

## ENTEROCYT – WĄSKIE GARDŁO METABOLIZMU ŻELAZA

ENTEROCYTE – THE BOTTLENECK OF IRON METABOLISM

Robert STAROŃ, Agnieszka STYŚ, Rafał STARZYŃSKI,  
Anna GAJOWIAK, Paweł LIPIŃSKI

Zakład Biologii Molekularnej, Instytut Genetyki i Hodowli  
Zwierząt PAN w Jastrzębcu

*Streszczenie:* Chociaż żelazo jest mikroelementem niezbędnym do życia, to jednak ze względu na zdolność jonów żelaza do katalizowania reakcji, w których powstają toksyczne wolne rodniki tlenowe, jego poziom w organizmie musi podlegać ścisłej kontroli. Absorpcja żelaza jest procesem kluczowym dla utrzymania zawartości żelaza w fizjologicznych granicach, gdyż większość ssaków jest pozbawiona regulowanych mechanizmów usuwania żelaza z organizmu. W absorpcji żelaza zawartego w pożywieniu, zarówno w formie hemowej jak i niehemowej biorą udział enterocyty absorpcyjne występujące na kosmkach dwunastnicy. Enterocyty są komórkami dwubiegunowymi, posiadającymi na błonie wierzchołkowej i podstawno-bocznej zestawy białek uczestniczących odpowiednio w pobieraniu żelaza z pożywienia i w jego uwalnianiu do krążenia. Chociaż powszechnie wiadomo, że żelazo hemowe charakteryzuje się wysoką przyswajalnością, to białka odpowiedzialne za transport hemu oraz mechanizmy regulujące absorpcję żelaza hemowego nie zostały dotąd poznane. Z kolei, nasza wiedza na temat absorpcji żelaza jonowego w dwunastnicy i jej regulacji zwiększyła się na przestrzeni ostatnich lat. Nieorganiczne (niehemowe) żelazo transportowane jest do enterocytu przez transporter metali dwuwartościowych (DMT1), po jego uprzedniej redukcji przez ferreduktazę, dwunastniczy cytochrom b (Dcytb). W dalszym transporcie żelaza przez błonę bazolateralną enterocytu uczestniczy ferroportyna wraz z ferrooksydazą, hefajstyną. Regulacja absorpcji żelaza ma złożony charakter. Uczestniczą w niej czynniki ogólnoustrojowe i lokalne, występujące w enterocycie. Do tych pierwszych należy hepcydyna, peptyd syntetyzowany w hepatocytach, który indukuje degradację enterocytarnej ferroportyny i w ten sposób ogranicza absorpcję żelaza. Lokalna regulacja absorpcji żelaza zawiądana jest przez białka IRP, które kontrolują przepływ tego mikroelementu przez enterocyt poprzez skoordynowaną potranskrypcyjną regulację ekspresji apikalnych i bazolateralnych transporterów a także enterocytarnej ferrytyny, białka magazynującego żelazo, a tym samym ograniczającego pulę tego mikroelementu dostępną dla ferroportyny.

*Słowa kluczowe:* absorpcja żelaza, dwunastnica, enterocyt, hem, IRE, IRP, żelazo

*Summary:* Iron is an essential microelement for life, but, because it is able to catalyze reactions leading to the production of toxic oxygen radicals, its levels in the body are tightly controlled. Iron absorption is a critical process for maintaining body iron levels within the physiological range, since no regulated mechanisms for the active excretion of iron exists in most mammals. The absorption of dietary iron, which is broadly classified into heme and non-heme, is carried out by mature villus enterocytes of the duodenum. Absorptive enterocytes are polarized epithelial cells displaying on their apical and basolateral membranes sets of proteins involved in iron uptake from the diet and its release to the bloodstream, respectively. Although it is largely known that dietary heme iron is highly bioavailable, the proteins responsible for its transport through enterocytes as well as respective regulatory mechanisms are not identified. In contrast, our understanding of duodenal non-heme (inorganic, ionic) iron absorption and its regulation has advanced dramatically in recent years. Inorganic iron crosses the enterocyte apical membrane by the iron transporter divalent metal ion transporter 1 after being reduced by the ferric reductase duodenal cytochrome b. The subsequent passage of iron across the basolateral membrane into the circulation is mediated by ferroportin in partnership with the ferroxidase – hephaestin. Complex regulation of iron absorption is ensured by both systemic and local mechanisms. The former involve the liver-derived peptide hepcidin, which negatively regulates ferroportin and thus reduces iron absorption. Local regulation is maintained by iron regulatory proteins (IRPs) that control the flux of iron through the enterocyte by coordinated posttranscriptional regulation of apical and basolateral iron transporters and ferritin, iron storage protein that limits the amount of iron available for the export from the enterocyte via ferroportin.

*Key words:* iron absorption, duodenum, enterocyte, heme, hepcidin, IRE, IRP, iron

## WSTĘP

Żelazo zawarte w organizmie nowonarodzonych ssaków pochodzi z organizmu matki, skąd zostało przetransportowane przez łożysko w okresie rozwoju embrionalnego i płodowego. Chociaż wiadomo, że przepływ żelaza przez łożysko jest sterowany zarówno przez organizm płodu jak i ciężarnej matki, to jednak molekularne mechanizmy tego procesu i ich regulacja należą do najslabiej poznanych elementów metabolizmu żelaza u ssaków [8, 51]. Znacznie większą wiedzę posiadamy na temat absorpcji żelaza z przewodu pokarmowego, która jest jedyną fizjologiczną drogą prowadzącą do zwiększenia zawartości żelaza w organizmie w okresie postnatalnym. Ilość żelaza w organizmie ludzkiego noworodka wynosi około 270 mg i zwiększa się do 3-4 g u dorosłego człowieka [48]. Biorąc pod uwagę fakt, że w pokarmie o wartości energetycznej 1000 cal, zawartość żelaza wynosi od 4 do 12 mg [11], ten przyrost zawartości żelaza jest znikomy (nawet jeżeli weźmiemy pod uwagę dzienne ubytki rzędu 2 mg) i w pełni uzasadnia tytuł naszego artykułu. Chociaż żelazo absorbowane z diety jest jedynym egzogennym źródłem tego mikroelementu, to jednak nie jest źródłem wyłącznym. Cechą charakterystyczną metabolizmu żelaza u większości ssaków jest bowiem odzyskiwanie tego mikroelementu zawartego w starych, fagocytowanych przez makrofagi erytrocytach i ponowne jego wykorzystanie w procesach biologicznych, głównie w erytropoezie. Na

początku okresu neonatalnego molekularne mechanizmy wchłaniania żelaza nie są w pełni rozwinięte, co jest związane z nieukończonym rozwojem struktury jelita cienkiego [19, 81] i z niską ekspresją genów odpowiedzialnych za transport żelaza przez barierę jelita cienkiego [48, 49, 51]. Głównym źródłem żelaza w tym okresie są jego zapasy zgromadzone przez płód w hepatocytach. U noworodków świni domowej, które pośród ssaków charakteryzują się wyjątkowo niską zawartością żelaza zapasowego zgromadzonego w wątrobie, poziom tych rezerw obniża się ponad 5-krotnie w ciągu zaledwie pierwszych 7 dni życia, zbliżając się do stanu całkowitego wyczerpania [51]. W miarę rozwoju postnatalnego, aż do osiągnięcia dojrzałości somatycznej udział żelaza absorbowanego z diety w całkowitej podaży tego mikroelementu rośnie i jest szczególnie wysoki u dziewcząt w okresie dojrzewania [11], a następnie ustala się na stosunkowo niskim poziomie 2-4 mg dziennie. U dorosłych ludzi w bilansie dobowego zapotrzebowania organizmu na żelazo, jego ilość absorbowana z diety stanowi zaledwie około 10% żelaza udostępnianego w wyniku odzysku tego mikroelementu ze starych erytrocytów. Ta mała ilość wchłanianego żelaza jest również pochodną braku fizjologicznych szlaków jego usuwania z organizmu. Restrykcyjna i rozbudowana molekularna regulacja ilości absorbowanego żelaza ma przede wszystkim ochronić organizm przed nadmierną jego akumulacją i toksycznością, której biochemicznym podłożem jest katalizowana przez jony żelazawe ( $Fe^{2+}$ ) reakcja Fentona. Jej produktem jest rodnik wodorotlenkowy, niezwykle reaktywna biotoksyna, odgrywająca kluczową rolę w patogenezie wielu chorób [9]. Wydaje się, że ilość żelaza zawarta w normalnej diecie, a szczególnie w diecie osób niestroniących od spożywania pokarmów mięsnych, jest wystarczająca dla zaspokojenia żelazowych potrzeb organizmu. Nawet jednak wegetarianie mają możliwość prawidłowego zbilansowania zawartości żelaza w swoim pożywieniu. W niektórych produktach roślinnych takich jak nasiona dyni czy soczewica, zawartość żelaza dochodzi odpowiednio do 8 i 14 mg/100g produktu i jest porównywalna z zawartością żelaza w produktach pochodzenia mięsnego [80]. Ostatnio pewne nadzieje na to, że rośliny mogą być pełnowartościowym źródłem żelaza związane są z możliwością zwiększenia w ich komórkach ekspresji ferrytyny, białka, którego cząsteczka może wiązać nawet 4 tysiące atomów żelaza [98].

Niedobór żelaza jest znacznie częściej spotykanym zaburzeniem homeostazy żelaza niż jego nadmiar, który jest niezwykle rzadko skutkiem nadmiernej ilości żelaza w diecie. Świadczy to o efektywności molekularnych mechanizmów regulacyjnych w ograniczaniu absorpcji żelaza. Przeciążenie organizmu żelazem występuje w zaburzeniu metabolicznym określanym ogólnie jako hemochromatoza i jest niemal wyłącznie skutkiem mutacji występujących w genach kodujących białka odpowiedzialne za kontrolę absorpcji żelaza [67]. Z kolei niedobór żelaza u ludzi jest najczęściej występującym niedoborem żywieniowym [17] i stanowi najczęściej diagnozowaną przyczynę niedokrwistości (29%) [46]. Z pewnością wśród przyczyn niedoboru żelaza u ludzi należy wymienić nawyki żywieniowe, status ekonomiczny

ny, czynniki etniczne i religijne. Powstaje jednak pytanie, dlaczego przyswajalność żelaza znajdującego się w pożywieniu w dwóch głównych formach jonowej i hemowej, wynosi zaledwie odpowiednio około 10% i 30%. Prawdopodobną przyczyną braku pełnego wykorzystania żelaza zawartego w diecie może być ograniczony potencjał molekularnych mechanizmów absorpcyjnych. Wydaje się, że zaważyła na tym ewolucyjna presja, której celem było przede wszystkim ograniczenie toksyczności żelaza, wynikającej z jego interakcji z tlenem. W ewolucji ten proces rozpoczął się mniej więcej 300 mln lat temu, gdy tlen osiągnął znaczące stężenie w środowiskach zasiedlonych przez organizmy żywe i stał się dla nich substratem do pozyskiwania energii uwalnianej w procesie fosforylacji oksydacyjnej.

## ENTEROCYTY ABSORPCYJNE DWUNASTNICY

Absorpcja żelaza odbywa się głównie w dwunastnicy – fragmencie jelita cienkiego położonym między odźwiernikiem a więzadłem Treitza, a najintensywniej w jej odcinku proksymalnym, usytuowanym za żołądkiem. Żelazo wchłaniane jest również w okrężnicy, ale ilościowo ta pula żelaza stanowi zaledwie około 14% żelaza pobieranego w dwunastnicy [3]. Wiąże się to ze znacznie mniejszą ekspresją białek uczestniczących w absorpcji tego mikroelementu w enterocytach okrężnicy [12]. Strukturą dwunastnicy biorącą bezpośredni udział w absorpcji żelaza jest błona śluzowa, jedna z 4 warstw tworzących ścianę dwunastnicy, zwrócona bezpośrednio do jej światła. Błonę śluzową tworzą głównie komórki nabłonka jelitowego, wśród których wyróżnia się komórki macierzyste (komórki pnia), kubkowe, komórki enteroendokrynowe, kępkowe, komórki M i najliczniejsze (stanowiące około 95% komórek nabłonka) enterocyty sekrecyjno-absorpcyjne [81]. Enterocyty absorpcyjne są komórkami o długości 20-30µm i mają walcowaty kształt. Ich charakterystyczną cechą jest dwubiegunowość. W szczytowej części enterocyty w wyniku fałdowania się błony komórkowej powstają tzw. mikrokosmki. Tworzą one rąbek prążkowany (szczoteczkowy), dzięki czemu powierzchnia szczytowa (absorpcyjna) enterocyty zwiększa się 20-30-krotnie. W części szczytowej (wierzchołkowej, apikalnej) błony komórkowej zwrócone są w stronę światła dwunastnicy a w części podstawno-bocznej (bazolateralnej), kontaktują się ze ścianą naczyń krwionośnych. To przestrzenne rozmieszczenie i ukierunkowanie enterocytów w błonie śluzowej jest niezwykle istotne, gdyż warunkuje segregację białek odpowiedzialnych za transport żelaza ze światła dwunastnicy do enterocyty w części apikalnej oraz za jego eksport z enterocyty do krwi w części bazolateralnej.

Podstawowym elementem strukturalnym błony śluzowej jest zespół krypta-kosmek. Kosmki są to palczaste wypustki błony śluzowej. U ich podstaw występują zagłębienia w błonie określane jako krypty jelitowe. Ich liczba przewyższa liczbę

kosmków (5-6 krypt przypada na 1 kosmek). Kosmki pokrywa jednowarstwowy nabłonek jelitowy, którego komórki wywodzą się z komórek macierzystych krypt jelitowych. Na dnie krypt poza komórkami macierzystymi występują komórki Panetha (biorące udział w reakcjach odpornościowych i posiadające zdolność fagocytozy mikroorganizmów). Powyżej, do  $\frac{2}{3}$  wysokości krypty rozciąga się strefa proliferacyjna nabłonka, która obejmuje komórki charakteryzujące się intensywną aktywnością mitotyczną. Na granicy krypty i kosmka występuje obszar dojrzewania komórek nabłonka. Z kolei ściany kosmka wyścielają w pełni zróżnicowane i funkcjonalne komórki nabłonkowe, a wśród nich enterocyty absorpcyjne, biorące udział między innymi we wchłanianiu żelaza. W części szczytowej kosmków rozciąga się tzw. strefa złuszczenia nabłonka. To właśnie żelazo zawarte w enterocytach wypadających z nabłonka szczytowego kosmków (pobrane przez enterocyty absorpcyjne i nieprzekierowane do krwi) jest głównym źródłem ubytku żelaza z organizmu w warunkach fizjologicznych.

## BIĄŁKA BIORĄCE UDZIAŁ W ABSORPCJI ŻELAZA PRZEZ ENTEROCYTY

Absorpcja jonów żelaza wymaga przemieszczenia ich przez dwa przeciwległe odcinki błony komórkowej enterocytów: wierzchołkowy oraz podstawno-boczny. Proces ten wymaga udziału nie tylko transporterów błonowych ale również aktywności enzymów regulujących stopień utlenienia transportowanych jonów żelaza. W trakcie transferu przez błony występują one zwykle w postaci jonów żelazawych ( $\text{Fe}^{2+}$ ) natomiast z białkami wewnątrzkomórkowymi (ferrytyna), czy zewnątrzkomórkowymi (transferyna, laktoferyna) tworzą kompleksy żelaza trójwartościowego ( $\text{Fe}^{3+}$ ). W 1997 r. Gunshin i wsp. zidentyfikowali białko o nazwie transporter metali dwuwartościowych 1 (ang. *Divalent Metal Transporter 1*, DMT1) znane również jako DCT1 (ang. *Divalent Cation Transporter1*), Nramp2 (ang. *Natural resistance-associated macrophage protein 2*), SLC11A2 [34], które w świetle badań przeprowadzonych w ciągu minionych 17 lat okazało się głównym nośnikiem jonów żelaza przez błonę apikalną enterocytu [89]. DMT1 należy do niezwykle zróżnicowanej grupy białek błonowych SLC (ang. *Solute Carriers*), transportujących cząsteczki organiczne posiadające ładunek elektryczny lub jego pozbawione, oraz jony metali i oprócz wyżej wspomnianego transportu żelaza, bierze także bezpośredni udział w transporcie innych dwuwartościowych jonów metali: Co, Mn, Cd, Cu, Ni i Pb [34], skąd właśnie wzięła się jego nazwa. DMT1 posiada 12 domen błonowych i wykazuje wysokie powinowactwo do jonów  $\text{Fe}^{2+}$ , których elektrogeniczny transport do cytoplazmy enterocytów powiązany jest z transportem protonów ( $\text{H}^+$ ) [34]. W wiązaniu jonów  $\text{Fe}^{2+}$  przez DMT1 uczestniczy zewnątrzkomórkowa, 42-aminokwaso-

wa pętla usytuowana między 7 a 8 domeną białka [18]. Wkrótce po odkryciu DMT1 i jego funkcji w metabolizmie żelaza, wykazano, że mutacja (G185R) w genie *Slc11a2* powoduje mikrocytową niedokrwistość (charakterystyczną dla niedoboru żelaza) zarówno u myszy (mk) [26], jaki u szczurów (Belgrade) [27]. U ludzi mutacje w genie *SLC11A2* powodują przemieszczenie białka z błony komórkowej, utratę jego funkcji i w konsekwencji niedokrwistość mikrocytową [40]. Myszy z nokautem genu *Slc11a2* rodzą się żywe, ale charakteryzują się opóźnionym wzrostem, ostrą anemią na tle niedoboru żelaza i nie przeżywają dłużej niż 7 dni [36]. Parenteralne podanie żelaza myszom *Slc11a2*<sup>-/-</sup> nie poprawia rokowań. Świadczy to o tym, że DMT1 jest niezbędne do absorpcji żelaza ale i do wykorzystania żelaza przez komórki prekursorowe erytrocytów, natomiast transport żelaza przez łożysko może odbywać się bez udziału tego białka. Należy podkreślić, że poza specyficzną funkcją jaką pełni DMT1 w enterocytach, białko to zlokalizowano w wielu innych typach komórek, gdzie uczestniczy w transporcie jonów żelaza przez błonę endosomu, po ich uwolnieniu z kompleksu transferryna-receptor transferryny 1 [89]. Myszy ze specyficznym nokautem genu *Slc11a2* w komórkach nabłonka jelitowego wykazują zmniejszoną absorpcję żelaza i postępujący jego niedobór, który prowadzi do ostrej anemii. Ten defekt może być jednak skorygowany poprzez iniekcję zwierzętom dekstranu żelaza [35].

Dominującą formą żelaza jonowego w pożywieniu są jony Fe<sup>3+</sup>. Aby mogły być związane przez DMT1 muszą być poddane redukcji do jonów Fe<sup>2+</sup>. Za feroreduktazową aktywność dwunastnicy odpowiedzialny jest głównie dwunastniczy cytochrom b (ang. *Duodenal cytochrome b*, Dcytb, znany również pod nazwą Cybrd1) [58]. Gen kodujący Dcytb, podobnie jak gen *Slc11a2* oraz gen *Slc40a1*, kodujący ferroportynę został zidentyfikowany dzięki zastosowaniu techniki subtraktywnego klonowania genów [57]. Dcytb jest białkiem o 6 domenach błonowych, a jego centrum aktywne składa się z dwóch cząsteczek hemu, z których każda koordynowana jest przez dwie reszty histydyny [57, 58]. Aktywność feroreduktazowa Dcytb zależy od kwasu askorbinowego [85]. Średnia wartość potencjału redukcyjnego cząsteczek hemu w cząsteczce Dcytb jest niższa niż askorbinianu, co świadczy o tym, że mogą być zredukowane przez askorbinian, a tym samym związek ten jest prawdopodobnym donorem elektronów dla Dcytb. Myszy z nokautem genu kodującego Dcytb nie posiadają fenotypu [35], co sugeruje, że Dcytb nie jest enzymem niezbędnym w absorpcji żelaza. Nie wyklucza się, że w redukcji jonów Fe<sup>3+</sup> bierze udział inna feroreduktaza – STEAP2 (ang. *Six-Transmembrane Epithelial Antigen of Prostate 2*), którą zlokalizowano w odcinku proksymalnym dwunastnicy [65].

Jedynym znanym dotychczas transporterem żelaza jonowego przez błonę bazolateralną enterocyta jest ferroportyna, znana również pod innymi nazwami: Ireg1 (ang. *Iron-regulated transporter 1*), MTP1 (ang. *Metal Transporter Protein 1*) i SLC40A1 (ang. *Solute Carrier family 40 member 1*). Jest to zresztą jedyne u ssaków znane białko, które transportuje jony żelaza z komórki do środowiska pozakomórko-

wego. Do identyfikacji ferroportyny jako komórkowego eksportera żelaza doprowadziły niezależne badania 3 zespołów badawczych [1, 22, 56]. Sekwencja aminokwasowa ferroportyny wykazuje 90-95% homologię między takimi gatunkami jak człowiek, mysz i szczur. Ferroportyna jest białkiem o 12 domenach transbłonowych, a jej czwartorzędowa struktura jest przedmiotem szeroko zakrojonej dyskusji: nie wyjaśniono dotychczas czy ferroportyna jest monomerem [71, 78], dimerem czy multimerem [2, 60]. Co ciekawe, mimo zawrotnej liczby publikacji dotyczących ferroportyny, które ukazały się od 2000 r. w bazie danych pubmed.gov (ponad 1000), nie wyjaśniono dotychczas mechanizmu przenoszenia jonów  $Fe^{2+}$  przez to białko. Znacznie więcej wiadomo o regulacji ekspresji genu i białka ferroportyny, o czym będzie mowa w następnym rozdziale. W jelicie, najwyższą ekspresję ferroportyny stwierdzono w dwunastnicy, umiarkowaną w okrężnicy, natomiast nie wykryto obecności ferroportyny w jelicie czczym i w jelicie krętym [56]. W enterocytach dwunastnicy znajdujących się w okolicach poniżej wierzchołka kosmka występowanie ferroportyny jest znacznie większe niż w enterocytach położonych w pobliżu krypt [1, 22, 56], co jest zgodne z powszechną opinią o dominującym udziale enterocytów ściany kosmka w absorpcji żelaza. Całkowita delecja genu *Slc40a1* u myszy jest letalna [22], natomiast u myszy ze specyficzną delecją tego genu w komórkach nabłonkach jelitowego rozwija się ostra anemia na tle niedoboru żelaza, która może być skorygowana przez parenteralne podanie tego mikroelementu [22].

W transporcie żelaza przez błonę bazolateralną enterocyty, w parze z ferroportyną, ściśle współdziała hefajstyna, enzym zależny od jonów miedzi, posiadający aktywność ferooksydazową [7]. Jony  $Fe^{2+}$  są transportowane przez ferroportynę a następnie utleniane do jonów  $Fe^{3+}$  przez hefajstynę i w takiej postaci mogą być przyłączone do transferyny. Nazwa „hefajstyna” pochodzi od greckiego boga Hefajstosa i została nadana przez grupę badaczy, którzy odkryli to białko w 1999 roku [90]. Inspiracja mitologią grecką w nazywaniu zależnych od miedzi ferooksydaz zaważyła również na nadaniu miana „cyklopen” kolejnej ferooksydazie, zlokalizowanej tym razem głównie w łożysku [16]. Nazwa ta ma bezpośrednie odniesienie do cyklopów, jednookich olbrzymów, pracujących w kuźni Hefajstosa. Hefajstyna jest homologiem ceruloplazminy, znanej od dawna miedziozależnej ferooksydazy uczestniczącej w metabolizmie żelaza [93]. Wszystkie reszty aminokwasowe zaangażowane w wiązanie jonów miedzi w cząsteczce ceruloplazminy są zachowane w cząsteczce hefajstyny. Hefajstyna jest białkiem zakotwiczonym w błonie bazolateralnej enterocyty poprzez domenę znajdującą się w końcu C białka. U myszy mutacja w genie hefajstyny leżącym na chromosomie X stanowi podłoże tak zwanej anemii związanej z płcią (ang. *sex-linked anemia, sla*) – anemii mikrocytowej i niedobarwliwej, a więc typowej dla niedoboru żelaza. Charakterystyczną cechą myszy *sla* jest nadmierna akumulacja żelaza w enterocytach. Świadczy to o ograniczonym potencjale transferu tego mikroelementu przez błonę bazolateralną do krwi. Korekta anemii u myszy *sla* poprzez parenteralne podanie żelaza przebiega bardzo

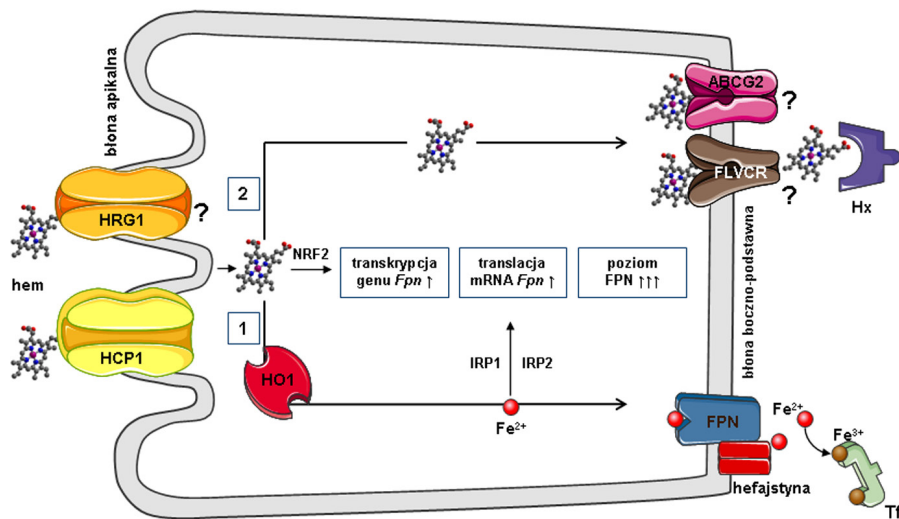
skutecznie. Inną dwunastniczą ferooksydazą, potencjalnie aktywną w utlenianiu jonów  $\text{Fe}^{2+}$  transportowanych przez ferroportynę jest białko prekursorowe amyloidu [23]. Wyniki ostatnich badań kwestionują jednak aktywność ferooksydazową tego białka, natomiast wskazują na jego rolę w stabilizowaniu ferroportyny na błonie podstawno-bocznej enterocytów [94].

Ważną rolę w absorpcji żelaza, szczególnie u noworodków i niemowląt dla których mleko matki jest głównym pokarmem, odgrywa szlak laktoferyna-receptor laktoferyny [6]. Aktualny stan wiedzy na temat wchłaniania jonów żelaza w kompleksie z laktoferyną oraz regulacji tego procesu są szczegółowo opisane w artykule Jolanty Artym w bieżącym numerze *Postępów Biologii Komórki*.

W piśmiennictwie naukowym panuje powszechna opinia o wysokiej przyswajalności żelaza hemowego (znacznie wyższej niż żelaza jonowego) [3]. Skuteczność żelaza hemowego w uzupełnianiu niedoboru tego mikroelementu u ludzi [21, 31, 96] jest szeroko udokumentowana. Na polskim rynku farmaceutycznym istnieją liczne preparaty zawierające żelazo hemowe, przeznaczone do zapobiegania i leczenia anemii na tle niedoboru żelaza u ludzi. Niektóre z nich zyskały rekomendację panelu ekspertów, jako szczególnie efektywne i bezpieczne suplementy żelaza zalecane kobietom w ciąży [21]. Z szerokim już stosowaniem preparatów hemowych w lecznictwie drastycznie kontrastuje niska wiedza na temat molekularnych mechanizmów absorpcji żelaza hemowego oraz ich regulacji. Zagadnienia te, to palący wątek badań nad metabolizmem żelaza. Znajomość molekularnych mechanizmów absorpcji żelaza hemowego i ich regulacji stworzyłaby podstawę do opracowania i doskonalenia procedur zapobiegania i leczenia niedoboru żelaza, który jest problemem zdrowotnym na dużą skalę w całej populacji ludzi [17]. W naszym zespole prowadzimy badania nad wykorzystaniem preparatów żelaza hemowego w korygowaniu anemii na tle niedoboru żelaza występującej u prosiąt. Podejmujemy również próbę identyfikacji szlaków absorpcji żelaza hemowego w dwunastnicy [82]. Założyliśmy, że żelazo hemowe może być absorbowane równolegle dwoma szlakami, które mają wspólny początek na błonie apikalnej enterocytu, a następnie w obrębie tej komórki rozdwarzają się i przebiegają niezależnie. Naszą hipotezę przedstawił na rycinie 1.

Pierwszym zidentyfikowanym transportem hemu, przenoszącym tę cząsteczkę przez błonę apikalną enterocytu u myszy jest białko SLC46A1/HCP1 (ang. *Heme Carrier Protein1*), należące do wspomnianej już rodziny SLC [77]. SLC46A1 zidentyfikowano przy użyciu techniki subtraktywnego klonowania genów, których ekspresja w dwunastnicy była indukowana u anemicznych, charakteryzujących się niedotlenieniem myszy z mutacją genu kodującego transferynę. W komórkach z nadekspresją genu *Slc46a1* hodowanych *in vitro* w pożywkach o niskim stężeniu żelaza obserwowano przemieszczenie białka z cytoplazmy na błonę komórkową i zwiększony transport hemu. Transkrypt genu *Slc46a1* ulega wysokiej ekspresji w komórkach





**RYCINA 1. Hipotetyczne szlaki transportu żelaza hemowego przez enterocyt.** Pierwszy szlak obejmuje transport cząsteczki hemu przez błonę apikalną enterocyty do cytoplazmy (przy udziale białek HCP1 [77] i HRG1 [70]), gdzie następuje enzymatyczny rozkład hemu przez oksygenazę hemową 1 (HO1) [92]. W wyniku reakcji enzymatycznej dochodzi do uwolnienia jonów żelaza do cytoplazmy, skąd następnie są one transportowane przez błonę bazolateralną szlakiem typowym dla żelaza jonowego przy udziale ferroportyny (Fpn) i hefajstyny. Po przemieszczeniu przez błonę bazolateralną enterocyty jony  $\text{Fe}^{3+}$  są wiązane przez transferynę (Tf). Ekspresja ferroportyny jest indukowana zarówno przez hem, jak i przez żelazo jonowe uwolnione w wyniku jego rozpadu. Regulacje przebiegają odpowiednio na poziomie transkrypcji poprzez czynnik Nrf2 [10] oraz potranskrypcyjnie poprzez białka IRP1 i IRP2 [84]. Na wysoki poziom ferroportyny na błonie bazolateralnej enterocyty wpływa lokalna indukcja ekspresji ferroportyny w enterocycie, która prawdopodobnie dominuje nad negatywną potranslacyjną regulacją przez hepcydynę (Hepc) [62]. Drugi szlak absorpcji hemu obejmuje transport nienaruszonej jego cząsteczki przy udziale apikalnych (HCP1 i HRG1) i bazolateralnych (FLVCR1a i ABCG2) transporterów hemu a następnie wiązanie hemu przez hemopeksynę (Hx) [95], białko występujące w osoczu krwi. W tej koncepcji hemopeksyna pełni funkcję dostarczania hemu do komórek organizmu poprzez występującą na ich błonach receptor CD91 [38].

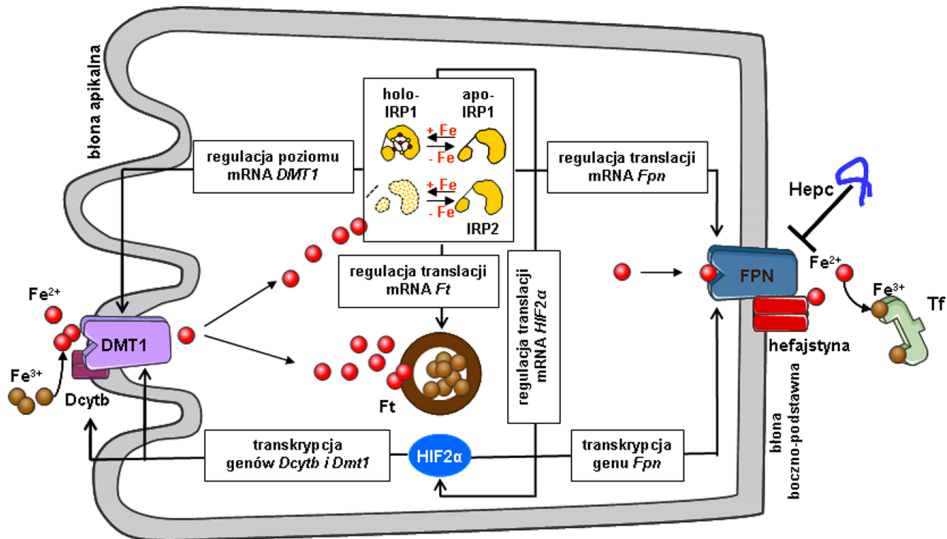
**FIGURE 1. Hypothetical pathways of heme iron transport through enterocyte.** First pathway involves the transport of heme molecule by HCP1 [77] and HRG1 [70] across the apical membrane to the cytoplasm where heme is catabolized by heme oxygenase 1 (HO1) [92]. After enzymatic release of iron ions from heme, they follow a typical pathway of ionic iron transport across the basolateral membrane of enterocyte by ferroportin (Fpn) and hephaestin. After crossing this membrane ferric ions are bound to transferrin. The expression of ferroportin in enterocyte is induced by heme *via* transcription factor Nrf2 as well as posttranscriptionally *via* IRP1 and IRP2 [84]. Thus, high ferroportin protein level on the basolateral membrane is maintained by local induction that probably outcompetes systemic, posttranslational negative regulation by hepcidin (Hepc) [62]. Second pathway of heme absorption involves the transport of an intact heme molecule by apical (HCP1 and HRG1) and basolateral (FLVCR1a and ABCG2) heme transporters. In blood heme is bound to hemopexin (Hx), which plays a role of a vehicle protein supplying heme to other cells and tissues *via* the CD91 membrane receptor [38].

nabłonkowych dwunastnicy, nie wykryto go natomiast w jelicie czczym. Z kolei białko HCP1 zlokalizowano na błonie apikalnej dwunastniczych enterocytów. Poziom jego był szczególnie wysoki u myszy z niedoborem żelaza. Wkrótce po odkryciu HCP1 pojawiły się jednak silne kontrowersje związane z tym, czy rzeczywiście białko to jest transporterem hemu, czy raczej pochodnych kwasu foliowego [5, 68]. Z porównania wartości stałych Michaelisa ( $K_m$ ) w obojętnym pH wynika, że to raczej folian a nie hem jest substratem HCP1 ( $K_m$  dla folianu wynosi 0,8 a dla hemu 125 mM). Istotnym poparciem tej tezy była obserwacja poczyniona wśród członków rodziny z upośledzoną absorpcją folianów, którzy okazali się nosicielami mutacji w genie *SLC46A1*. Dla zapewnienia prawidłowego rozwoju nieletnich pacjentów konieczna była ich suplementacja wysokimi dawkami kwasu foliowego, natomiast nie wykazywali oni symptomów niedoboru żelaza. W tej sytuacji Qiu i wsp. [68] zaproponowali nową nazwę dla białka HCP1 – PCTF (ang. *Proton-Coupled Folate Transporter*).

O ile w przypadku HCP1 nie ustają kontrowersje dotyczące jego funkcji jako transportera apikalnego hemu, o tyle, co do funkcjonalnego transportera hemu przez błonę bazolateralną enterocytów wysuwane są tylko przypuszczenia. Wśród kandydatów wymienia się białka FLVCR1a (ang. *Feline Leukemia Virus subgroup C Receptor-related protein 1a*) [44] i ABCG2 (ang. *ATP-Binding Cassette sub-family G member 2*) [20], których funkcję jako komórkowych eksporterów hemu wykazano w odniesieniu do komórek innych niż enterocyty. Należy podkreślić, że zarówno FLVCR1a jak i ABCG2 zlokalizowano w dwunastnicy [20, 44].

## MOLEKULARNE MECHANIZMY REGULACJI ABSORPCJI ŻELAZA

Regulacja absorpcji żelaza ma dwa główne cele: pobranie odpowiedniej ilości tego mikroelementu niezbędnej do prawidłowego przebiegu erytropoezy oraz ograniczenie wchłaniania nadmiernej ilości żelaza znajdującego się w pożywieniu. W kontroli ilości absorbowanego żelaza biorą udział zarówno czynniki ogólnoustrojowe jak i lokalne – umiejscowione w enterocytach dwunastnicy. Co istotne, regulacja absorpcji żelaza ma charakter wielopoziomowy w odniesieniu do poszczególnych etapów ekspresji genów kodujących białka uczestniczące w procesie wchłaniania. Głównym czynnikiem ogólnoustrojowym jest hepcydyna [63, 64], a do białek regulatorowych w enterocycie należą HIF-2 $\alpha$  [54, 76], ferrytyna [87] oraz IRP1 i IRP2 [28, 29]. Pomędzy tymi czynnikami regulatorowymi dochodzi do licznych interakcji, co sprawia, że regulacja absorpcji żelaza przedstawia się jako wyjątkowo złożony proces [33, 55, 79]. Jej zarys przedstawiono na rycinie 2.



**RYCINA 2. Molekularna regulacja absorpcji żelaza.** W regulacji absorpcji żelaza uczestniczą czynniki lokalne (występujące w enterocycie) – białka IRP i HIF-2 $\alpha$  oraz ogólnoustrojowe – hepcydyna (Hepc) [15]. Białka IRP regulują potranskrypcyjnie ekspresję transporterów żelaza – DMT1 i ferroportyny (Fpn) oraz białka magazynującego jony żelaza – ferrytyny (Ft) [84]. Na aktywność *trans*-regulatorową IRP1 (forma apo-IRP1) i IRP2 (niezdegradowane IRP2) wpływa poziom żelaza w cytoplazmatycznej labilnej puli żelaza enterocytu. Ponadto białka IRP regulują translację mRNA HIF-2 $\alpha$ , który jako czynnik transkrypcyjny indukuje ekspresję genów kodujących transportery żelaza (DMT1 i Fpn) jak również feroreduktazę, dwunastniczy cytochrom b (Cybrd), występującą na błonie apikalnej enterocytu [4]. Pula ferrytyny w enterocycie determinuje poziom jonów żelaza, które podlegają transportowi z enterocytu do krwi przez Fpn [29, 87]. Indukcja degradacji ferroportyny przez hepcydynę jest regulacją, która uaktywnia się w odpowiedzi na ostre przeciążenie organizmu żelazem i słabnie w przypadku pobudzenia erytropoezy.

**FIGURE 2. Molecular regulation of iron absorption.** In the regulation of iron absorption both local – enterocytic (IRPs and HIF-2 $\alpha$ ) and systemic (hepcidin, Hepc) factors are involved [15]. IRPs control posttranscriptionally the expression of iron transporters – DMT1 and ferroportin (Fpn) as well as ferritin (Ft) – iron storage protein. *Trans*-regulatory activity of IRP1 (an apo-IRP1) and IRP2 (its stability) is influenced by iron contained in the cytosolic labile iron pool. IRPs also regulate translation of HIF-2 $\alpha$  mRNA, encoding a transcription factor, which in turn controls the expression of genes coding iron transporters (DMT1 and Fpn) and ferrireduktazę – duodenal cytochrome b (Dcytb) at the apical membrane of enterocytes [4]. Enterocytic ferritin determines the amount of iron susceptible to be transported from the enterocyte to the blood by ferroportin. Induction of ferroportin degradation by hepcidin is activated in response to acute iron overload and is attenuated under conditions of enhanced erythropoiesis.

Identyfikacja przed 15 laty hepcydyny, 25-aminokwasowego peptydu syntetyzowanego głównie przez hepatocyty i uwalnianego do krwi, okazała się milowym krokiem dla zrozumienia, w jaki sposób przekazywany jest sygnał o *status quo* żelaza w organizmie do dwunastnicy, w celu dostosowania ilości żelaza pobieranego z pożywienia. Hepcydyna hamuje absorpcję żelaza, co pierwotnie wykazano na modelach myszy z unieczynnionym genem *Hamp* [63] oraz z jego nadekspresją [64]. Myszy te charakteryzowały się odpowiednio toksyczną akumulacją żelaza w wątrobie i drastycznym niedoborem tego mikroelementu. Wkrótce potem wykryto u ludzi mutacje w genie *HAMP*, prowadzące do obniżenia jego ekspresji, dzięki czemu potwierdzono funkcję hepcydyny jako negatywnego regulatora absorpcji żelaza [72]. Pacjenci ze zmutowanym genem *HAMP* cierpią na zespół tzw. młodzieńczej hemochromatozy (ang. juvenile hemochromatosis) i wykazują zwiększoną absorpcję żelaza oraz patologicznie wysoką jego akumulację w wątrobie i innych narządach już w trakcie drugiej dekady życia [67]. U zdrowych organizmów sygnałem do syntezy hepcydyny jest wzrost poziomu żelaza w hepatocytach, a także zwiększone wysycenie transferyny jonami żelaza. Podwyższony poziom we krwi aktywnej biologicznie hepcydyny-25 prowadzi do zahamowania absorpcji żelaza, czyli do zmniejszenia dopływu tego mikroelementu do organizmu. Jest to więc regulacja, która wpisuje się w schemat sprzężenia zwrotnego. Molekularny mechanizm działania hepcydyny polega na wiązaniu się tego peptydu z ferroporyną na błonie bazolateralnej enterocytów, co prowadzi do przemieszczenia eksportera żelaza do cytoplazmy tych komórek a następnie do jego degradacji [62]. Ekspresja genu *Hamp* regulowana jest również przez czynniki erytropoetyczne (GDF15 i erytroferon) [43, 86] i prozapalne (interleukina-6, interleukina-1 $\beta$ ) [39, 47]. Te pierwsze obniżają ekspresję genu *Hamp*, co ma na celu zwiększenie poboru egzogenego żelaza w odpowiedzi na zwiększone zapotrzebowanie związane z nasiloną produkcją erytrocytów. Z kolei w wyniku działania interleukin zwiększa się ekspresja genu *Hamp*, co generuje stan hypofferemii. W przypadku stanu zapalnego wywołanego przez mikroorganizmy chorobotórcze, obniżenie poziomu żelaza jest elementem odporności nieswoistej organizmu mającym na celu ograniczenie biodostępności tego mikroelementu dla patogenów. Niektóre badania sugerują, że hepcydyna może również ograniczać absorpcję żelaza poprzez zmniejszanie ekspresji genu *Slc11a2* na poziomie transkrypcji [59] oraz poprzez indukcję zależnej od ubikwityny degradacji DMT1 w proteasomach [13].

Poszukiwania mechanizmów kontrolujących absorpcję żelaza sięgają 40-tych lat ubiegłego wieku. Powstała wówczas teoria “bloku śluzówkowego” (ang. *mucosal block*) [37], w/g której w enterocytach istnieje czynnik, którym okazała się ferrytyna [32], ograniczający wchłanianie żelaza z diety. Teoria ta została poddana krytyce, ale w ostatnich 2 latach dzięki użyciu w badaniach nad absorpcją żelaza myszy transgenicznych mamy do czynienia z fenomenem: *mucosal block redivivus* [29, 87].

Ferrytyna jest białkiem, którego cząsteczka przypomina wydrążoną kulę, wewnątrz której deponowane jest żelazo w formie polimeru uwodnionego tlenku żelazowego, stanowiącego mineralny rdzeń ferrytyny [25]. Białkowa kapsuła ferrytyny jest heteropolimerem składającym się z 24 podjednostek dwóch typów H i L, zróżnicowanych funkcjonalnie i kodowanych przez dwa geny. Podjednostka H posiada aktywność ferroksoydazową i bierze udział w utlenianiu jonów  $Fe^{2+}$  do  $Fe^{3+}$ , co stanowi kluczowy etap wiązania żelaza przez cząsteczkę ferrytyny. Żelazo związane w cząsteczce ferryty jest niedostępne biologicznie aż do czasu jej degradacji. Wykazano, że w komórkach ze zwiększoną ekspresją podjednostki H lub w komórkach, w których zahamowano aktywność lizosomów (miejsce degradacji ferrytyny) [45], poziom żelaza w tzw. labilnej puli żelaza (ang. *Labile Iron Pool*, LIP) jest niski [66]. Tym samym wiążąc żelazo w enterocytach ferrytyna ogranicza pulę żelaza zawartego w LIP, które może być transportowane przez ferroportynę. Z drugiej strony zahamowanie syntezy ferrytyny w komórce prowadzi do wzrostu poziomu żelaza w LIP [42]. Ferrytyna jest również czynnikiem ograniczającym ilość żelaza transportowanego z enterocyty przez błonę bazolateralną do krwi [87]. Pod nieobecność ferrytyny w enterocytach poziom żelaza w LIP jest wysoki i prawdopodobnie jest on czynnikiem zwiększającym syntezę ferroportyny poprzez system IRP/IRE [10, 87]. Analiza metabolizmu żelaza u myszy z wybiórczym nokautem genu kodującego podjednostkę H w komórkach nabłonka jelitowego wykazała podwyższone wysycenie transferyny jonami żelaza, podniesiony poziom rezerw żelaza w wątrobie i w konsekwencji podwyższony poziom mRNA hepcydyny w wątrobie [87]. Obserwowano również zmniejszoną ekspresję DMT1 i Dcytb na błonie apikalnej enterocytów. Mimo tych zmian ekspresja ferroportyny na błonie bazolateralnej enterocytów była zwiększona, co wiązało się z 2-krotnie większym transportem żelaza. Wyniki te sugerują, że poziom ferroportyny na enterocytach nie znajduje się pod dominującą kontrolą hepcydyny.

Funkcja regulatorowa potranskrypcyjnego systemu IRP/IRE w metabolizmie żelaza jest przedmiotem licznych opracowań, w tym sygnowanych przez nas artykułów przeglądowych, które ukazały się w polskich czasopismach [50, 83, 84]. Nie mniej jednak, poniżej, w krótkim zarysie, przypominamy funkcjonowanie tego systemu, gdyż jak się okazuje, jest to system regulatorowy autonomicznie działający w enterocytach absorpcyjnych [28, 29].

Transport żelaza do i poza komórkę, jego magazynowanie i zużycie w komórce regulowane są w sposób skoordynowany poprzez interakcje dwóch białek – *Iron Regulatory Proteins* (IRP1 oraz IRP2) z sekwencjami RNA – *Iron Responsive Elements* (IRE). Sekwencje IRE znajdują się w niepodlegających translacji regionach mRNA (ang. *Untranslated Regions*, UTR), kodujących np. białka transportujące żelazo – receptor transferyny 1 (TfR1), ferroportynę oraz ferrytynę. Wiązanie się IRPs do sekwencji IRE w regionie 3'UTR mRNA kodującego TfR1 (impor-

ter żelaza) stabilizuje mRNA [14], natomiast wiązanie się IRPs do sekwencji IRE w regionie 5'UTR mRNA kodujących podjednostki ferrytyny i ferroportyny blokuje inicjację translacji [61]. IRP1 jest dwufunkcyjnym białkiem [73, 91], którego dwie aktywności – enzymatyczna i *trans*-regulatorowa wzajemnie się wykluczają i są regulowane przez jony żelaza zawarte w LIP [66]. Gdy poziom jonów żelaza jest wysoki, IRP1 występuje w formie holo-IRP1, zawierającej centrum żelazowo-siarkowe [4Fe-4S] i posiadającej aktywność akonitazową. Przy niedoborze żelaza w komórce przeważa forma apo-IRP1, pozbawiona centrum [4Fe-4S], która łącząc się z IRE reguluje poziom TfR1, ferrytyny i ferroportyny. IRP2, w przeciwieństwie do IRP1, nie posiada centrum żelazowo-siarkowego, a jego aktywność regulowana jest na poziomie stabilności białka. Przy wysokim stężeniu jonów żelaza lub/i wysokim stężeniu tlenu, IRP2 oddziałuje z kompleksem białek FBXL5, SKP1, cullin1 (CUL1) i RBX1, tworzących ligazę ubikwityny E3 [74, 88] i jest degradowane. Przy niedoborze żelaza IRP2 ulega stabilizacji i wraz z IRP1 bierze udział w regulacji homeostazy żelaza.

U myszy z podwójnym selektywnym nokautem genów *Irp1* i *Irp2* w komórkach nabłonka jelitowego stwierdzono biegunkę, odwodnienie i obniżone przyrosty masy ciała. Śmiertelność myszy w wieku 4 tygodni wynosiła około 80%. Obserwowano również deformację kosmków jelitowych oraz ich wakuolizację [28]. W odniesieniu do docelowych białek (kodowanych przez transkrypty zawierające sekwencje IRE) uczestniczących w absorpcji żelaza przez enterocyty u 2-tygodniowych osesków myszy obserwowano regulacje zgodne z kanonem funkcjonowania systemu IRP/IRE: brak białek IRP1 i IRP2 (który imituje występowanie IRP1 w formie holo- oraz brak IRP2 wskutek jego degradacji) powodował obniżenie ekspresji DMT1 na poziomie mRNA i białka oraz wzrost ekspresji podjednostek ferrytyny i ferroportyny na poziomie białka [28]. Jednocześnie u myszy tych stwierdzono podwyższoną ekspresję mRNA hepcydyny w wątrobie. Zagadnienie roli systemu IRP/IRE w regulacji genów biorących udział w absorpcji żelaza w enterocycie podjęte zostało następnie u dorosłych myszy, u których ominięto pourodzeniowy efekt letalny związany z równoległym unieczynnieniem genów *Irp1* i *Irp2* w komórkach nabłonkowych dwunastnicy [29]. Myszy te uzyskano dzięki skrzyżowaniu myszy homozygotycznych *Irp1<sup>flox/flox</sup>/Irp2<sup>flox/flox</sup>* z transgenicznymi myszami eksprymującymi indukowalną przez tamoksifen rekombinazę Cre pod kontrolą promotora genu williny [24], białka specyficznego wiążącego aktywną w komórkach nabłonka jelitowego. Efekt usunięcia genów *Irp1* i *Irp2* przez rekombinazę Cre obserwowano od 3 dnia do 5 tygodnia po iniekcji myszom tamoksifenu [29]. Główne wnioski z analizy molekularnego aparatu absorpcji żelaza u dorosłych myszy pozbawionych białek IRP w nabłonku absorpcyjnym dotyczą następujących zagadnień: krzyżowania się regulacji ekspresji ferroportyny przez system IRP/IRE i oś regulatorową hepcydyna-ferroportyna, interakcji systemu IRP/IRE i czynnika Hif-2 $\alpha$  w regulacji ekspresji DMT1 oraz roli systemu IRP/IRE w ustanowieniu w enterocytach wspomnianego już bloku śluzówkowego, w czym bierze udział ferrytyna.

Dominującym (80%) transkryptem ferroportyny występującym w enterocytach dwunastnicy zarówno w warunkach bazowych jaki i w warunkach niedoboru żelaza jest transkrypt zawierający sekwencje IRE w końcu 5'UTR [29, 97]. Sugeruje to, że w regulacji ekspresji ferroportyny istotną rolę odgrywają IRP1 i IRP2. U dorosłych myszy [29] pozbawionych tych białek w nabłonku absorpcyjnym (podobnie jak u osesków [28]), obserwowano wzrost ekspresji ferroportyny na błonie bazolateralnej enterocytów. Równolegle stwierdzono wzrost ekspresji hepcydyny na poziomie mRNA w wątrobie. Wyniki te świadczą o tym, że w przypadku braku wewnątrzkomórkowej kontroli potranskrypcyjnej przez system IRP/IRE, funkcjonowanie osi regulatorowej hepcydyna-ferroportyna jest ograniczone.

U dorosłych myszy pozbawionych białek IRP w enterocytach, opisano inny wzorzec regulacji ekspresji białka DMT1 w porównaniu do osesków. W przeciwieństwie do destabilizacji transkryptu DMT1 i obniżenia poziomu białka DMT1 u osesków, u dorosłych myszy obserwowano stabilizację mRNA DMT1 oraz wzrost ekspresji DMT1 na poziomie białka na błonie apikalnej enterocytów. Według Autorów przyczyną tej rozbieżności jest zanik wraz z rozwojem osobniczym myszy formy mRNA DMT1 zawierającej sekwencję IRE w końcu 3'UTR, przez co regulacja ekspresji mRNA DMT1 wymyka się spod kontroli białek IRP1 i IRP2. Pozostaje pytanie, co jest przyczyną wzrostu DMT1 pod nieobecność białek IRP u dorosłych myszy, u których głównym transkryptem DMT1 jest mRNA pozbawione sekwencji IRE w końcu 3'UTR? Należy w tym miejscu podkreślić, że niezwykle istotnym dopełnieniem listy transkryptów zawierających funkcjonalne sekwencje IRE w końcu 5'UTR jest mRNA kodujący czynnik transkrypcyjny HIF-2 $\alpha$  [4, 30, 75], aktywny w regulacji ekspresji genów biorących udział w absorpcji żelaza w tym DMT1 [53, 76]. Pod nieobecność białek IRP indukowana jest translacja czynnika HIF-2 $\alpha$ , który z kolei indukuje transkrypcję genu *Slc11a2* [29]. Tak więc, wydaje się, że białka IRP regulują apikalny transport żelaza *via* DMT1 pośrednio przez czynnik HIF-2 $\alpha$ .

HIF-2 $\alpha$  jest jednym z 3 czynników transkrypcyjnych, które są mediatorami adaptacji do hipoksji [41]. Częsteczką HIF-2 $\alpha$  jest heterodimerem, w której regulatorowa podjednostka  $\alpha$  jest elementem odpowiadającym na zmienne stężenie tlenu i jonów żelaza. W warunkach niskiego stężenia tlenu i/lub niskiego poziomu jonów żelaza HIF-2 $\alpha$  ulega stabilizacji i przemieszcza się do jądra komórkowego, gdzie funkcjonuje jako czynnik transkrypcyjny. Przewód pokarmowy charakteryzuje się zmiennymi warunkami tlenowymi. Nabłonek jelitowy pozostaje w atmosferze o obniżonym stężeniu tlenu, natomiast warstwy podnabłonkowe są silnie unaczynione i szczególnie w trakcie pobierania pokarmu (co wiąże się ze zwiększeniem przepływu krwi i większym natlenieniem) są ekspozowane na wyższe stężenia tlenu. Mniejszy przepływ krwi w sieci naczyń wypełniających kosmki jelitowe ma miejsce w okresie przerwy w pobieraniu pokarmu i wówczas w enterocytach powstają warunki zbliżone do hipoksji, dzięki czemu HIF-2 $\alpha$  jest stabilizowany i działa jako czynnik transkrypcyjny [55].

Praca Galy i wsp. [29] wykazuje, że myszy pozbawione białek IRP w nabłonku jelitowym mimo wysokiej ekspresji apikalnego i bazolateralnego transporterów żelaza absorbują małe ilości tego mikroelementu. Wytłumaczeniem tego fenomenu jest wzrost poziomu ferrytyny, która wiąże żelazo transportowane do enterocyty przez DMT 1, a tym samym ogranicza pulę żelaza, które może być transportowane przez błonę bazolateralną przy udziale ferroportyny.

Główna konkluzja płynąca z badań prowadzonych na myszach z wybiórczym nokautem genów *Irf1* i *Irf2* w nabłonku jelita u myszy jest następująca: białka IRP ograniczają transport żelaza przez apikalną i bazolateralną błonę enterocytów a także determinują w enterocycie wielkość puli żelaza, które potencjalnie może podlegać transferowi przez ferroportynę. Jest to tożsame z ustanowieniem blokady absorpcyjnej określanej pierwotnie jako blok służówkowy. Na *status quo* żelaza w enterocytach ustalony autonomicznie pod wpływem potranskrypcyjnej aktywności białek IRP nakłada się regulacja ogólnoustrojowa przez hepcydynę, która jest uruchamiana w odpowiedzi na pobudzenie erytropoezy lub ostre przeciążenie żelazem.

## PYTANIA KOŃCOWE

Molekularne mechanizmy absorpcji żelaza i ich regulacja są przedmiotem intensywnych badań. Chociaż w ostatnich latach w wyjaśnieniu tego elementu homeostazy żelaza poczyniono niezwykle postęp, wiele jego szczegółów pozostaje ciągle nieznanymi. W naszym przekonaniu odpowiedzi wymagają następujące pytania:

1. Czy istnieją, a jeśli tak, to jakie, funkcjonalne transportery hemu występujące na błonie apikalnej i bazolateralnej enterocytów absorpcyjnych?
2. Jakie są molekularne podstawy lepszej przyswajalności żelaza hemowego?
3. Czy, a jeśli tak, to w jaki sposób kontrolowany jest szlak absorpcji żelaza hemowego?
4. Czy istnieje mechanizm synchronizujący wchłanianie żelaza hemowego i żelaza jonowego?
5. Jakie molekularne interakcje występują między absorpcją żelaza a absorpcją innych biometali, szczególnie miedzi?

## PODZIĘKOWANIA

Artykuł jest finansowany z grantów NCN: SONATA Bis 2012/05//E/NZ5/02126 oraz 2011/01/B/NZ23/00632



## LITERATURA

- [1] ABBoud S, HAILE DJ. A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism. *J Biol Chem* 2000; **275**: 19906-12.
- [2] AGUIRRE P, MENA N, TAPIA V, ARREDONDO M, NÚÑEZ MT. Iron homeostasis in neuronal cells: a role for IREG1. *BMC Neurosci* 2005; **6**: 3.
- [3] ANDERSON GJ, FRAZER DM, MCKIE AT, VULPE CD, SMITH A. Mechanisms of haem and non-haem iron absorption: lessons from inherited disorders of iron metabolism. *Biometals* 2005; **18**: 339-48.
- [4] ANDERSON SA, NIZZI CP, CHANG YI, DECK KM, SCHMIDT PJ, GALY B, DAMNERSAWAD A, BROMAN AT, KENDZIORSKI C, HENTZE MW, FLEMING MD, ZHANG J, EISENSTEIN RS. The IRP1-HIF-2 $\alpha$  axis coordinates iron and oxygen sensing with erythropoiesis and iron absorption. *Cell Metab* 2013; **17**: 282-90.
- [5] ANDREWS NC. When is a heme transporter not a heme transporter? When it's a folate transporter. *Cell Metab* 2007; **5**: 5-6.
- [6] ARTYM J. Laktoferyna – niezwykle białko. Wydawnictwo Borgis, Warszawa, 2012.
- [7] ATTIEH ZK, ALAEDDINE RM, SU T, ANDERSON GJ, VULPE C. Identification of a ferroxidase activity for hephaestin. *J Clin Gastroenterol* 2002; **34**: 370.
- [8] BALEARIA S, HANIF R, SALAMA MF, RAJA K, BAYELE HK, MCARDLE H, SRAI SK. Fetal iron levels are regulated by maternal and fetal Hfe genotype and dietary iron. *Haematologica* 2012; **97**: 661-669.
- [9] BARTOSZ G. Druga twardzielnia. Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, 2003.
- [10] BEAUMONT C. Multiple regulatory mechanisms act in concert to control ferroportin expression and heme iron recycling by macrophages. *Haematologica* 2010; **95**: 1233-6.
- [11] BEAUMONT C, GIROT R. Métabolisme du fer: physiologie et pathologie. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale* 2000; **13-000-P-20**: 1-15.
- [12] BLACHIER F, VAUGELADE P, ROBERT V, KIBANGOU B, CANONNE-HERGAUX F, DELPAL S, BUREAU F, BLOTIERE H, BOUGLE D. Comparative capacities of the pig colon and duodenum for luminal iron absorption. *Can J Physiol Pharmacol* 2007; **85**: 185-192.
- [13] BRASSE-LAGNEL C, KARIM Z, LETTERON P, BEKRI S, BADO A, BEAUMONT C. Intestinal DMT1 cotransporter is down-regulated by hepcidin via proteasome internalization and degradation. *Gastroenterology* 2011; **140**: 1261-1271.
- [14] CASEY JL, KOELLER DM, RAMIN VC, KLAUSNER RD, HARFORD JB. Iron regulation of transferrin receptor mRNA levels requires iron-responsive elements and a rapid turnover determinant in the 3' untranslated region of the mRNA. *EMBO J* 1989; **8**: 3693-9.
- [15] CHASTON T, CHUNG B, MASCARENHAS M, MARKS J, PATEL B, SRAI SK, SHARP P. Evidence for differential effects of hepcidin in macrophages and intestinal epithelial cells. *Gut* 2008; **57**: 374-82.
- [16] CHEN H, ATTIEH ZK, SYED BA, KUO YM, STEVENS V, FUQUA BK, ANDERSEN HS, NAYLOR CE, EVANS RW, GAMBLING L, DANZEISEN R, BACOURI-HAIDAR M, USTA J, VULPE CD, MCARDLE HJ. Identification of zyklopen, a new member of the vertebrate multicopper ferroxidase family, and characterization in rodents and human cells. *J Nutr* 2010; **140**: 1728-1735.
- [17] CLARK SF. Iron deficiency anemia: diagnosis and management. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; **25**: 122-128.
- [18] COHEN A, NEVO Y, NELSON N. The first external loop of the metal ion transporter DCT1 is involved in metal ion binding and specificity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; **100**: 10694-9.
- [19] COLLARD KJ. Iron homeostasis in the neonate. *Pediatrics*. 2009; **123**: 1208-16.
- [20] DESUZINGES-MANDON E, ARNAUD O, MARTINEZ L, HUCHÉ F, DI PIETRO A, FALSON P. ABCG2 transports and transfers heme to albumin through its large extracellular loop. *J Biol Chem* 2010; **285**: 33123-33133.

- [21] DĘBSKI R, HUS I, KOTARSKI J, OSZUKOWSKI P, PASZKOWSKI T, SPACZYŃSKI M, TOMASZEWSKI J. Stanowisko Zespołu Ekspertów Polskiego Towarzystwa Ginekologicznego w sprawie profilaktyki niedoboru żelaza oraz niedokrwiistości z niedoboru żelaza niską dawką żelaza hemowego u kobiet– stan wiedzy na 2013 rok. *Ginekol Pol* 2014; **85**: 74-78.
- [22] DONOVAN A, BROWNLIE A, ZHOU Y, SHEPARD J, PRATT SJ, MOYNIHAN J, PAW BH, DREJER A, BARUT B, ZAPATA A, LAW TC, BRUGNARA C, LUX SE, PINKUS GS, PINKUS JL, KINGSLEY PD, PALIS J, FLEMING MD, ANDREWS NC, ZON LI. Positional cloning of zebrafish ferroportin1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature* 2000; **403**: 776-81.
- [23] DUCE JA, TSATSANIS A, CATER MA, JAMES SA, ROBB E, WIKHE K, LEONG SL, PEREZ K, JOHANSEN T, GREENOUGH MA, CHO HH, GALATIS D, MOIR RD, MASTERS CL, MCLEAN C, TANZI RE, CAPPAI R, BARNHAM KJ, CICCOTOSTO GD, ROGERS JT, BUSH AI. Iron-export ferroxidase activity of  $\beta$ -amyloid precursor protein is inhibited by zinc in Alzheimer's disease. *Cell* 2010; **142**: 857-67.
- [24] EL MARJOU F, JANSSEN KP, CHANG BH, LI M, HINDIE V, CHAN L, LOUWARD D, CHAMBON P, METZGER D, ROBINE S. Tissue-specific and inducible Cre-mediated recombination in the gut epithelium. *Genesis* 2004; **39**: 186-193.
- [25] FINAZZI D, AROSIO P. Biology of ferritin in mammals: an update on iron storage, oxidative damage and neurodegeneration. *Arch Toxicol* 2014; **88**: 1787-802.
- [26] FLEMING MD, TRENOR CC 3RD, SU MA, FOERNZLER D, BEIER DR, DIETRICH WF, ANDREWS NC. Microcytic anaemia mice have a mutation in Nramp2, a candidate iron transporter gene. *Nat Genet* 1997; **16**: 383-6.
- [27] FLEMING MD, ROMANO MA, SU MA, GARRICK LM, GARRICK MD, ANDREWS NC. Nramp2 is mutated in the anemic Belgrade (b) rat: evidence of a role for Nramp2 in endosomal iron transport. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; **95**: 1148-53.
- [28] GALY B, FERRING-APPEL D, KADEN S, GRÖNE HJ, HENTZE MW. Iron regulatory proteins are essential for intestinal function and control key iron absorption molecules in the duodenum. *Cell Metab* 2008; **7**: 79-85.
- [29] GALY B, FERRING-APPEL D, BECKER C, GRETZ N, GRÖNE HJ, SCHÜMANN K, HENTZE MW. Iron regulatory proteins control a mucosal block to intestinal iron absorption. *Cell Rep* 2013; **3**: 844-57.
- [30] GHOSH MC, ZHANG DL, JEONG SY, KOVTUNOVYCH G, OLLIVIERRE-WILSON H, NOGUCHI A, TU T, SENECAI T, ROBINSON G, CROOKS DR, TONG WH, RAMASWAMY K, SINGH A, GRAHAM BB, TUDER RM, YU ZX, ECKHAUS M, LEE J, SPRINGER DA, ROUAULT TA. Deletion of iron regulatory protein 1 causes polycythemia and pulmonary hypertension in mice through translational derepression of HIF2 $\alpha$ . *Cell Metab* 2013; **17**: 271-81.
- [31] GONZALEZ-ROSENDO G, POLO J, RODRIGUEZ-JEREZ JJ, PUGA-DIAZ R, REYES-NAVARRETE EG, QUINTERO-GUTIERREZ AG. Bioavailability of a heme-iron concentrate product added to chocolate biscuit filling in adolescent girls living in a rural area of Mexico. *J Food Sci* 2010; **75**: H73-H78.
- [32] GRANICK S. Ferritin; increase of the protein apoferritin in the gastrointestinal mucosa as a direct response to iron feeding; the function of ferritin in the regulation of iron absorption. *J Biol Chem* 1946; **164**: 737-746.
- [33] GULEC S, ANDERSON GJ, COLLINS JF. Mechanistic and regulatory aspects of intestinal iron absorption. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2014; **307**: G397-G409.
- [34] GUNSHIN H, MACKENZIE B, BERGER UV, GUNSHIN Y, ROMERO MF, BORON WF, NUSSBERGER S, GOLLAN JL, HEDIGER MA. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature* 1997; **388**: 482-8.
- [35] GUNSHIN H, FUJIWARA Y, CUSTODIO AO, DIRENZO C, ROBINE S, ANDREWS NC. Slc11a2 is required for intestinal iron absorption and erythropoiesis but dispensable in placenta and liver. *J Clin Invest* 2005; **115**: 1258-66.
- [36] GUNSHIN H, STARR CN, DIRENZO C, FLEMING MD, JIN J, GREER EL, SELLERS VM, GALICA SM, ANDREWS NC. Cybrd1 (duodenal cytochrome b) is not necessary for dietary iron absorption in mice. *Blood* 2005; **106**: 2879-83.

- [37] HAHN PF, BALE WF, ROSS JF, BALFOUR WM, WHIPPLE GH. (1943). Radioactive iron absorption by gastro-intestinal tract: influence of anemia, anoxia, and antecedent feeding distribution in growing dogs. *J Exp Med* 1943; **78**: 169-188.
- [38] HVIDBERG V, MANIECKI MB, JACOBSEN C, HØJRUP P, MØLLER HJ, MOESTRUP SK. Identification of the receptor scavenging hemopexin-heme complexes. *Blood* 2005; **106**: 2572-9.
- [39] INAMURA J, IKUTA K, JIMBO J, SHINDO M, SATO K, TORIMOTO Y, KOHGO Y. Upregulation of hepcidin by interleukin-1beta in human hepatoma cell lines. *Hepatol Res* 2005; **33**:198-205.
- [40] IOLASCON A, DE FALCO L. Mutations in the gene encoding DMT1: clinical presentation and treatment. *Semin Hematol* 2009; **46**: 358-70.
- [41] KAEHLIN WG JR, RATCLIFFE PJ. Oxygen sensing by metazoans: the central role of the HIF hydroxylase pathway. *Mol Cell* 2008; **30**: 393-402.
- [42] KAKHLON O, GRUENBAUM Y, CABANTCHIK ZI. Repression of ferritin expression increases the labile iron pool, oxidative stress, and short term growth of human erythroleukemia cells. *Blood* 2001; **97**: 2863-2871.
- [43] KAUTZ L, JUNG G, VALORE EV, RIVELLA S, NEMETH E, GANZ T. Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nat Genet.* 2014; **46**: 678-84.
- [44] KHAN AA, QUIGLEY JG. Heme and FLVCR-related transporter families SLC48 and SLC49. *Mol Aspects Med* 2013; **34**: 669-682.
- [45] KONJIN AM, GLICKSTEIN H, VAISMAN B, MEYRON-HOLTZ EG, SLOTKI IN, CABANTCHIK ZI. The cellular labile iron pool and intracellular ferritin in K562 cells. *Blood* 1999; **94**: 2128-2134.
- [46] LAMBERT J-F, BERIS P. Pathophysiology and different diagnosis of anemia. W: Disorders of iron homeostasis, erythrocytes, erythropoiesis. Eds. C. Beaumont, P. Beris, Y. Beuzard . C. Brugnara. European School of Haematology, Paris. 2006; 73-101.
- [47] LEE P, PENG H, GELBART T, WANG L, BEUTLER E. Regulation of hepcidin transcription by interleukin-1 and interleukin-6. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; **102**: 1906-10.
- [48] LEONG WI, BOWLUS CL, TALLKVIST J, LÖNNERDAL B. DMT1 and FPN1 expression during infancy: developmental regulation of iron absorption. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; **285**: G1153-61
- [49] LEONG WI, BOWLUS CL, TALLKVIST J, LONNERDAL B. Iron supplementation during infancy – effects on expression of iron transporters, iron absorption, and iron utilization in rat pups. *Am J Clin Nutr* 2003;**78**: 1203-1211
- [50] LIPIŃSKI P, STARZYŃSKI RR. The role of iron regulatory proteins (IRPs) in the regulation of systemic iron homeostasis: lessons from studies on IRP1 and IRP2 knock out mice. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2006; **60**: 322-30.
- [51] LIPIŃSKI P, STARZYŃSKI RR, CANONNE-HERGAUX F, TUDEK B, OLIŃSKI R, KOWALCZYK P, DZIAMAN T, THIBAudeau O, GRALAK MA, SMUDA E, WOLIŃSKI J, USIŃSKA A, ZABIELSKI R. Benefits and risks of iron supplementation in anemic neonatal pigs. *Am J Pathol* 2010; **177**: 1233-43.
- [52] LIPIŃSKI P, STYS A, STARZYŃSKI RR. Molecular insights into the regulation of iron metabolism during the prenatal and early postnatal periods. *Cell Mol Life Sci* 2013; **70**: 23-38.
- [53] MASTROGIANNAKI M, MATAK P, KEITH B, SIMON MC, VAULONT S, PEYSSONNAUX C. HIF-2alpha, but not HIF-1alpha, promotes iron absorption in mice. *J Clin Invest* 2009; **119**: 1159-1166
- [54] MASTROGIANNAKI M, MATAK P, DELGA S, DESCHEMIN JC, VAULONT S, PEYSSONNAUX C. Deletion of HIF-2a in the enterocytes decreases the severity of tissue iron loading in hepcidin knockout mice. *Blood* 2012; **119**: 587-590.
- [55] MASTROGIANNAKI M, MATAK P, PEYSSONNAUX C. The gut in iron homeostasis: role of HIF-2 under normal and pathological conditions. *Blood* 2013; **122**: 885-92.
- [56] MCKIE AT, MARCIANI P, ROLFS A, BRENNAN K, WEHR K, BARROW D, MIRET S, BOMFORD A, PETERS TJ, FARZANEH F, HEDIGER MA, HENTZE MW, SIMPSON RJ. A novel duodenal iron-regulated transporter, IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation. *Mol Cell* 2000; **5**: 299-309.
- [57] MCKIE AT, BARROW D, LATUNDE-DADA GO, ROLFS A, SAGER G, MUDALY E, MUDALY M, RICHARDSON C, BARLOW D, BOMFORD A, PETERS TJ, RAJA KB, SHIRALI S, HEDIGER MA, FARZANEH F, SIMPSON RJ. An

- iron regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron. *Science* 2001; **291**: 1755-1759.
- [58] MCKIE AT. The role of Dcytb in iron metabolism: an update. *Biochem Soc Trans* 2008; **36**: 1239-41.
- [59] MENA NP, ESPARZA A, TAPIA V, VALDES P, NUNEZ MT. Heparin inhibits apical iron uptake in intestinal cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; **294**: G192-G198.
- [60] MCGREGOR JA, SHAYEGHI M, VULPE CD, ANDERSON GJ, PIETRANGELO A, SIMPSON RJ, MCKIE AT. Impaired iron transport activity of ferroportin 1 in hereditary iron overload. *J Membr Biol* 2005; **206**: 3-7.
- [61] MUCKENTHALER M, GRAY NK, HENTZE MW. IRP-1 binding to ferritin mRNA prevents the recruitment of the small ribosomal subunit by the cap-binding complex eIF4F. *Mol Cell* 1998; **2**: 383-8.
- [62] NEMETH E, TUTTLE MS, POWELSON J, VAUGHN MB, DONOVAN A, WARD DM, GANZ T, KAPLAN J. Heparin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004; **306**: 2090-2093.
- [63] NICOLAS G, BENNOUN M, DEVAUX I, BEAUMONT C, GRANDCHAMP B, KAHN A, VAULONT S. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; **98**: 8780-5.
- [64] NICOLAS G, BENNOUN M, PORTEU A, MATIVET S, BEAUMONT C, GRANDCHAMP B, SIRITO M, SAWADOGO M, KAHN A, VAULONT S. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; **99**: 4596-601.
- [65] OHGAMI RS, CAMPAGNA DR, GREER EL, ANTIOCHOS B, MCDONALD A, CHEN J, SHARP JJ, FUJIWARA Y, BARKER JE, FLEMING MD. Identification of a ferrireductase required for efficient transferrin-dependent iron uptake in erythroid cells. *Nat Genet* 2005; **37**: 1264-9.
- [66] PICARD V, EPSZTEIN S, SANTAMBROGIO P, CABANTCHIK ZI, BEAUMONT C. Role of ferritin in the control of the labile iron pool in Marine erythroleukemia cells. *J Biol Chem* 1998; **273**: 5382-5386
- [67] PIETRANGELO A. Hereditary hemochromatosis: pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Gastroenterology* 2010; **139**: 393-408.
- [68] QIU A, JANSEN M, SAKARIS A, MIN SH, CHATTOPADHYAY S, TSAI E, SANDOVAL C, ZHAO R, AKABAS MH, GOLDMAN ID. Identification of an intestinal folate transporter and the molecular basis for hereditary folate malabsorption. *Cell* 2006; **127**: 917-28.
- [69] QUINTERO-GUTIERREZ AG, GONZALEZ-ROSENDO G, SANCHEZ-MUNOZ J, POLO-POZO J, RODRIGUEZ-JEREZ JJ. Bioavailability of heme iron in biscuit filling using piglets as an animal model for humans. *Int J Biol Sci* 2008; **4**: 58-62.
- [70] RAJAGOPAL A, RAO AU, AMIGO J, TIAN M, UPADHYAY SK, HALL C, UHM S, MATHEW MK, FLEMING MD, PAW BH, KRAUSE M, HAMZA I. Haem homeostasis is regulated by the conserved and concerted functions of HRG-1 proteins. *Nature* 2008; **453**: 1127-1131.
- [71] RICE AE, MENDEZ MJ, HOKANSON CA, REES DC, BJÖRKMAN PJ. Investigation of the biophysical and cell biological properties of ferroportin, a multipass integral membrane protein iron exporter. *J Mol Biol* 2009; **386**: 717-32.
- [72] ROETTO A, PAPANIKOLAOU G, POLITOU M, ALBERTI F, GIRELLI D, CHRISTAKIS J, LOUKOPOULOS D, CAMASCHIELLA C. Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 2003; **33**: 21-2.
- [73] ROUAULT TA, HENTZE MW, CAUGHMAN SW, HARFORD JB, KLAUSNER RD. Binding of a cytosolic protein to the iron-responsive element of human ferritin messenger RNA. *Science* 1988; **241**: 1207-10.
- [74] SALAHUDEEN AA, THOMPSON JW, RUIZ JC, MA HW, KINCH LN, LI Q, GRISHIN NV, BRUICK RK. An E3 ligase possessing an iron-responsive hemerythrin domain is a regulator of iron homeostasis. *Science* 2009; **326**: 722-726.
- [75] SANCHEZ M, GALY B, MUCKENTHALER MU, HENTZE MW. Iron-regulatory proteins limit hypoxia-inducible factor-2alpha expression in iron deficiency. *Nat Struct Mol Biol* 2007; **14**: 420-426.
- [76] SHAH YM, MATSUBARA T, ITO S, YIM SH, GONZALEZ FJ. Intestinal hypoxia-inducible transcription factors are essential for iron absorption following iron deficiency. *Cell Metab* 2009; **9**: 152-164.
- [77] SHAYEGHI M, LATUNDE-DADA GO, OAKHILL JS, LAFTAH AH, TAKEUCHI K, HALLIDAY N, KHAN Y, WARLEY A, MCCANN FE, HIDER RC, FRAZER DM, ANDERSON GJ, VULPE CD, SIMPSON RJ, MCKIE AT. Identification of an intestinal heme transporter. *Cell* 2005; **122**: 789-801.

- [78] SCHIMANSKI LM, DRAKESMITH H, TALBOTT C, HORNE K, JAMES JR, DAVIS SJ, SWEETLAND E, BASTIN J, COWLEY D, TOWNSEND AR. Ferroportin: lack of evidence for multimers. *Blood Cells Mol Dis* 2008; **40**: 360-9.
- [79] SIMPSON RJ, MCKIE AT. Regulation of intestinal iron absorption: the mucosa takes control? *Cell Metab* 2009; **10**: 84-87.
- [80] SIRECI N, KRATZ A. Nutritional sources of iron W: Iron deficiency and overload. Eds. S. Yehuda, DI Mostofsky, **Humana Press**, New York. 2010; 355-357.
- [81] SKRZYPEK H, SKRZYPEK JL, VALVEDRE PIEDRA JL, ZIELIŃSKA-CZERWIEC A, BIERNAT M, ZABIELSKI R. Rozwój struktury jelita cienkiego u nowo narodzonych prosiąt W: Sterowanie rozwojem przewodu pokarmowego u nowo narodzonych ssaków. Pod redakcją R. Zabielskiego, **PWRiL**, Warszawa. 2007; 59-84.
- [82] STAROŃ R, GAJOWIAK A, SMUDA E, LIPIŃSKI P, KRZĘPTOWSKI W, LENARTOWICZ M, GAJEWSKA M, PIESZKA M, BEDERSKA-ŁOJEWSKA D, SWINKELS DW, VAN SWELM R, STARZYŃSKI RR. Oral supplementation of anemic piglets with heme iron: efficacy in correcting anemia and molecular mechanism of heme iron absorption. The European Iron Club Meeting 2014, Verona 11-14 September 2014. Program & Abstracts Book p.84.
- [83] STARZYŃSKI RR, LIPIŃSKI P. IRP1, białko kontrolujące homeostazę żelaza komórkach ssaków: regulacja jego aktywności przez jony żelaza tlenek azotu. *Post Biol Kom* 2003; **30**: 497-514.
- [84] STYŚ A, STARZYŃSKI RR, LIPIŃSKI P. The role of iron regulatory proteins in the control of iron metabolism in mammals. *BioTechnologia* 2011; **92**: 66-75.
- [85] SU D, ASARD H. Three mammalian cytochromes *b561* are ascorbate-dependent ferrireductases. *FEBS J* 2006; **273**: 3722-3734.
- [86] TANNO T, BHANU NV, ONEAL PA, GOH SH, STAKER P, LEE YT, MORONEY JW, REED CH, LUBAN NL, WANG RH, ELING TE, CHILDS R, GANZ T, LEITMAN SF, FUCHAROEN S, MILLER JL. High levels of GDF15 in thalassemia suppress expression of the iron regulatory protein hepcidin. *Nat Med* 2007; **13**: 1096-1101.
- [87] VANOICA L, DARSHAN D, RICHMAN L, SCHUMANN K, KUHN LC. Intestinal ferritin H is required for an accurate control of iron absorption. *Cell Metab*. 2010; **12**: 273-282.
- [88] Vashisht AA, Zumbrennen KB, Huang X, POWERS DN, DURAZO A, SUN D, BHASKARAN N, PERSSON A, UHLEN M, SANGFELT O, SPRUCK C, LEIBOLD EA, WOHLSCHEGEL JA. Control of iron homeostasis by an iron-regulated ubiquitin ligase. *Science* 2009; **326**: 718-721.
- [89] VEUTHEY T, WESSLING-RESNICK M. Pathophysiology of the Belgrade rat. *Front Pharmacol* 2014; **5**: 82.
- [90] VULPE CD, KUO YM, MURPHY TL, COWLEY L, ASKWITH C, LIBINA N, GITSCHIER J, ANDERSON GJ. Hephaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the sl mouse. *Nat Genet*. 1999; **21**: 195-9.
- [91] WALDEN WE, DANIELS-MCQUEEN S, BROWN PH, GAFFIELD L, RUSSELL DA, BIELSER D, BAILEY LC, THACH RE. Translational repression in eukaryotes: partial purification and characterization of a repressor of ferritin mRNA translation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988; **85**: 9503-7.
- [92] WEST AR, OATES PS. Subcellular location of heme oxygenase 1 and 2 and divalent metal transporter 1 in relation to endocytotic markers during heme iron absorption. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; **23**: 150-8.
- [93] WHITE KN, CONESA C, SÁNCHEZ L, AMINI M, FARNAUD S, LORVORALAK C, EVANS RW. The transfer of iron between ceruloplasmin and transferrins. *Biochim Biophys Acta* 2012; **1820**: 411-6.
- [94] WONG BX, TSATSANIS A, LIM LQ, ADLARD PA, BUSH AI, DUCE JA.  $\beta$ -Amyloidprecursor protein does not possess ferroxidase activity but does stabilize the cell surface ferrous iron exporter ferroportin. *PLoS One* 2014; **9**: e114174.
- [95] YANG Z, PHILIPS JD, DOTY RT, GIRAUDI P, OSTROW JD, TIRIBELLI C, SMITH A, ABKOWITZ JL. Kinetics and specificity of feline leukemia virus subgroup C receptor (FLVCR) export function and its dependence on hemopexin. *J Biol Chem* 2010, **285**: 28874-2882.
- [96] YOUNG MF, GRIFFIN I, PRESSMAN E, MCINTYRE AW, COOPER E, MCNANLEY T, HARRIS ZL, WESTERMAN M, O'BRIEN KO. Utilization of iron from an animal-based iron source is greater than that of ferrous sulfate in pregnant and non-pregnant women. *J Nutr* 2010; **140**: 2162-2166.

- [97] ZHANG DL, HUGHES RM, OLLIVIERRE-WILSON H, GHOSH MC, ROUAULT TA. A ferroportin transcript that lacks an iron-responsive element enables duodenal and erythroid precursor cells to evade translational repression. *Cell Metab* 2009; **9**: 461-473.
- [98] ZIELIŃSKA-DAWIDZIAK M. Plant ferritin – a source of iron to prevent its deficiency. *Nutrients* 2015; **7**:1184-201.

*Redaktor prowadzący – Michał Nowicki*

*Otrzymano: 31.03.2015*

*Przyjęto: 13.04.2015*

*Paweł Lipiński*

*Zakład Biologii Molekularnej*

*Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu*

*ul. Postępu 36A, 05-552 Magdalenka*

*e-mail: p.lipinski@ighz.pl*