biol. Chem.* 2004, 279, 53282-53287.