

PAWEŁ LIPIŃSKI, RAFAŁ R. STARZYŃSKI, ANNA GAJOWIAK,  
ROBERT STAROŃ, AGNIESZKA STYŚ

*Zakład Biologii Molekularnej  
Instytut Genetyki i Hodowli Zwierząt PAN w Jastrzębcu  
Postępu 36A, 05-552 Magdalenka  
E-mail: p.lipinski@ighz.pl*

## METABOLIZM ŻELAZA – STAN WIEDZY 2014\*

### KOMÓRKOWY METABOLIZM ŻELAZA

Żelazo jest aktywnym biochemicznie elementem takich kofaktorów jak: hem, centra żelazowo-siarkowe [Fe-S], 1- lub 2-atomowe centra żelazowe, które z kolei decydują o aktywności i funkcjach wielu białek niezbędnych do prawidłowego przebiegu kluczowych procesów biologicznych. Białka zawierające żelazo w swych centrach aktywnych uczestniczą w transporcie elektronów w łańcuchu oddechowym, transporcie i magazynowaniu tlenu, regulacji ekspresji genów oraz w syntezie DNA, microRNA i kolagenu (HENTZE i współaut. 2010). Istotą wewnątrzkomórkowej homeostazy żelaza jest, z jednej strony, dostarczenie odpowiedniej ilości żelaza do syntezy hemu i centrów [Fe-S] w celu zachowanie ciągłości niezbędnych dla komórki procesów biologicznych. Równolegle homeostaza żelaza w komórce ma za zadanie ograniczenie toksyczności jonów Fe(II), co wiąże się głównie z ich udziałem w reakcji Fentona, która jest źródłem rodnika hydroksylowego. W większości komórek ssaków homeostaza żelaza ustala się pod wpływem kilku procesów: transportu żelaza do komórki i do poszczególnych organelli, jego wewnątrzkomórkowego magazynowania, pobierania do syntezy żelazozależnych białek oraz usuwania do środowiska pozakomórkowego. Nie istnieje jednak jeden uniwersalny wzorzec, według którego przebiegają procesy metaboliczne żelaza w komórce. W komórkach różnych typów,

których funkcje służą utrzymaniu ogólnoustrojowej homeostazy żelaza (enterocyty absorpcyjne, erytroblasty, makrofagi, hepatocyty), można wyodrębnić szlaki metaboliczne charakterystyczne dla danego typu. Ponadto, różnice są podyktowane funkcjonalną polaryzacją niektórych komórek (np. enterocytów absorpcyjnych, komórek nabłonka kanalików proksymalnych nerki, syncytiotrofoblastów), intensywnością syntezy hemu [np. nasilenie syntezy hemu w erytroblastach jest o ponad rząd wielkości większe niż w komórkach nieerytroidalnych (PONKA 1999)], zdolnością do gromadzenia żelaza (hepatocyty), intensywnymi podziałami komórkowymi (komórki nowotworowe), zdolnością do fagocytozy (makrofagi).

Do stałego zestawu białek uczestniczących w utrzymaniu komórkowej homeostazy żelaza należą: występujący na błonie komórkowej receptor transferyny 1 (TfR1), białko, dzięki któremu komórki ssaków pobierają na drodze endocytozy jony żelaza związane z transferyną (Tf) (PONKA i LOK 1999), DMT1 (ang. divalent metal transporter 1), transporter żelaza uwolnionego w endosomie z kompleksu TfR1-Tf-Fe<sub>2</sub> do cytoplazmy (ANDREWS 1999), ferrytyna (Ft), cytoplazmatyczne białko o niespotykanym w przyrodzie potencjale magazynowania metali (jedna cząsteczka ferrytyny może związać około 4500 atomów Fe, zazwyczaj wiąże od 1000 do 2000 atomów Fe) (HARRISON i AROSTO 1996), mitoferyna 2, białko transportujące

\*Artykuł opracowano w ramach projektu nr 2011/01/B/N223/00632 finansowanego przez Narodowe Centrum Nauki

żelazo z cytoplazmy do mitochondriów (SHAW i współaut. 2006) oraz zakotwiczona na błonie komórkowej ferroporyna (Fpn), transporter, który usuwa żelazo jonowe poza komórkę (GANZ 2005). Niezwykle istotną frakcją żelaza w komórkach jest cytoplazmatyczna, zmienna pula żelaza (ang. labile iron pool, LIP) (KAKHLON i CABANTHIK 2002). LIP jest frakcją jonów Fe(II) i Fe(III) związanych z niebiałkowymi ligandami, wykazującymi niskie powinowactwo do obu form jonowego żelaza. Zmiany w stężeniu żelaza w LIP, które stanowi zaledwie 3–5% żelaza zawartego w komórce [w zależności od typu komórki stężenie żelaza w LIP wynosi od 0,1 do 1,2  $\mu\text{M}$  (KAKHLON i CABANTHIK 2002)], wskazują na komórkowy niedobór lub nadmiar tego pierwiastka i oddziałują na systemy regulujące wewnątrzkomórkową homeostazę żelaza. Cytoplazmatyczna LIP jest swoistym rozwidleniem komórkowych szlaków metabolicznych żelaza. Z jednej strony, jest uzupełniana przez żelazo transportowane do komórki oraz przez żelazo pochodzące ze zdegradowanych białek wiążących ten metal. Z drugiej strony, pula ta jest źródłem żelaza do syntezy hemu i centrów [Fe-S]. Żelazo transportowane poza komórkę też jest pobierane z LIP. Ponieważ LIP jest głównym źródłem żelaza czynnego w reakcji Fentona (KRUSZEWSKI 2003), jego stężenie w tej puli jest utrzymywane na granicznym poziomie, nie limitującym jednak jego biodostępności. Poziom LIP w dużej mierze reguluje ferrytyna. Jest to zachowane w ewolucji białko, o strukturze wydrążonej kuli, we wnętrzu której odkładane jest żelazo w formie polimeru uwodnionego tlenku żelazowego, który tworzy tzw. mineralny rdzeń ferrytyny. Białkowa powłoka ferrytyny jest heteropolimerem składającym się z 24 podjednostek dwóch typów: H (heavy) i L (light), kodowanych przez dwa geny i posiadających odmienne funkcje. Podjednostka H ferrytyny posiada aktywność ferroksozydazową i bierze udział w utlenianiu jonów Fe(II) do Fe(III), co jest niezbędne do przyłączania ich przez cząsteczkę ferrytyny w specyficznym miejscu podjednostki L, w którym zawiązuje się mineralny rdzeń ferrytyny (HARRISON i AROSIO 1996). Proporcje ilościowe podjednostek H i L w cząsteczkach ferrytyny są zmienne. Ferrytyny o przewadze podjednostek L charakteryzują się dłuższym okresem półtrwania, występują głównie w hepatocytach i odgrywają rolę w długotrwałym magazynowaniu żelaza. Ferrytyny z przewagą podjednostek H, charakterystyczne między innymi dla komórek nowotworowych, ulegają szybszej degradacji, dzięki czemu obrót w komórce za-

wartego w nich żelaza jest szybszy. Żelazo jest dostarczane do ferrytyny przy udziale białka opiekuńczego PCBP1 (ang. poly (rC) binding protein 1). Usunięcie PCBP1 z komórki powoduje zahamowanie włączania żelaza do cząsteczek ferrytyny, czego skutkiem jest wzrost poziomu żelaza w LIP (SHI i współaut. 2008).

Ekspresja genów kodujących podjednostki ferrytyny, receptor transferyny 1, DMT1 i ferroporynę zmienia się pod wpływem wahań poziomu żelaza w LIP. Kontrola syntezy tych białek odbywa się głównie poprzez potranskrypcyjny mechanizm IRP/IRE (ROUAULT 2006). Jest to prawdopodobnie najlepiej opisany u ssaków molekularny mechanizm regulujący translację lub stabilność mRNA. Jest to mechanizm, który równolegle reguluje transport żelaza do i z komórki oraz wewnątrzkomórkowe magazynowanie żelaza, a więc funkcjonuje wielokierunkowo w celu ustalenia optymalnego poziomu żelaza w komórce. Oczywiście ekspresja genów kodujących wspomniane białka jest regulowana przez żelazo i hem również na poziomie transkrypcji. Niezależnie, poziom ferroporyny na błonie komórkowej regulowany jest przez hepcydynę (patrz niżej) (BEAUMONT 2010). Elementami potranskrypcyjnego mechanizmu IRP/IRE są struktury RNA, określane jako sekwencje reagujące na jony żelaza (ang. iron response elements, IRE) oraz dwa cytoplazmatyczne białka kontrolujące homeostazę żelaza (ang. iron regulatory proteins, IRP1 i IRP2) (ROUAULT 2006). IRP1 jest białkiem, które występuje w cytoplazmie i może funkcjonować jako akonitaza, enzym zawierający katalityczne centrum [4Fe-4S] (holo-IRP1) lub jako białko wiążące się do IRE, pozbawione tego centrum (apo-IRP1) (STARZYŃSKI i LIPIŃSKI 2003, VOLZ 2008). Dwie aktywności IRP1 wzajemnie się wykluczają i są regulowane przez jony żelaza zawarte w LIP. Niedobór żelaza indukuje powstanie apo-IRP1, które wiąże się do sekwencji IRE w regionie 5'UTR mRNA podjednostek ferrytyny i ferroporyny, co powoduje zahamowanie ich translacji w wyniku zablokowania rekrutacji małej podjednostki rybosomu. Wiązanie się IRP1 do sekwencji IRE w regionie 3'UTR mRNA TfR1 i DMT1 stabilizuje te mRNA, prowadząc do wzrostu poziomu kodowanych przez nie białek. Gdy stężenie żelaza w LIP jest wysokie, w komórce dominuje holo-IRP1, które nie wiąże się z IRE. Wówczas wzorzec syntezy białek jest następujący: wzrost podjednostek ferrytyny i ferroporyny oraz spadek TfR1 i DMT1 (STA-

RZYŃSKI i LIPIŃSKI 2003, ROUAULT 2006, VOLZ 2008). W przeciwieństwie do IRP1, IRP2 nie posiada centrum żelazowo-siarkowego [4Fe-4S], a tym samym nie wykazuje aktywności akonitazowej (GUO i współaut. 1994). IRP2 wykazuje permanentną aktywność wiązania się z IRE, która zależy od poziomu tego białka w cytoplazmie. Poziom ten reguluje białko FBXL5 (ang. F box and leucine-rich repeat protein 5), inicjujące degradację IRP2 w proteasomach (SALAHUDEEN i współaut. 2009, VASHISHT i współaut. 2009). FBXL5 należy do rodziny białek adaptorowych, które wiążą specyficznym białka, a wśród nich IRP2, będące substratami dla kompleksu SKP1-CUL1-F-box1 ligaz ubikwitynowych. Poziom IRP2 jest negatywnie skorelowany z poziomem FBXL5 i zależy od komórkowego statusu żelaza. Przy niedoborze żelaza w komórce FBXL5 ulega degradacji, co przyczynia się do wysokiego poziomu IRP2. Z kolei przy nadmiarze żelaza poziom FBXL2 podnosi się,

co wpływa na degradację IRP2. Niedobór i nadmiar jonów żelaza w LIP w przełożeniu na regulację syntezy ferrytyny, ferroportyny, TfR1 i DMT1 przez IRP2 ma analogiczny skutek, co odpowiednio, regulacja przez apo-IRP1 i holo-IRP1. Zarówno przy niedoborze, jak i nadmiarze jonów żelaza konsekwencją skoordynowanego funkcjonowania systemu IRP/IRE jest szybki powrót do fizjologicznego poziomu LIP (ROUAULT 2006). IRP2 jest białkiem odgrywającym pierwszoplanową rolę w regulacji metabolizmu żelaza w warunkach fizjologicznych *in vivo* oraz w odpowiedzi na wahania poziomu żelaza (MEYRON-HOLTZ i współaut. 2004). IRP1, którego dominującą (80–90%) formą w komórkach jest holo-IRP1, zawierające centrum [4Fe-4S], jest białkiem odpowiedzialnym za adaptację komórkowego metabolizmu żelaza do warunków stresu oksydacyjnego (MUELLER 2005) i nitrozacyjnego (STYS i współaut. 2011).

#### OGÓLNOUSTROJOWY METABOLIZM ŻELAZA

Z funkcjonalnego punktu widzenia najważniejszymi komórkami dla utrzymania ogólnoustrojowej homeostazy żelaza są enterocyty absorpcyjne dwunastnicy, makrofagi układu siateczkowo-śródbłonkowego i hepatocyty. Enterocyty biorą udział w absorpcji żelaza z przewodu pokarmowego, makrofagi uczestniczą w odzyskaniu żelaza zawartego w starych erytrocytach oraz w jego transporcie do krwi, z kolei hepatocyty są głównym miejscem syntezy hepcydyny, peptydu regulującego zarówno ilość żelaza absorbowanego przez enterocyty, jak i żelaza uwalnianego przez makrofagi. Współdziałanie tych komórek zapewnia odpowiednią podaż żelaza dla prekursorów erytrocytów, erytroblastów, które są największymi konsumentami żelaza w organizmie. Prekursory erytrocytów oraz erytrocyty zawierają około 70% żelaza zgromadzonego w organizmie. Erytroblasty charakteryzują się intensywną syntezą hemoglobiny i są komórkami o największej gęstości cząsteczek TfR1 na błonie komórkowej. Ich liczba dochodzi do  $10^6$  na błonie pojedynczej komórki (PONKA i LOK 1999). W końcowym stadium różnicowania się erytroblastów liczba cząsteczek receptora obniża się, a następnie całkowicie zanika w trakcie dojrzewania retikulocyta (pierwszej bezjądrzastej komórki szeregu erytroidalnego) do erytrocytu. Żelazo pobrane przez erytroblasty jest niemal

wyłącznie wykorzystywane do syntezy hemu, który jest następnie włączany do cząsteczek hemoglobiny.

Najważniejszą determinantą metabolizmu żelaza jest reutilizacja tego pierwiastka w procesach biochemicznych. Oznacza to, że żelazo, jako aktywny komponent białek, po ich biologicznej degradacji może być ponownie wykorzystane do syntezy hemu oraz w biogenezie klastrów żelazowo-siarkowych i wbudowane w postaci tych kofaktorów do *de novo* syntetyzowanych białek determinując ich funkcje biologiczne. Chociaż proces reutilizacji żelaza dotyczy zarówno pojedynczej komórki, jak i całego organizmu, to właśnie w skali ogólnoustrojowej nabiera szczególnie istotnego znaczenia i ma spektakularny charakter. Żelazo uwolnione z hemu zawartego w starych/uszkodzonych, fagocytowanych przez makrofagi tkankowe erytrocytach jest transportowane do krwi, skąd pobierają je głównie erytroblasty w szpiku kostnym, wykorzystując do syntezy hemu, a następnie do formowania hemoglobiny. U dorosłego człowieka ilość żelaza uwalnianego dziennie przez makrofagi jest zbliżona do ilości żelaza wykorzystywanego w erytropoezie (20–30 mg), tak więc główne źródło pozyskiwania żelaza przez organizm ma charakter endogeny. Nie umniejsza to znaczenia absorpcji egzogennej żelaza.

Dotyczy to szczególnie początkowych okresów rozwoju postnatalnego (od okresu noworodkowego do okresu dojrzewania), a więc czasu intensywnego wzrostu organizmu, zwiększania masy ciała i objętości krwi. Absorpcja żelaza ma również szczególne znaczenie u kobiet ciężarnych i karmiących. Po osiągnięciu dojrzałości fizycznej absorpcja żelaza ma za zadanie uzupełnić ubytki żelaza związane ze złuszczeniem się komórek naskórka oraz apoptozą enterocytów wierzchołkowych kosmków dwunastnicy oraz z przypadkowymi krwotokami. Krwotoki są istotnym elementem zwiększającym absorpcję, gdyż wraz z utratą 100 ml krwi (o wartości hematokrytu 45%) z organizmu ubywa ok. 50 mg żelaza (SIKORSKA i współaut. 2006). Dzienna absorpcja żelaza z diety u mężczyzny wynosi około 1–2 mg. U kobiet w okresie przed menopauzą, w związku z cykliczną utratą krwi w trakcie miesiączkowania, absorpcja żelaza jest większa i wynosi około 4–5 mg dziennie. Niezwykle istotnym elementem w procesie absorpcji żelaza jest ograniczenie wchłaniania nadmiernych ilości tego mikroelementu. Ta restrykcja jest szczególnie istotna w kontekście wyjątkowej cechy homeostazy żelaza u ssaków – braku fizjologicznego szlaku usuwania tego pierwiastka z organizmu. W tym punkcie metabolizm żelaza zasadniczo różni się od metabolizmu miedzi, której nadmiar usuwany jest wraz z żółcią przy udziale białka ATP7B (patrz artykuł WOJCIECHA KRZEPTOWSKIEGO i współaut. w tym zeszycie KOSMOSU). Niezbędność restrykcyjnej regulacji wchłaniania żelaza uwidacznia się najlepiej w przypadku zaburzenia jej molekularnych mechanizmów, czemu poświęca swój artykuł KATARZYNA SIKORSKA (w tym zeszycie KOSMOSU). Absorpcja żelaza u ssaków odbywa się głównie w dwunastnicy, chociaż może być ono również wchłaniane w znacznie mniejszym stopniu w okrężnicy (BLACHIER i współaut. 2007). Żelazo występujące w pożywieniu może być wchłaniane zarówno w formie jonowej (tzw. żelazo nieorganiczne), jak i w postaci hemu (tzw. żelazo organiczne). W diecie mięsnej ilość żelaza hemowego dochodzi nawet do 40%. W diecie opartej na warzywach i owocach zdecydowanie dominuje żelazo jonowe. Zjawisko wysokiej przyswajalności żelaza hemowego znane jest już od dawna. Przyswajalność żelaza hemowego z diety wynosi od 25 do 50%, podczas gdy przyswajalność żelaza jonowego jest znacznie mniejsza, od 1 do 10% (ANDERSON i współaut. 2005). Moleku-

larne podłoże tej różnicy pozostaje nieznane. Sugeruje się istnienie niezależnego szlaku absorpcji żelaza hemowego, którego funkcjonowanie jak dotychczas nie zostało udokumentowane. Nie mniej jednak, preparaty żelaza hemowego są skutecznie wykorzystywane do korekty niedoboru żelaza zarówno u ludzi (GONZALEZ-ROSENDO i współaut. 2010, YOUNG i współaut. 2010), jak i zwierząt domowych (QUINTERO-GUTIERREZ i współaut. 2008). Komórkami biorącymi czynny udział w transporcie żelaza ze światła dwunastnicy do krwi są enterocyty wierzchołkowe, znajdujące się w górnej części kosmków. Absorpcja żelaza jonowego jest procesem złożonym, gdyż wymaga 2-krotnej zmiany stopnia utlenienia żelaza oraz przemieszczenia przez dwie przeciwległe błony enterocyty: wierzchołkową (apikalną), zwróconą w stronę światła dwunastnicy, oraz podstawno-boczną (bazolateralną), kontaktującą się z naczyniami krwionośnymi. Jony żelaza występujące w diecie głównie w postaci jonów Fe(III) podlegają redukcji przez dwunastniczy cytochrom b (ang. duodenal cytochrome b, DCYTB) (MCKIE i współaut. 2001), aby następnie mogły być przetransportowane do cytoplazmy enterocyty w formie jonów Fe(II) przez białko DMT1. W enterocycie jony Fe(II) mogą być włączane do ferrytyny albo transportowane przez błonę podstawno-boczną do krwi przez ferroportynę. Z ferroportyną współdziała miedziozależna ferooksydaza, hefajstyna, która utlenia jony Fe(II) do Fe(III). Dzięki temu mogą one utworzyć stabilny kompleks z transferyną, która, w przeciwieństwie do innego białka z rodziny transferyn, laktoferyny, nie posiada aktywności ferooksydazowej. Laktoferyna (patrz artykuł JOLANTY ARTYM i MICHAŁA ZIMECKIEGO w tym zeszycie KOSMOSU) jest białkiem, które niewątpliwie uczestniczy w absorpcji żelaza w okresie noworodkowym i niemowlęcym u ludzi (ARTYM 2008). Żelazo zawarte w mleku ludzkim jest całkowicie związane z laktoferyną, a jego przyswajalność wynosi około 50% (ARTYM 2012). W dwunastnicy noworodków ludzkich (SUZUKI i współaut. 2001) i świni (LIAO i współaut. 2007) stwierdzono występowanie specyficznego receptora laktoferyny, dzięki któremu żelazo z nią związane jest transportowane do wnętrza enterocyty. Z drugiej jednak strony wykazano, że status żelaza osesków myszy żywiących się mlekiem pozbawionym laktoferyny (karmiące matki pozbawione były genu kodującego laktoferynę) nie różni się istotnie od statusu osesków

pijących mleko o normalnej zawartości tego białka (HANSON i współaut. 2001). Warto podkreślić, że molekularne mechanizmy absorpcji żelaza i ich regulacja w okresie neonatalnym są jeszcze słabo poznane. Z całą pewnością znane mechanizmy i regulacje funkcjonujące u dorosłych osobników nie są w pełni rozwinięte u noworodków i niemowląt (LIPIŃSKI i współaut. 2013). Jest to ważny przyczynek do tego, aby w spojrzeniu na metabolizm żelaza uwzględniać różnice związane z etapami rozwoju ontogenetycznego.

Regulacja ilości absorbowanego żelaza jonowego jest złożonym procesem, sterowanym zarówno przez czynniki ogólnoustrojowe, odzwierciedlające status żelaza w organizmie, jak również przez czynniki działające miejscowo w enterocycie. Przełomem w poznaniu mechanizmów regulacji absorpcji żelaza okazało się odkrycie hepcydyny w 2001 r. (NICOLAS i współaut. 2001, PIGEON i współaut. 2001). Wcześniej, hepcydyna znana była pod nazwą LEAP1 (ang. liver-expressed antimicrobial peptide 1), jako peptyd z rodziny defensyn, czynników o działaniu przeciwbakteryjnym i przeciwgrzybicznym (KRAUSE i współaut. 2000). Po 13 latach hepcydyna jest prawdopodobnie najbardziej znaną defensyną, chociaż o jej aktywności mikrobójczej prawie się nie wspomina. Hepcydyna jest syntetyzowana głównie w hepatocytach i uwalniana do krążenia jako 25-aminokwasowy peptyd. Hepcydyna wiąże się z ferroportyną występującą na błonie podstawno-bocznej enterocytów. W wyniku tego wiązania następuje przyłączenie kinazy Janusowej (Jak2), która fosforyluje reszty tyrozynowe (Tyr) w cząsteczce ferroportyny, co jest sygnałem do przemieszczenia białka z błony komórkowej do cytoplazmy. Ferroportyna jest następnie defosforylowana i dalej, przy udziale ligazy ubikwitynowo-białkowej E3 z rodziny Nedd4, przyłączane są do niej cząsteczki ubikwityny. W ubikwitynowanej formie ferroportyna przemieszcza się do ciałek wielopęcherzykowatych, które ulegają fuzji z lizosomami, gdzie ferroportyna ulega degradacji pod wpływem działania hydrolaz (NEMETH i współaut. 2004, DE DOMENICO i współaut. 2007a). W następstwie biodegradacji ferroportyny, znaczna część żelaza zostaje zablokowana w enterocytach, a tym samym zmniejsza się ilość żelaza transportowanego do krwi. Regulacja absorpcji żelaza przez hepcydynę ma charakter sprzężenia zwrotnego, gdyż synteza hepcydyny w hepa-

tocytach wzrasta pod wpływem żelaza [wzrostu jego zawartości w hepatocytach, a także wzrostu poziomu holo-transferyny ( $TfFe_2$ ) w surowicy] (GANZ i NEMETH 2012). W indukcji przez żelazo ekspresji genu *Hamp*, kodującego hepcydynę uczestniczą ligandy: BMP6 (ang. bone morphogenetic protein 6) i  $TfFe_2$ , kompleks białek występujący na błonie hepatocytów złożony z receptorów BMP1/BMP2, Tfr1, Tfr2, białka hemochromatozy (HFE), hemojuweliny, neogeniny oraz czynniki transkrypcyjne z rodziny SMAD (VIATTE i VAULONT 2009). Negatywnym modulatorem ekspresji hepcydyny jest matryptaza-2, proteaza serynowa, która poprzez swą aktywność proteolityczną usuwa z powierzchni komórek hemojuwelinę (FOLGUERAS i współaut. 2008). Ekspresja hepcydyny jest pośrednio regulowana przez miRNA (miR-122), który wpływa na degradację mRNA kodujących hemojuwelinę i HFE, co prowadzi do obniżenia ekspresji tych białek, a w konsekwencji do obniżenia syntezy hepcydyny. Zgodnie z logiką tej regulacji wykazano, że zahamowanie ekspresji miR-122 u myszy prowadzi do obniżenia stężenia żelaza w surowicy krwi oraz jego zawartości w wątrobie (CASTOLDI i współaut. 2011). Hepcydyna jest również regulowana przez czynniki erytropoetyczne oraz mediatory stanu zapalnego, o czym szerzej wspominają w swoim artykule EWELINA ŁUKASZYK i JOLANTA MAŁYSZKO (w tym zeszycie KOSMOSU).

Jak w każdej komórce, tak i w enterocycie, regulacja ferroportyny, podjednostek ferrytyny, DMT1 pozostaje pod kontrolą żelaza *via* system IRP/IRE. U myszy z podwójnym selektywnym nokautem genów *Irp1* i *Irp2* w komórkach nabłonka jelitowego stwierdzono całkowite rozregulowanie absorpcji żelaza, będące skutkiem zaburzenia ekspresji transkryptów regulowanych przez IRP (GALY i współaut. 2008, 2013). Istotną rolę ferrytyny w absorpcji żelaza potwierdzają badania na myszach z wybiórczym nokautem genu *Ft-H*, kodującego podjednostkę ciężką ferrytyny w enterocytach dwunastnicy. U myszy tych obserwowano zwiększoną absorpcję żelaza. Ferrytyna jest białkiem ograniczającym wchłanianie jonów żelaza, gdyż przez fakt ich magazynowania, zmniejsza pulę jonów żelaza transportowanych przez ferroportynę. Żelazo związane w enterocytach z ferrytyną stanowi znaczną część żelaza traconego przez organizm w trakcie egzofiliacji apoptotycznych i nieaktywnych już w transporcie żelaza enterocytów wierzchołkowych.

Istotną rolę w molekularnej regulacji absorpcji żelaza odgrywa czynnik transkrypcyjny HIF-2 $\alpha$  (ang. hypoxia inducible factor-2 alpha), który w warunkach stosunkowo niskiego stężenia tlenu (szczególnie w fazie niepozbierania pokarmu, co wiąże się z mniejszym przepływem krwi i mniejszym utlenowaniem komórek nabłonka absorpcyjnego) indukuje transkrypcję genów kodujących białka odpowiedzialne za absorpcję żelaza: DCTYB, DMT1 i ferroportynę (MASTROGIANNAKI i współaut. 2009). Okazało się także, że ekspresja HIF-2 $\alpha$  może być regulowana przez żelazo *via* system IRP/IRE, gdyż transkrypt HIF-2 $\alpha$  posiada w regionie 5'UTR funkcjonalną sekwencję IRE (SANCHEZ i współaut. 2007). Zgodnie z regułą regulacji potranskrypcyjnej przez system IRP/IRE, niski poziom żelaza w enterocycie wpływa na zahamowanie translacji mRNA HIF-2 $\alpha$ . Należy jednak pamiętać, że niedobór żelaza oddziałuje również na stabilność HIF-2 $\alpha$  na poziomie białka, poprzez zahamowanie aktywności hydroksylaz prolinowych, enzymów inicjujących degradację tego czynnika, a zawierających w swych centrach aktywnych jony żelaza (EPSTEIN i współaut. 2001). Tak więc, regulacja poziomu HIF-2 przez żelazo w enterocytach nabłonka absorpcyjnego jest wypadkową dwóch wspomnianych mechanizmów. Wydaje się, że wielokierunkowa kontrola absorpcji żelaza, obejmująca buforujące się mechanizmy regulacyjne, ma przede wszystkim za zadania elastyczne dopasowanie ilości wchłanianego żelaza do potrzeb organizmu.

Odrębnym, ciągle jeszcze niepoznaczonym zagadnieniem w procesie wchłaniania żelaza jest mechanizm przyswajalności żelaza hemowego. Według niektórych badaczy, w transporcie hemu przez błonę wierzchołkową enterocytu uczestniczy białko HCP1 (ang. heme carrier protein 1) (SHAYEGHI i współaut. 2005). Inni badacze kwestionują tę funkcję HCP1 twierdząc, że białko to jest transportem kwasu foliowego (ANDREWS 2007). Niezależnie od tego, w jaki sposób hem dostaje się do enterocytu, ulega tam degradacji pod wpływem aktywności oksygenazy hemowej 1, a żelazo jonowe uwolnione z cząsteczki hemu wkracza na szlak transportu żelaza jonowego przy udziale ferroportyny i hefajstyny. Śmiała hipoteza zakłada istnienie szlaku transportu nienaruszonej cząsteczki hemu zarówno przez błonę wierzchołkową (przez HCP1), jak i przez błonę podstawno-boczną enterocytu *via* FLVCR1a (ang. feline leukemia virus sub-group cellular receptor) (WEST

i OATES 2008, KOROLNEK i HAMZA 2014). W dalszej kolejności cząsteczka hemu może być transportowana przez hemopeksynę do wątroby. Poznanie molekularnych mechanizmów regulacji absorpcji hemu, jak również interakcji między wchłanianiem żelaza jonowego i hemowego pozwoliłoby z pewnością na bardziej skuteczne korygowanie niedokrwistości na tle niedoboru żelaza.

W krwi dorosłego człowieka (ok. 5 l) krąży ponad  $2 \times 10^{13}$  erytrocytów (ponad  $4 \times 10^{12}$ /l). Biorąc pod uwagę, że okres życia erytrocytów u człowieka wynosi 100–120 dni (u myszy ten okres wynosi 40 dni, a u świni 80–90 dni), około  $10^{11}$  erytrocytów powstaje w ciągu doby w narządach krwiotwórczych i jednocześnie stare erytrocyty w podobnej liczbie są usuwane z krążenia. Eliminowanie starych erytrocytów z krwioobiegu odbywa się na drodze erytrofagocytozy przez makrofagi tkankowe (komórki Browicza-Kupffera w wątrobie, makrofagi śledziony oraz makrofagi szpiku kostnego), które rozpoznają stare erytrocyty dzięki obecności na ich błonach markerów procesu starzenia, np. fosfatydyloseryny. Pochłonięte przez makrofagi erytrocyty ulegają trawieniu, a uwolniona z nich hemoglobina podlega proteolitycznej degradacji. Z kolei uwolniony z hemoglobiny hem jest degradowany na drodze enzymatycznej przez oksygenazę hemową 1 (HO1). Produktami tej reakcji są jony Fe(II), tlenek węgla (CO) i biliwerdyna. Należy podkreślić, że hem, będąc substratem reakcji katalizowanej przez HO1, jest jednocześnie jednym z głównych czynników indukujących ekspresję genu *Hmox1*, kodującego ten enzym (FURUYAMA i współaut. 2007). Żelazo uwolnione z cząsteczek hemu nie jest z reguły magazynowane w ferrytynie makrofagów, ale jest transportowane przez ferroportynę do krwioobiegu, gdzie wiąże się z transferryną i w kompleksie z tym białkiem dostarczane jest do szpiku kostnego. W wiązaniu żelaza transportowanego przez ferroportynę makrofagów z transferryną uczestniczy zakotwiczona na ich błonach komórkowych (poprzez glikofosfatydyloinozytol) ceruloplazmina, miedziowa zależna ferrokazydaza (DE DOMENICO i współaut. 2007b). W trakcie erytrofagocytozy ekspresja genu *Slc40a1* kodującego ferroportynę zwiększa się zarówno poprzez mechanizm transkrypcyjny pod wpływem żelaza jonowego i hemu (*via* czynnik transkrypcyjny Nrf2) oraz poprzez system IRP/IRE pod wpływem żelaza jonowego (BEAUMONT 2010), co zapewnia wysoki poziom ferroportyny na błonie

komórkowej makrofagów. Negatywna potranślacyjna regulacja ferroportyny przez hepacydynę ma drugorzędne znaczenie w warunkach fizjologicznych (normalnie przebiegających procesach erytropoezy i erytrofagocytozy) ze względu na stosunkowo niski poziom tego peptydu w krwi. W hamowaniu ekspresji ferroportyny uczestniczy miR-485-3p, lecz regulacja ta wymaga jeszcze dodatkowych badań (SANGOKOYA i współaut. 2013). Recyrkulacja żelaza hemowego przez makrofagi jest procesem wieloetapowym, w którym poza HO1 i ferroportyną, ściśle współdziałają ze sobą inne białka związane zarówno z metabolizmem hemu, jak i z metabolizmem żelaza niehemowego. Odzyskanie i przekierowanie żelaza hemowego z fagocytowanych przez makrofagi erytrocytów do krwi jest największym ilościowo transferem żelaza w organizmie. Ilość żelaza „z odzysku” wprowadzana dziennie przez makrofagi do krwi jest ponad 10-krotnie większa niż ilość żelaza absorbowanego z diety. Dlatego też zaburzenie recyrkulacji żelaza przez makrofagi o wiele szybciej wpływa na ograniczenie dostępności tego mikroelementu dla erytropoezy niż zaburzenia jego absorpcji.

Część erytrocytów krążących w krwioobiegu (nawet około 20%) podlega spontanicznemu rozpadowi, co określa się jako fizjologiczną wewnątrznaczyniową hemolizę. Zjawisku temu towarzyszy uwalnianie do krwioobiegu wolnej hemoglobiny i hemu, które mają właściwości prooksydacyjne i mogą przyczyniać się do uszkodzenia komórek nabłonka naczyniowego. Śsaki są jednak wyposażone w skuteczny system zapobiegający toksyczności hemoglobiny i hemu. Obejmuje on haptoglobinę (Hp) i hemopeksynę (Hx), białka syntetyzowane w hepatocytach,

uwalniane do krwi i wiążące z dużym powinowactwem odpowiednio hemoglobinę (Hb) i hem. Kolejnym ogniwem tego systemu są receptory CD163 i CD91, występujące głównie na błonie makrofagów tkankowych, które są odpowiedzialne za usuwanie z krążenia odpowiednio kompleksu Hp-Hb i kompleksu Hx-hem. Ostatnim ogniwem jest HO1, która przyczynia się do degradacji hemu w makrofagach, dzięki czemu uwolnione żelazo jonowe może być ponownie wykorzystane do celów metabolicznych lub zmagazynowane w bezpiecznej formie w ferrytynie. W ostatnich latach pojawiła się koncepcja zakładająca, że wspomniane wyżej białka wiążące hem i hemoglobinę oraz ich receptory mogą być elementami ogólnoustrojowego obrotu hemu (KOROLNEK i HAMZA 2014). W koncepcji tej, poprzez analogię do obrotu żelaza jonowego, hemopeksynie przypisuje się rolę podobną do roli transferryny [stężenie hemopeksyny w surowicy (6,7–25  $\mu\text{M}$ ) nie odbiega istotnie od stężenia transferryny transportującej jony żelaza (22–31  $\mu\text{M}$ )]. Z kolei funkcje niedawno poznanych białek transportujących hem z komórek do środowiska pozakomórkowego, FLVCR1a (KHAN i QUIGLEY 2013) i ABCG2 (ang. ATP-binding cassette transporter) (DESUZINGES-MANDON i współaut. 2010), przypominają funkcję ferroportyny. W tej koncepcji mieści się również wspomniany, hipotetyczny jeszcze mechanizm absorpcji żelaza hemowego w formie natywnych cząsteczek hemu. Niewątpliwie interakcja między metabolizmem żelaza hemowego i niehemowego i jej molekularna regulacja jest obiecującą perspektywą w badaniach nad homeostazą żelaza.

#### UWAGI KOŃCOWE

Zarówno komórkowa, jak i ogólnoustrojowa homeostaza żelaza pozostaje pod ścisłą, wielostopniową kontrolą molekularnych mechanizmów regulatorowych. Świadczy to o tym, że prawidłowy przebieg metabolizmu żelaza ma kluczowe znaczenie dla funkcjonowania poszczególnych komórek i całego organizmu. Kolejne artykuły przywołują cały szereg różnorodnych patologii, które występują u ludzi, gdy przemiany metaboliczne żelaza wymykają się spod kontroli. Podstawowa wiedza o metabolizmie żelaza może być niewątpliwie pomocna w utrzymaniu

prawidłowego żelazowego *status quo*. Nie sięgajmy bezkrytycznie po suplementy żelaza ustawione w rzędach na półkach supermarketów. Mogą one być doskonałą pożywką dla mikroorganizmów chorobotwórczych i narażać nas na infekcje. Poza tym pamiętajmy: żelazo raz przyswojone nie tak łatwo opuszcza organizm, akumuluje się w nim i może być toksyczne. Z drugiej strony, postarajmy się, aby w naszej diecie znalazły się produkty zawierające łatwo przyswajalne żelazo, jeśli zauważymy, że wartości naszych parametrów czerwonych krwinek, które są podstawo-

wym elementem rutynowych analiz krwi, oscylując wokół granicy dolnych norm i wska-

żują na początki niedoboru żelaza. Pamiętajmy o dwoistej naturze żelaza.

## METABOLIZM ŻELAZA – STAN WIEDZY 2014

### Streszczenie

Żelazo jest biometalem występującym w dwóch głównych stopniach utlenienia – Fe(II) i Fe(III). O wykorzystaniu żelaza przez organizmy żywe zadecydowała szeroka rozpiętość potencjału oksydoredukcyjnego tego metalu, możliwa dzięki zmiennym interakcjom z wiążącymi go ligandami oraz udział w reakcjach przeniesienia elektronu. Żelazo występuje w centrach aktywnych wielu enzymów katalizujących różnorodne reakcje, stanowiące podłoże kluczowych procesów metabolicznych takich jak fosforylacja oksydacyjna, synteza DNA, obróbka micro RNA, transport tlenu. Z drugiej strony, żelazo jest toksyczne poprzez udział w reakcji Fentona, w której powstaje rodnik wodorotlenkowy, utleniacz niszczący strukturę komórkowe. Komórkowa homeostaza żelaza polega na dostarczeniu tego metalu do podstawowych procesów biochemicznych, w których uczest-

niczy oraz na ograniczeniu jego udziału w reakcji Fentona. Obrót żelaza w komórce pozostaje głównie pod kontrolą cytoplazmatycznych białek IRP1 i IRP2 wiążących się z RNA, które koordynują syntezę białek uczestniczących w komórkowym transporcie żelaza, jego magazynowaniu i metabolicznym użyciu. Ogólnoustrojowa równowaga żelaza opiera się w dużej mierze na osi regulatorowej pomiędzy hepcydyną, peptydem syntetyzowanym głównie w hepatocytach oraz ferroportyną, białkiem transportującym żelazo z komórek. Funkcjonowanie tej osi zapewnia prawidłową dystrybucję i obrót żelaza między absorpcyjnymi enterocytami, makrofagami układu siateczkowo-śródbłonkowego oraz prekursorami czerwonych krwinek. Artykuł podsumowuje najważniejsze odkrycia z ostatnich 15 lat, które okazały się kluczowe dla zrozumienia homeostazy żelaza.

## IRON METABOLISM – STATE OF THE ART 2014

### Summary

Iron is biometal, existing in two main oxidation states, i.e. Fe(II)/Fe(III). The extensive range of redox potential available to this metal by varying its interactions with coordinating ligands, as well as its capacity to participate in one-electron transfer reactions, are the reasons why iron is essential for almost all living organisms. Iron is found in the active sites of a large number of enzymes that catalyze diverse redox reactions underlying fundamental metabolic processes, including respiratory oxidation, DNA synthesis, microRNA processing and oxygen transport. On the other hand, iron is toxic due to its capacity to catalyze *via* Fenton reaction the production of hydroxyl radical, a highly destructive oxidant. Cellular iron homeostasis consists in providing iron for a variety of biochemical processes and in limiting iron availability for Fenton reaction. Cellu-

lar iron homeostasis is mainly controlled by the iron regulatory proteins (IRP1 and IRP2) – two cytoplasmic RNA-binding proteins involved in the mechanisms that coordinate the synthesis of a number of key proteins responsible for cellular iron transport, storage and utilization. Systemic iron balance is largely based on a regulatory axis between the liver-derived peptide hepcidin and the iron exporter ferroportin proved to be fundamental for the coordination of iron fluctuations in the body and its distribution among the main sites of iron metabolism such as absorptive enterocytes, reticuloendothelial macrophages, hepatocytes and erythroid precursors of red blood cells. The article briefly resumes main discoveries within last 15 years, critical for the understanding iron homeostasis.

## LITERATURA

- ANDERSON G. J., FRAZER D. M., MCKIE A. T., VULPE C. D., SMITH A., 2005. *Mechanisms of haem and non-haem iron absorption: lessons from inherited disorders of iron metabolism*. *Biometals* 18, 339–348.
- ANDREWS N. C., 1999. *The iron transporter DMT1*. *Int. J. Biochem. Cell. Biol.* 31, 991–994.
- ANDREWS N. C., 2007. *When is a heme transporter not a heme transporter? When it's a folate transporter*. *Cell Metab.* 5, 5–6.
- ARTYM J., 2008. *The role of lactoferrin in the iron metabolism. Part I. Effect of lactoferrin on intake, transport and iron storage*. *Post. Hig. Med. Dosw.* 62, 599–612.
- ARTYM J., 2013. *Laktoferyna – niezwykle białko*. Wydawnictwo Borgis Sp. z o.o.
- BEAUMONT C., 2010. *Multiple regulatory mechanisms act in concert to control ferroportin expression and heme iron recycling by macrophages*. *Hematologica* 95, 1233–1236.
- BLACHIER F., VAUGELADE P., ROBERT V., KIBANGOU B., CANONNE-HERGAUX F., DELPAL S., BUREAU F., BLOTTIÈRE H., BOUGLÉ D., 2007. *Comparative capacities of the pig colon and duodenum for luminal iron absorption*. *Can. J. Physiol. Pharmacol.* 85, 185–192.
- CASTOLDI M., VUJIC-SPASIC M., ALTAMURA S., ELMÉN J., LINDOW M., KISS J., STOLTE J., SPARLA R., D'ALESSANDRO L. A., KLINGMÜLLER U., FLEMING R. E., LON-

- GERICH T., GRÖNE H. J., BENES V., KAUPPINEN S., HENTZE M. W., MUCKENTHALER M. U., 2011. *The liver-specific microRNA miR-122 controls systemic iron homeostasis in mice*. J. Clin. Invest. 121, 1386–1396.
- DE DOMENICO I., WARD D. M., LANGELIER C., VAUGHN M. B., NEMETH E., SUNDQUIST W. I., GANZ T., MUSCI G., KAPLAN J., 2007a. *The molecular mechanism of hepcidin-mediated ferroportin down-regulation*. Mol. Biol. Cell. 18, 2569–2578.
- DE DOMENICO I., WARD D. I., PATTI M. C., JEONG S. Y., DAVID S., MUSCI G., KAPLAN J., 2007b. *Ferroxidase activity is required for the stability of cell surface ferroportin in cells expressing GPI-ceruloplasmin*. EMBO J. 2007 26, 2823–2831.
- DESUZINGES-MANDON E., ARNAUD O., MARTINEZ L., HUCHÉ F., DI PIETRO A., FALSON P., 2010. *ABCG2 transports and transfers heme to albumin through its large extracellular loop*. J. Biol. Chem. 285, 33123–33133.
- EPSTEIN A. C., GLEADLE J. M., MCNEILL L. A., HEWITSON K. S., O'ROURKE J., MOLE D. R., MUKHERJI M., METZEN E., WILSON M. I., DHANDA A., TIAN Y. M., MASSON N., HAMILTON D. L., JAAKKOLA P., BARSTEAD R., HODGKIN J., MAXWELL P. H., PUGH C. W., SCHOFIELD C. J., RATCLIFFE P. J., 2001. *C. elegans EGL-9 and mammalian homologs define a family of dioxygenases that regulate HIF by prolyl hydroxylation*. Cell 107, 43–54.
- FOLGUERAS A. R., DE LARA F. M., PENDÁS A. M., GARABAYA C., RODRÍGUEZ F., ASTUDILLO A., BERNAL T., CABANILLAS R., LÓPEZ-OTÍN C., VELASCO G., 2008. *Membrane-bound serine protease matriptase-2 (Tmprss6) is an essential regulator of iron homeostasis*. Blood 112, 2539–2545.
- FURUYAMA K., KANEKO K., VARGAS P. D., 2007. *Heme as a magnificent molecule with multiple missions: heme determines its own fate and governs cellular homeostasis*. Tohoku J. Exp. Med. 213, 1–16.
- GALY B., FERRING-APPEL D., KADEN S., GRÖNE H. J., HENTZE M. W., 2008. *Iron regulatory proteins are essential for intestinal function and control key iron absorption molecules in the duodenum*. Cell Metab. 7, 79–85.
- GALY B., FERRING-APPEL D., BECKER C., GRETZ N., GRÖNE H. J., SCHÜMANN K., HENTZE M. W., 2013. *Iron regulatory proteins control a mucosal block to intestinal iron absorption*. Cell Rep. 3, 844–857.
- GANZ T., 2005. *Cellular iron: ferroportin is the only way out*. Cell Metab. 1, 155–157.
- GANZ T., NEMETH E., 2012. *Hepcidin and iron homeostasis*. Biochim. Biophys. Acta 1823, 1434–1443.
- GONZALEZ-ROSENDO G., POLO J., RODRIGUEZ-JEREZ J. J., PUGA-DIAZ R., REYES-NAVARRETE E. G., QUINTERO-GUTIERREZ A. G., 2010. *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. 75, H73–H78.
- GUO B., YU Y., LEIBOLD E. A., 1994. *Iron regulates cytoplasmic levels of a novel iron-responsive element-binding protein without aconitase activity*. J. Biol. Chem. 269, 24252–24260.
- HANSON L. H., SAWICKI V., LEWIS A., NUIJENS J. H., NEVILLE M. C., ZHANG P., 2001. *Does human lactoferrin in the milk of transgenic mice deliver iron to suckling neonates?* Adv. Exp. Med. Biol. 501, 233–239.
- HARRISON P. M., AROSIO P., 1996. *The ferritins: molecular properties, iron storage function and cellular regulation*. Biochim. Biophys. Acta 1275, 161–203.
- HENTZE M. W., MUCKENTHALER M. U., GALY B., CAMASCHIELLA C., 2010. *Two to tango: regulation of mammalian iron metabolism*. Cell 142, 24–38.
- KAKHLON O., CABANTHIK Z. I., 2002. *The labile iron pool: characterization, measurement, and participation in cellular processes*. Free Radic. Biol. Med. 33, 1037–1046.
- KHAN A. A., QUIGLEY J. G., 2013. *Heme and FLVCR-related transporter families SLC48 and SLC49*. Mol. Aspects Med. 34, 669–682.
- KOROLNEK T., HAMZA I., 2014. *Like iron in the blood of the people: the requirement for heme trafficking in iron metabolism*. Front. Pharmacol. 126, 1–13.
- KRAUSE A., NEITZ S., MÄGERT H. J., SCHULZ A., FORSSMANN W. G., SCHULZ-KNAPPE P., ADERMANN K., 2000. *LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity*. FEBS Lett. 480, 147–50.
- KRUSZEWSKI M., 2003. *Labile iron pool: the main determinant of cellular response to oxidative stress*. Mutat. Res. 531, 81–92.
- LIAO Y., LOPEZ V., SHAFIZADEH T. B., HALSTED C. H., LÖNNERDAL B., 2007. *Cloning of a pig homologue of the human lactoferrin receptor: expression and localization during intestinal maturation in piglets*. Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol. 148, 584–590.
- LIPINSKI P., STYŚ A., STARZYŃSKI R. R., 2013. *Molecular insights into the regulation of iron metabolism during the prenatal and early postnatal periods*. Cell. Mol. Life. Sci. 70, 23–38.
- MASTROGIANNAKI M., MATAK P., KEITH B., SIMON M. C., VAULONT S., PEYSSONNAUX C., 2009. *HIF-2alpha, but not HIF-1alpha, promotes iron absorption in mice*. J. Clin. Invest. 119, 1159–1166.
- MCKIE A. T., BARROW D., LATUNDE-DADA G. O., ROLFS A., SAGER G., MUDALY E., MUDAL M., RICHARDSON C., BARLOW D., BOMFORD A., PETERS T. J., RAJA K. B., SHIRALI S., HEDIGER M. A., FARZANEH F., SIMPSON R. J., 2001. *An iron regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron*. Science 291, 1755–1759.
- MEYRON-HOLTZ E. G., GHOSH M. C., IWAI K., LAVAUTE T., BRAZZOLOTTO X., BERGER U. V., LAND W., OLLIVIERE-WILSON H., GRINBERG A., LOVE P., ROUAULT T. A., 2004. *Genetic ablations of iron regulatory proteins 1 and 2 reveal why iron regulatory protein 2 dominates iron homeostasis*. EMBO J. 23, 386–395.
- MUELLER S., 2005. *Iron regulatory protein 1 as a sensor of reactive oxygen species*. Biofactors 24, 171–181.
- NEMETH E., TUTTLE M. S., POWELSON J., VAUGHN M. B., DONOVAN A., WARD D. M., GANZ T., KAPLAN J., 2004. *Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization*. Science 306, 2090–2093.
- NICOLAS G., BENNOUN M., DEVAUX I., BEAUMONT C., GRANDCHAMP B., KAHN A., VAULONT S., 2001. *Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 98, 8780–8785.
- PIGEON C., ILYIN G., COURSELAUD B., LEROYER P., TURLIN B., BRISSOT P., LORÉAL O., 2001. *A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload*. J. Biol. Chem. 276, 7811–7819.
- PONKA P., 1999. *Cell biology of heme*. Am. J. Med. Sci. 318, 241–256.
- PONKA P., LOK C. N., 1999. *The transferrin receptor: role in health and disease*. Int. J. Biochem. Cell Biol. 31, 1111–1137.

- QUINTERO-GUTIERREZ A. G., GONZALEZ-ROSENDO G., SANCHEZ-MUNOZ J., POLO-POZO J., RODRIGUEZ-JEREZ J. J., 2008. *Bioavailability of heme iron in biscuit filling using piglets as an animal model for humans*. *Int. J. Biol. Sci.* 4, 58–62.
- ROUAULT T. A., 2006. *The role of iron regulatory proteins in mammalian iron homeostasis and disease*. *Nat. Chem. Biol.* 2, 406–414.
- SALAHUDEEN A. A., THOMPSON J. W., RUIZ J. C., MA H. W., KINCH L. N., LI Q., GRISHIN N. V., BRUICK R. K., 2009. *An E3 ligase possessing an iron-responsive hemerythrin domain is a regulator of iron homeostasis*. *Science* 326, 722–726.
- SANCHEZ M., GALY B., MUCKENTHALER M. U., HENTZE M. W., 2007. *Iron-regulatory proteins limit hypoxia-inducible factor-2alpha expression in iron deficiency*. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 14, 420–426.
- SANGOKOYA C., DOSS J. F., CHI J. T., 2013. *Iron-responsive miR-485-3p regulates cellular iron homeostasis by targeting ferroportin*. *PLoS Genet.* 9, e1003408.
- SHAW G. C., COPE J. J., LI L., CORSON K., HERSEY C., ACKERMANN G. E., GWYNN B., LAMBERT A. J., WINGERT R. A., TRAVER D., TREDE N. S., BARUT B. A., ZHOU Y., MINET E., DONOVAN A., BROWNLIE A., BALZAN R., WEISS M. J., PETERS L. L., KAPLAN J., ZON L. I., PAW B. H., 2006. *Mitoferrin is essential for erythroid iron assimilation*. *Nature* 440, 96–100.
- SHAYEGHI M., LATUNDE-DADA G. O., OAKHILL J. S., LAFTAH A. H., TAKEUCHI K., HALLIDAY N., KHAN Y., WARLEY A., MCCANN F. E., HIDER R. C., FRAZER D. M., ANDERSON G. J., VULPE C. D., SIMPSON R. J., MCKIE A. T., 2005. *Identification of an intestinal hemetransporter*. *Cell* 122, 789–801.
- SHI H., BENCZE K., Z., STEMMLER T., L., PHILPOTT C., 2008. *A cytosolic iron chaperone that delivers iron to ferritin*. *Science* 320, 1207–1210.
- SIKORSKA K., BIELAWSKI K.P., ROMANOWSKI T., STALKE P., 2006. *Hereditary hemochromatosis: the most frequent inherited human disease*. *Post. Hig. Med. Dosw.* 60, 667–676.
- STARZYŃSKI R. R., LIPIŃSKI P., 2003. *IRP1, białko kontrolujące homeostazę żelaza w komórkach ssaków: regulacja jego aktywności przez jony żelaza i tlenek azotu*. *Post. Biol. Kom.* 30, 497–514.
- STYS A., GALY B., STARZYŃSKI R.R., SMUDA E., DRAPIER J.C., LIPIŃSKI P., BOUTON C., 2011. *Iron regulatory protein 1 outcompetes iron regulatory protein 2 in regulating cellular iron homeostasis in response to nitric oxide*. *J. Biol. Chem.* 286, 22846–22854.
- SUZUKI Y.A., SHIN K., LÖNNERDAL B., 2001. *Molecular cloning and functional expression of a human intestinal lactoferrin receptor*. *Biochemistry* 40, 15771–15779.
- VASHISHT A. A., ZUMBRENNEN K. B., HUANG X., POWERS D. N., DURAZO A., SUN D., BHASKARAN N., PERSSON A., UHLEN M., SANGFELT O., SPRUCK C., LEIBOLD E. A., WOHLSCHEGEL J. A., 2009. *Control of iron homeostasis by an iron-regulated ubiquitin ligase*. *Science* 326, 718–721.
- VIATTE L., VAULONT S., 2009. *Hepcidin, the iron watcher*. *Biochimie* 91, 1223–1228.
- VOLZ K., 2008. *The functional duality of iron regulatory protein 1*. *Curr. Opin. Struct. Biol.* 18, 106–111.
- WEST A. R., OATES P. S., 2008. *Mechanisms of heme iron absorption: current questions and controversies*. *World J. Gastroenterol.* 14, 4101–4110.
- YOUNG M. F., GRIFFIN I., PRESSMAN E., MCINTYRE A. W., COOPER E., MCNANLEY T., HARRIS Z. L., WESTERMAN M., O'BRIEN K. O., 2010. *Utilization of iron from an animal-based iron source is greater than that of ferrous sulfate in pregnant and non-pregnant women*. *J. Nutr.* 140, 2162–2166.