

Metabolismus železa a jeho regulace

Sedláčková T., Racek J.

Ústav klinické biochemie a hematologie LF UK a FN v Plzni

SOUHRN

Železo je důležitý biogenní stopový prvek (ve formě hemu je obsaženo v hemoglobinu, myoglobinu či cytochromech, některé sloučeniny obsahují železo vázané na atom síry, např. akonitáza, uplatňuje se i v imunitním systému). Patří mezi přechodné kovy, a proto se může ve formě Fe^{2+} účastnit tzv. Fentonovy reakce, při které dochází ke vzniku nebezpečného a pro organismus toxického hydroxylového radikálu. Metabolismus železa proto musí být velmi přísně regulován – oxidací Fe^{2+} na Fe^{3+} ceruloplasminem a jeho inaktivací vazbou na specifické proteiny (transferrin, ferritin nebo laktoferrin) nebo jeho chelatací. Přebytké železo nemůže být z organismu vyloučeno, proto je regulován především jeho příjem.

Regulace metabolismu železa probíhá jak na buněčné, tak na systémové úrovni. Na buněčné úrovni je zapojen systém Iron regulation proteins (IRPs)-Iron responsive elements (IREs), který řídí tvorbu proteinů, které se v metabolismu železa uplatňují, a to ovlivněním transkripce, změnou stability mRNA pro daný protein i změnou translace daného proteinu. Na systémové úrovni se v metabolismu železa uplatňuje nedávno objevený peptid hepcidin produkovaný především v hepatocytech, který má v organismu charakter hormonu. Cílovou molekulou hepcidinu je pravděpodobně ferroportin – exportér železa z buňky. Výsledkem působení hepcidinu je snížený export železa z enterocytů duodena a z makrofágů a tedy i snížený přísun železa transferrinem erytroblastům. Tím dojde ke snížení erythropoezy a k anémii.

Syntéza hepcidinu je regulována na úrovni transkripce (ovlivnění promotoru genu pro hepcidin a tedy tvorby mRNA). Jeho sekreci tlumí snížená zásoba železa, anémie a hypoxie, stimuluje ji nadbytek železa a především zánět (prostřednictvím IL-6). Zvýšená hladina hepcidinu při zánětu je tak důležitým faktorem pro vznik anémie chronických chorob.

Klíčová slova: železo, regulace, hepcidin.

SUMMARY

Sedláčková T., Racek J.: The metabolism of iron and its regulation

Iron is an important biogenic trace element (in the heme-form is contained in the hemoglobin, myoglobin or cytochromes, some compounds contain iron bound to sulphur atom (aconitase), iron also plays an important role in the immune system). Iron belongs to transition elements and thereby it can be involved in its ferrous form in Fenton reaction, which generates dangerous and toxic hydroxyl radical. Hence metabolism of iron must be strictly regulated – by ceruloplasmin oxidation of Fe^{2+} on Fe^{3+} and by inactivation of Fe^{2+} by its bond to specific proteins (transferrin, ferritin or lactoferrin) or its chelation. Iron excess cannot be eliminated thereby especially its uptake is regulated.

Iron metabolism is regulated both on cellular and systemic level. System Iron regulation proteins (IRPs) – Iron responsive elements (IREs) participates on cellular level. It controls the production of proteins involved in iron metabolism by interference of transcription, change in mRNA stability and change in translation.

Recently discovered peptide hepcidin produced especially in hepatocytes participates on systemic level. The target molecule for hepcidin is probably ferroportin – iron cell exporter. The impact of hepcidin is the decrease of iron uptake from duodenal enterocytes and macrophages and thereby the decrease of iron distribution in transferrin-form to erythroblasts. The result of hepcidin action is the decrease of erythropoiesis and anemia.

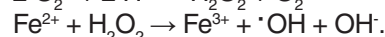
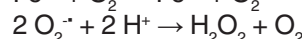
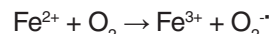
The hepcidin synthesis is regulated on transcription level (hepcidin gene promotor and production of mRNA is influenced). Hepcidin synthesis is decreased by low iron store, anemia and hypoxia, increased by high iron stores and especially in the state of inflammation (through IL-6). The higher level of hepcidin during inflammatory state is one of the important factors in anemia of chronic disease genesis.

Key words: iron, regulation, hepcidin.

Úvod

Železo je biogenní stopový prvek. Je životně důležitý pro mnohé organismy [1]. Je obsaženo v hemu v molekulách hemoglobinu, myoglobinu, cytochromů a jiných enzymů, některé sloučeniny obsahují železo vázané na atom síry, jako např. akonitáza, klíčový enzym citrátového cyklu. Má tedy důležitou roli v přenosu elektronů a kyslíku a v buněčném dýchání. Má rovněž význam pro buněčnou proliferaci a diferenciaci a pro regulaci genové exprese a uplatňuje se také ve funkcích imunitního systému. Je součástí NADPH-oxidázy potřebné k obraně proti mikrobům. Železo však může působit i toxicky. Řadí se totiž mezi přechodné prvky, což znamená, že má předposlední slupku obsazenou elektrony pouze neúplně a může se vyskytovat ve více mocenstvích. Tím má charakter

volného radikálu a významně se na reakcích volných radikálů podílí. Právě železnatý ion se uplatňuje v tzv. Haber-Weiss-Fentonově sekvenci, kdy Fe^{2+} iniciuje tvorbu peroxidu vodíku, který pak oxiduje ion přechodného kovu v nižším mocenství, přičemž touto reakcí vznikne velmi reaktivní hydroxylový radikál [2]:



Produkce volných radikálů pak může vést k závažným poškozením organismu, proto se organismus snaží této reakci zabránit, např. likvidací peroxidu vodíku pomocí katalázy a glutathionperoxidázy nebo oxidací Fe^{2+} na Fe^{3+} ceruloplasminem a jeho inaktivací vazbou na specifické proteiny – transferrin, ferritin nebo laktoferrin nebo jeho chelatací.

Metabolismus železa je regulován tak, aby ho bylo dostatek pro hemopoezu, ale zároveň aby se nikde nevyskytovalo ve dvoumocné formě. Jeho regulace probíhá jak na buněčné, tak na systémové úrovni. Organismus obsahuje v několika formách asi 4 g železa: vázané v hemu, vázané na síru cysteinu (akontitáza), ve vysokomolekulárních chelátech (transferrin, ferritin, laktoferrin, hemosiderin) a v nízkomolekulárních chelátech (fosfát, citrát, ATP a jiné nukleotidy). Toto množství je v podstatě stálé, protože denní příjem železa potravou vyrovnává pouze denní ztráty železa, jinak dochází k jeho recirkulaci v organismu. Neexistuje žádný mechanismus, který by zajistil vyloučení přebytečného železa, proto jsou jeho příjem a další distribuce v organismu velmi přísně řízeny řadou speciálních bílkovin a peptidů. Dalším důležitým důvodem pro přísnou regulaci železa je fakt, že bakterie ho využívají ke svému růstu a dokáží ho svými mechanismy přijímat i v prostředí, kde je ho velmi málo [3].

Uskladnění železa v organismu

Ferritin

Skladovací molekulou železa v buňce je ferritin. Je to jeden z nejstarších proteinů účastnících se metabolismu železa a je mezi druhy velmi podobný. Všechny savčí ferritiny jsou heteropolymery složené z 24 podjednotek. Známe dva typy těchto podjednotek: H (heavy, 21 kDa, bohatý výskyt v srdeční tkáni (H – také od heart)) a L (light, 19,5 kDa, bohatý výskyt v játrech (L – také liver)), přičemž oba typy těchto podjednotek jsou potřebné pro normální funkci ferritinu. Ve většině tkání obsahují ferritiny

2000–2500 atomů železa [2]. Podjednotka H molekuly ferritinu má ferroxidázovou aktivitu, proto je železo uskladněno ve formě Fe^{3+} [4, 10]. Exprese ferritinů je regulována na posttranskripční úrovni regulačním systémem IREs-IRPs.

Hemosiderin

Hemosiderin je špatně ohraničený a ve vodě nerozpustný protein, jenž je pravděpodobně výsledkem nekompletní lyzozomální degradace ferritinu. V organismu se ho nachází jen malé množství. Je prostudován mnohem méně než ferritin.

Transport železa v organismu

Transferrin

Transportní molekulou železa je transferrin. Všechny transferriny obratlovců jsou jednořetězcové glykoproteiny o 80 kDa, obsahující dvě strukturálně podobná, ale funkčně odlišná vazebná místa pro atomy železa. Za normálních okolností je všechno nehemové železo v oběhu vázáno na transferrin, jehož saturace vazebných míst se pohybuje okolo 30 %. Při nadbytku železa v organismu a obsazení všech vazebných míst transferrinu se v organismu objeví volné železo (NTBI – NonTransferrin-Bound Iron), obvykle ve formě Fe^{3+} vázané na citrát [2].

Metabolismus železa

Celkový přehled hospodaření organismu se železem je uveden na obrázku 1.

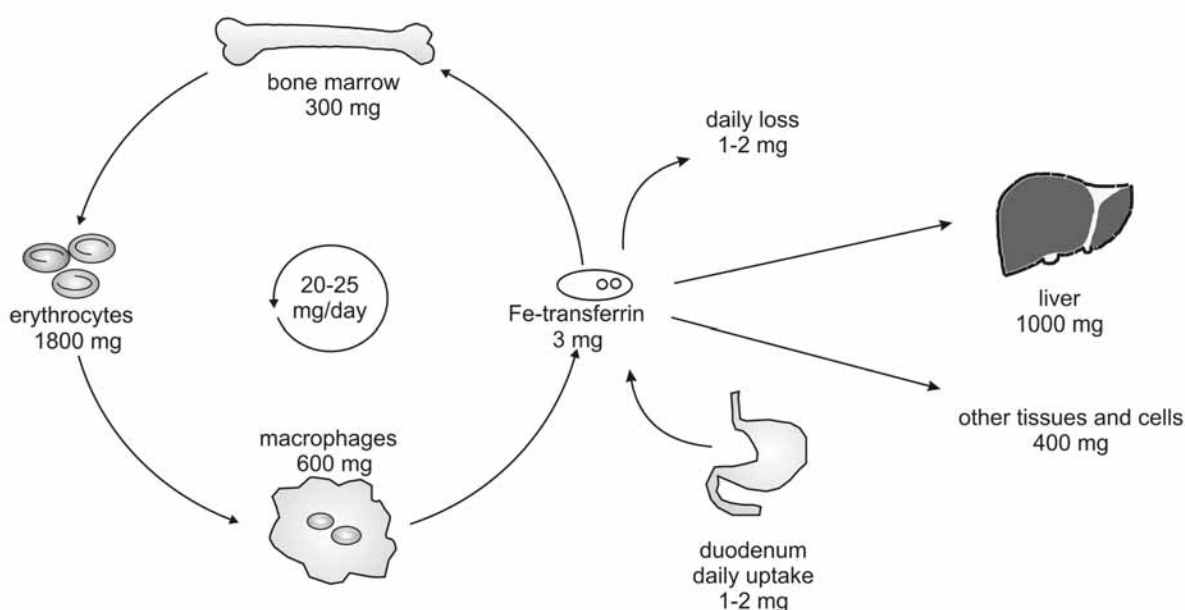


Fig. 1. Control of mammalian iron metabolism

Vstřebávání železa z potravy (obr. 2)

Železo obsažené v potravě je absorbováno kartáčovým lemem enterocytů duodena v hemové a nehemové formě. Nehemové železo (Fe^{3+}) pochází obvykle z rostlinné stravy a je do enterocytu vstřebáno pomocí transportéru DMT1 (DMT1 – divalent metal transporter 1) poté, co je redukováno na Fe^{2+} duodenálním cytochromem b (Dcytb – duodenal cytochrom b-like ferrereductase) za účasti redukčních činidel, např. kyseliny askorbové nebo některých aminokyselin, jako jsou cystein či histidin [4, 5]. Hem obsažený v živočišné stravě je do enterocytu absorbován pomocí transportéru HCP

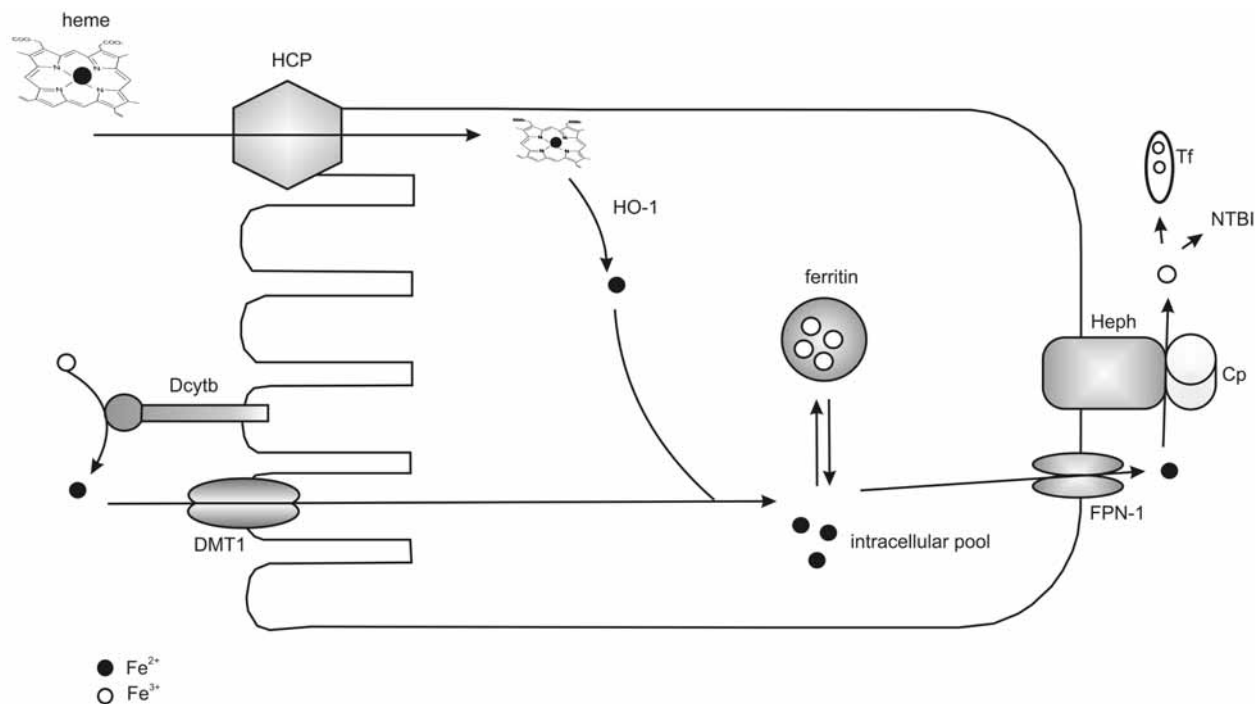


Fig. 2. Intestinal iron uptake

HCP – heme carrier protein, Dcytb – duodenal cytochrome b-like ferrereductase, DMT1 – divalent metal transporter 1, HO-1 – hemoxygenase 1, FPN-1 – ferroportin, Heph – hephaestin, Cp – ceruloplasmin, Tf – transferrin

(HCP – heme carrier protein). V enterocytu dojde k jeho degradaci hemoxygenázou 1 (HO-1 – heme-oxygenase 1) [5, 6]. Přebytkový Fe^{2+} je navázán na buněčný ferritin (v trojmocné formě), a slouží tak jako intracelulární pool železa. Železo je z enterocytu uvolňováno do krve exportérem zvaným ferroportin (FPN-1) ve formě Fe^{2+} . Takto vyloučené železo je ihned oxidováno hefestinem – homologem ceruloplasminu a ve formě Fe^{3+} je v krvi navázáno na transportní protein transferrin [6, 7]. Denně jsou takto vstřebány 1–2 mg železa, které nahradí denní ztráty železa krvácením a odlupováním epitelálních buněk kůže a sliznic.

Recirkulace železa obsaženého v erytrocytech (obr. 3)

Erytrocyty mají průměrnou životnost cca 120 dní. Po této době jsou vychytávány makrofágy retikuloendotelového systému. Uvnitř makrofágů dochází k degradaci erytrocytů a uvolnění hemoglobinu. Hemoglobin je dále degradován na hem a globin. Z hemu se pomocí HO-1 uvolní železo (Fe^{2+}), které pak tvoří intracelulární pool [8, 9]. Rovněž hemoglobin z intravaskulárně hemolyzovaných erytrocytů je zpracován makrofágy RES. V plazmě

se váže na přenašeč haptoglobin a do buňky je přenesen pomocí receptoru CD136. Železo je pak z hemu uvolněno pomocí hemoxygenázy [9, 10]. Železo je z makrofágů exportováno ferroportinem, naváže se na transferrin a je znovu využito pro erythropoezu.

Metabolismus železa v hepatocytu (obr. 4)

Játra jsou největší zásobárnou železa v organismu. Přebývající železo je v nich ukládáno ve formě ferritinu a hemosiderinu. Malá část železa je uložena jako biologicky aktivní labilní intracelulární pool. Na povrchu hepatocytu jsou receptory pro transferrin – TfR1 a TfR2.

Po navázání transferrinu na TfR1 dojde k internalizaci endocytózou. Vytvoří se endozom, ve kterém se komplex TfR1 a transferrinu uvolní po poklesu pH protonovou pumpou. TfR1 se vrátí na povrch buňky a transferrin zpět do krve. Trojmocné železo uvolněné z transferrinu je redukováno ferrereduktázou a z endozomu uvolněno do cytoplazmy pomocí DMT-1. V cytoplazmě je pak využito pro buněčné pochody a přebytek je vázán ve formě ferritinu. Příjem železa do buňky pomocí TfR1 je regulován proteinem HFE (hemochromatosis protein), který ještě interaguje s β_2 -mikroglobulinem. Transport železa do buňky prostřednictvím receptoru TfR2 se děje zřejmě stejným mechanismem, jeho afinita k transferrinu je však mnohem nižší. Existuje zřejmě ještě jiný transport železa do hepatocytu, který ale není závislý na receptorech. V případě, že je v organismu takový přebytek železa, že se vyčerpá kapacita transferrinu, dochází k jeho transportu do hepatocytu pomocí molekul DMT-1, ZIP-14 a kalciových kanálů. Z hepatocytu je železo exportováno opět pomocí ferroportinu a je následně oxidováno ceruloplasminem na Fe^{3+} a uloženo do transferrinu [7, 8, 10].

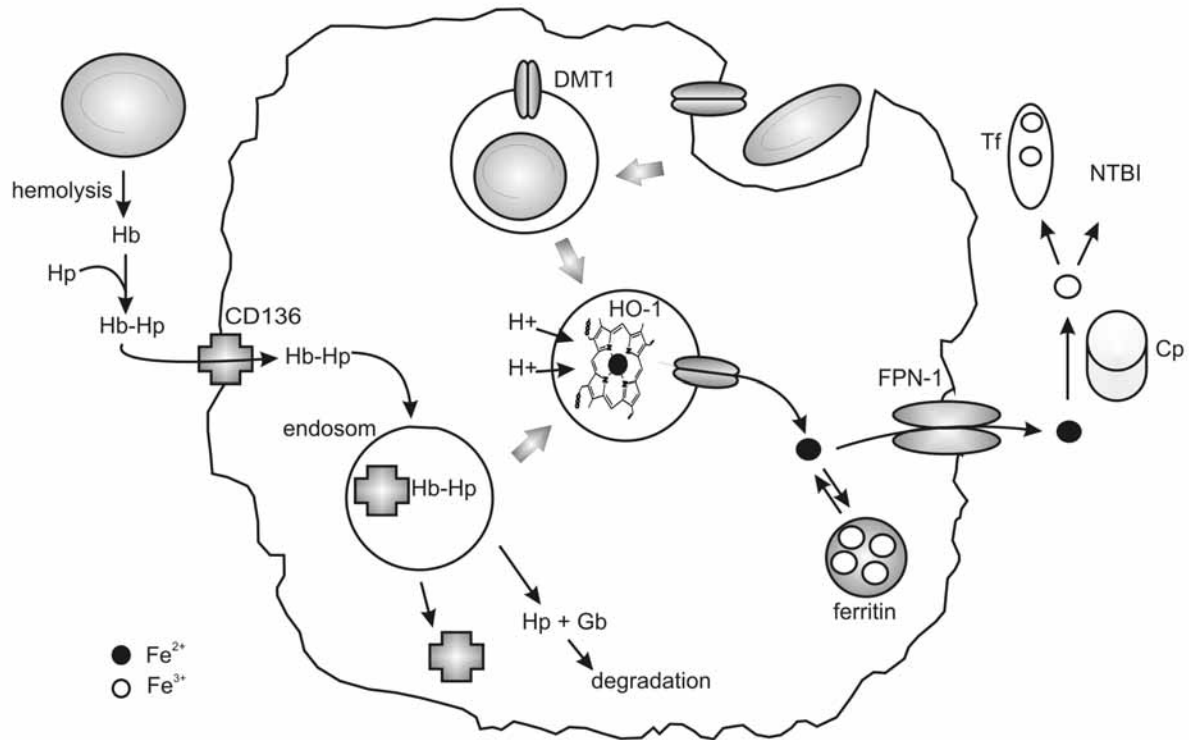


Fig. 3. Recirculation of erythrocyte iron in macrophage

Hb – hemoglobin, Hp – haptoglobin, DMT1 – divalent metal transporter, Gb – globin, HO-1 – hemoxygenasa 1, FPN-1 – ferroportin, Cp – ceruloplasmin, Tf – transferrin

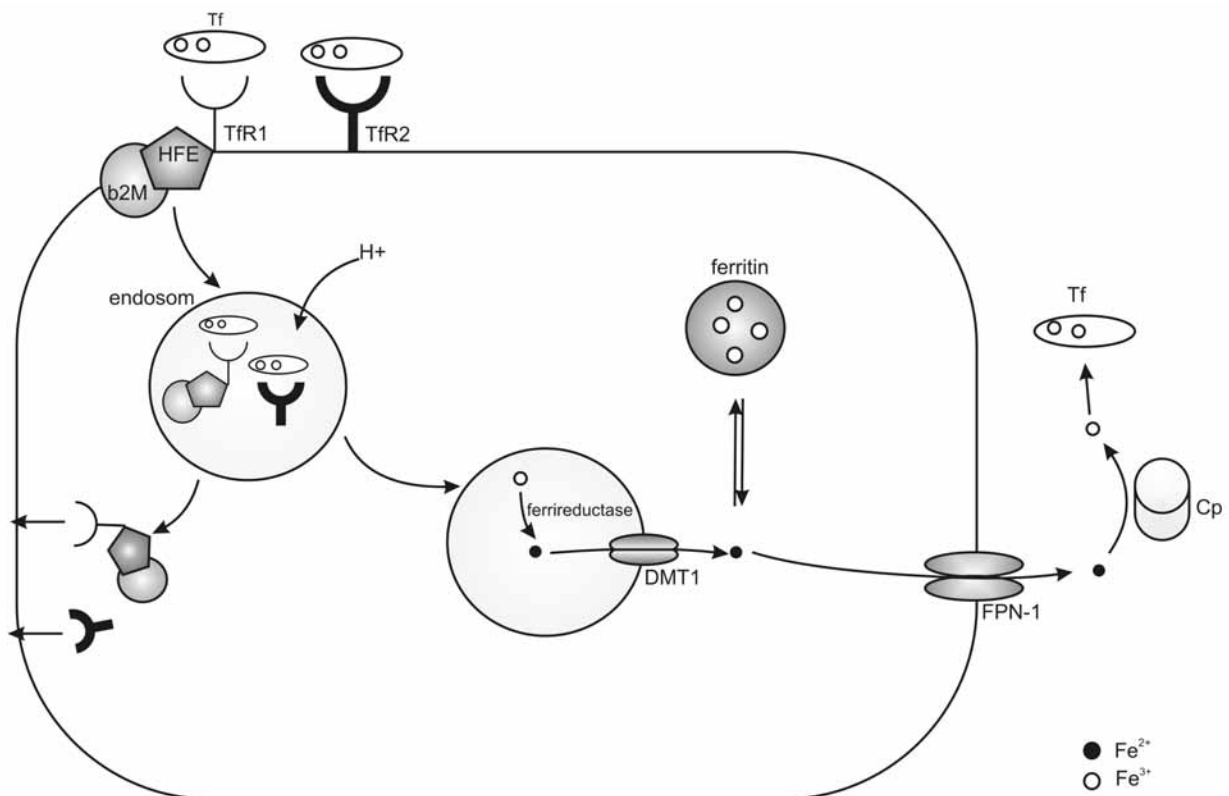


Fig. 4. Metabolism of iron in hepatocyte

Tf – transferrin, TfR1, TfR2 – receptors for transferrin, HFE – hemochromatosis protein, b2M – β₂-microglobulin, DMT1 – divalent metal transporter, FPN-1 – ferroportin, Cp – ceruloplasmin

Metabolismus železa v kostní dřeni a erythropoeza

Erytroblasty v kostní dřeni potřebují velké množství železa pro tvorbu hemoglobinu. Na povrchu erytroblastů je obrovské množství receptorů TfR1, na které se naváže transferrin. Uvnitř erytroblastů se železo přesune do mitochondrií a začlení se do centra hemového kruhu, vzniklého kondenzací δ -aminolevulové kyseliny [9].

Regulace metabolismu železa na buněčné úrovni

Na buněčné úrovni je v regulaci metabolismu železa posttranskripčně zapojen systém Iron responsive proteins (IRPs)-Iron responsive elements (IREs). IREs jsou vlásenkovité struktury na obou koncích netranslatovaných úseků (UTR – untranslated region) mRNA, které kódují vlastní, železem regulovaný protein. IRPs jsou proteiny, vážící se na IREs za předpokladu, že je v organismu nedostatek železa. Jejich vazba pak ovlivňuje aktivitu vlastního kódujícího úseku mRNA, čímž se ovlivní tvorba proteinů uplatňujících se v metabolismu železa, a to hlavně na úrovni translace – zvýšením stability mRNA (vazba na 3' konec) nebo změnou transkrip-

ce enzymu syntézy porfyrinů) a ferroportinu (buňka zadrží železo uvnitř). Ve stavu přebytku železa brání cluster IRP1 interakci s IRE pro transferrin, čímž dojde k destabilizaci této mRNA a snížené expresi transferrinu. IRP2 se vážou na IREs pro transferrinový receptor TfR1 a pro DMT-1. Při nadbytku intracelulárního železa jsou IRP2 oxidovány a degradovány v proteazomech. Při nízkých intracelulárních hladinách železa IRP2 stabilizují příslušnou mRNA a tím posílí expresi proteinů důležitých pro přísun dalšího železa (volného i vázaného), tedy transferrinového receptoru 1 a DMT-1 (obr. 5).

Expresí IRPs je také kontrolována faktory, mezi které patří kyslíkové radikály (respektive ROS), oxid dusnatý a hypoxie [4, 10].

Systémová regulace železa

Dlouho se předpokládalo, že v krvi existuje nějaký faktor, který hraje roli v systémové regulaci železa. Během studia antimikrobiálních vlastností různých tělních tekutin byl v roce 2000 izolován nový peptid z lidské moči, který byl pojmenován hepcidin (na základě místa jeho syntézy v játrech hep- a antibakteriálních vlastností *in vitro*-cidin) [11].

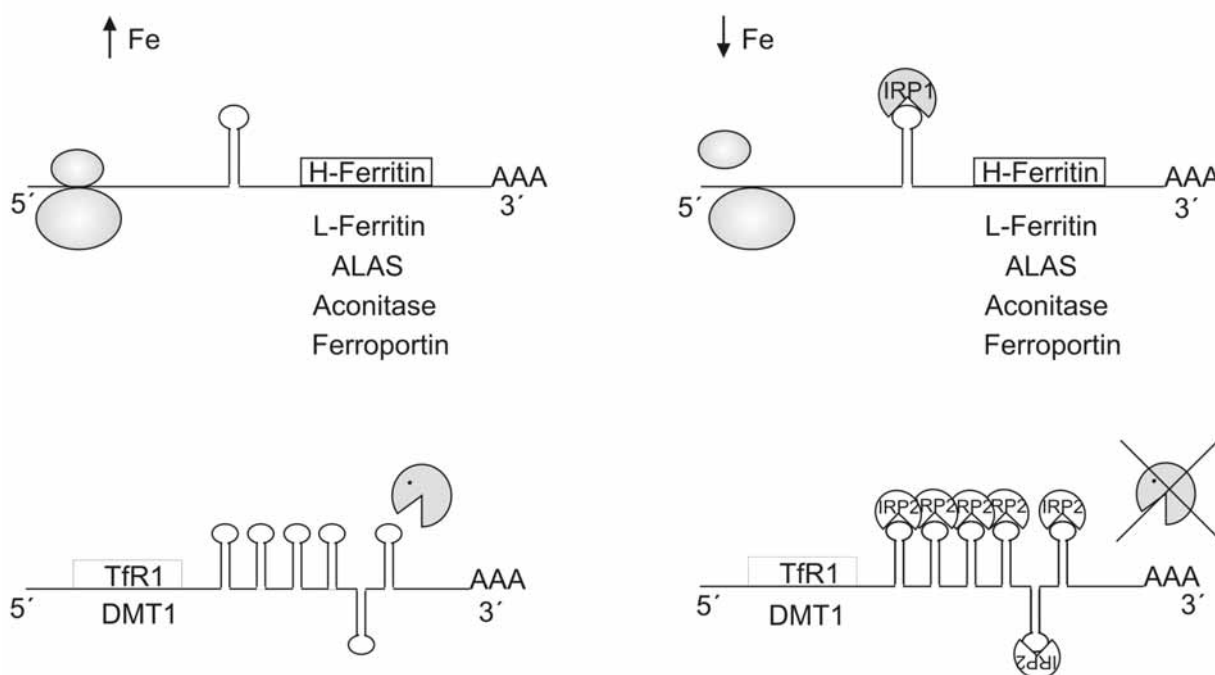


Fig. 5. Regulation of iron metabolism by IREs/IRPs system
ALAS – δ -aminolevulinat synthase

ce (vazbou na 5' konec). Prozatím byly identifikovány 2 typy IRP: IRP1 a IRP2. IRP1 se svou sekvencí podobá mitochondriální akonitáze, podobně jako akonitáza tvoří i cluster a má enzymatickou aktivitu. Ve stavu nedostatku železa v buňce se IRP1 vážou na IREs pro H- a L-řetězce ferritinu, δ -aminolevulátsyntázu, mitochondriální akonitázu a ferroportin, a zablokují tak translaci těchto proteinů. Nedojde tedy k syntéze ferritinu (který nemá co skladovat), δ -aminolevulátsyntázy (klíčového

Nezávisle na této studii byl tentýž peptid izolován i z ultrafiltrátu lidské plazmy a byl pojmenován LEAP-1 (liver-expressed antimicrobial peptide) [12]. Posléze se ukázalo, že právě hepcidin splňuje roli v systémové regulaci metabolismu železa.

Jde o kationický peptid složený z 25 aminokyselin propojených čtyřmi disulfidickými můstky. Celá molekula má tvar vlásky. Lidský hepcidin vzniká odštěpením C-terminální části prekurzoru preprohepcidinu složeného

z 84 aminokyselin. Preprohepcidin je kódován jedním genem na chromozomu 19 (u myši je kódován dvěma geny) [11]. Překvapivým zjištěním bylo, že na rozdíl od jiných antimikrobiálních peptidů jsou sekvence hepcidinu nápadně podobné u různých druhů savců, což naznačuje, že se v průběhu evoluce příliš neměnily. Kromě hepcidinu o 25 aminokyselinách se v moči objevují také formy o 20 a 22 aminokyselinách.

Struktura hepcidinu a místo jeho syntézy (játra) připomíná drosomycin, což je peptid s čtyřmi disulfidickými vazbami produkovaný tukovým tělískem drosophily (ekvivalent jater). Hepcidin i drosomycin patří do skupiny β -defensinů, které mají úlohu v obraně organismu před infekcí [11].

Studiem hepatální odpovědi na přebytek železa u myši bylo zjištěno, že místem exprese hepcidinu jsou především játra; mRNA hepcidinu byla indukována nejen dietním a parenterálním přebytkem železa, ale také podáním lipopolysacharidu. Navíc myši, kterým chyběl gen pro β_2 -mikroglobulin (myši model hemochromatózy), vykazovaly zvýšenou hladinu mRNA pro hepcidin při normální dietě, ale při nízkém příjmu železa ne. Tyto výsledky vedly k závěru, že hepcidin je regulován nejen imunitními stimuly, ale i železem [13].

Náhodné zjištění, že u USF-2 knock-out myši (USF gen je lokalizován v blízkosti genu pro hepcidin) se vyvinul fenotyp spontánní hemochromatózy podobající se časné lidské hemochromatóze se zvýšeným obsahem železa v játrech a pankreatu a sníženým obsahem železa ve slezině. Játra těchto myši zároveň zcela postrádala obě mRNA pro hepcidin. Tím se dospělo k názoru, že hepcidin je negativním regulátorem příjmu železa v tenkém střevě a uvolnění železa z makrofágů [14], a také k tomu, že hepcidin by mohl být tím dlouho očekávaným regulačním hormonem metabolismu železa a že jeho nadprodukce během infekce a zánětu by mohla být příčinou anémie chronických chorob [15]. Role USF-2 však byla nejasná a dalším výzkumem se zjistilo, že u těchto transgenních myši došlo k efektu, který interferoval s transkripcí genu pro hepcidin, protože další linie USF-2 knock-out myši připravená jiným konstruktem vykazovala normální hladiny mRNA pro hepcidin a neměla žádné poruchy v metabolismu železa. Naopak transgenní myši, u kterých v játrech probíhala nadprodukce hepcidinu, umíraly krátce po narození na různé deficiencie železa a anémie, což naznačilo, že hepcidin rovněž blokuje transport železa přes placentu [16].

Regulace syntézy hepcidinu

Regulace syntézy hepcidinu probíhá na úrovni transkripce – je ovlivněn promotor genu pro hepcidin a tím i tvorba vlastní mRNA. Sekreci hepcidinu indukují zvýšená zásoba železa a především zánětlivý stav [17, 18]. Infekce a některé patogenní molekuly, např. lipopolysacharid, zřejmě působí na makrofágy (i na jaterní Kupfferovy buňky), které tak produkují IL-6. Tento cytokin pak v hepatocytech indukuje produkci mRNA pro hepcidin [17], a způsobuje tak hypoferrémii v důsledku zánětu [19]. Naopak mezi negativní faktory pro syntézu hepcidinu patří hypoxie, snížená zásoba

železa a anémie [16, 18]. Snížením hladiny hepcidinu může organismus lépe vstřebat železo z potravy a také ho více uvolnit z makrofágů, aby mohlo být využito v erythropoeze.

Působení hepcidinu v organismu

Hepcidin má v organismu charakter hormonu, ačkoli ještě nebyl definován jeho receptor. Cílovou strukturou hepcidinu je zřejmě molekula ferroportinu. Navázáním hepcidinu na ferroportin dochází k internalizaci ferroportinu do buňky a k jeho následné degradaci [20]. Tím se sníží export železa z buňky. Tento mechanismus vysvětluje regulaci absorpce železa, protože enterocyty plní svou funkci pouze asi 2 dny před tím, než se odloupnou ze střevní sliznice. Jsou-li zásoby železa v organismu normální nebo vysoké, dojde k produkci hepcidinu, který tak způsobí internalizaci ferroportinu a zabráni vstřebání železa do organismu. Je-li v organismu málo železa, dojde s supresi produkce hepcidinu, ferroportin se opět objeví na bazolaterální membráně enterocyty a železo tak může být transportováno z cytoplazmy enterocyty do plazmy, kde se naváže na transferrin. Podobně lze vysvětlit i regulaci recyklace železa v makrofágu a nález makrofágů obsahujících železo během zánětu, kdy dochází k nadprodukci hepcidinu. Za vysokých koncentrací hepcidinu se hepcidin váže na ferroportin, ten je internalizován a export železa z makrofágu se tak sníží. Zvýšená hladina hepcidinu také brzdí syntézu proteinů Dcytb a DMT-1 v enterocytech. Celkově zvýšená hladina hepcidinu v organismu znamená snížený příjem železa z potravy v enterocytech a jeho export z enterocytů a makrofágů. Tím se k erytroblastům nedostane jeho potřebné množství pro erythropoezu. Výsledkem je tedy snížení erythropoezy, anémie, ale také ukrytí železa před bakteriemi, které ho potřebují ke svému růstu.

Hepcidin a jeho vztah k anémii chronických chorob

Anémie chronických chorob je definována jako nízká hladina železa v krvi i za podmínek normálních zásob železa v organismu. Vzniká jako důsledek chronických infekcí, neinfekčních chronických zánětlivých onemocnění a některých nádorů, může se však rozvinout během několika dnů při sepsi. Anémie chronických chorob je charakterizována sníženou hladinou železa a sníženou vazebnou kapacitou transferrinu, zvýšenou hladinou ferritinu a přítomností železa v makrofázích kostní dřeně, která svědčí pro porušenou mobilizaci železa ze zásob organismu. Syntéza hepcidinu je zvýšena prostřednictvím různých zánětlivých cytokinů, hlavně pak IL-6. Protože většina železa vázaného na transferrin je směřována do oblasti kostní dřeně, znamená hyposiderémie způsobená přebytkem hepcidinu snížení hladiny železa využitelného pro erythropoezu. Hyposiderémie a anémie jsou tak zřejmě součástí obranné odpovědi na infekci [21]. Zvýšený hepcidin mohou vzácně mít také pacienti s nádorem na játrech, který hepcidin autonomně produkuje [22].

Role hepcidinu v anémii chronického renálního selhání

Anémie chronického renálního selhání má multifaktoriální patogenezi zahrnující deficit erythropoetinu,

zánět způsobený jak prvotní chorobou, tak komplikacemi při léčbě (nedokonalá biokompatibilita dialyzačních membrán) a účinky zvýšené retence hepcidinu v organismu v důsledku snížené glomerulární filtrace. Jak zánět, tak zvýšená retence hepcidinu v organismu vedou ke zvýšení koncentrace hepcidinu v krvi a k nedostatku železa pro erytropoezu [23].

Cílem léčby u nemocných s chronickým renálním selháním bude nejspíše ovlivnění průběhu chronického zánětu vývojem nových dialyzačních membrán a v budoucnu i ovlivnění metabolismu hepcidinu užitím jeho antagonistů.

Metody stanovení hepcidinu-25

Stanovení hepcidinu není pro svá technická omezení jednoduché. Lze jej stanovit pomocí metod hmotnostní spektrometrie (např. SELDI-TOF [24]), či pomocí kombinace kapalinové chromatografie a hmotnostní spektrometrie [25]. Imunoanalytické stanovení hepcidinu se dlouho nedařilo, protože molekula hepcidinu je poměrně malá a navíc svou strukturou velmi podobná u různých živočišných druhů. V současné době je už i toto stanovení možné [26] a na trhu se už objevily první soupravy ELISA pro stanovení hepcidinu.

Literatura

1. **Dunn, L. L., Rahmanto, Y. S., Richardson, D. R.** Iron uptake and metabolism in the new millenium. *Trends Cell Biol.*, 2006, 17, 2, p. 93–100.
2. **Aisen, P., Enns, C., Wessling-Resnick, M.** Chemistry and biology of eucaryotic iron metabolism. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2001, 33, 10, p. 940–959.
3. **Ganz, T.** Hpcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood*, 2003, 102, 3, p. 783–788.
4. **Hentze, M. W., Muckenthaler, M. U., Andrews, N. C.** Balancing Acts: Molecular control of mammalian iron metabolism. *Cell*, 2004, 117, 3, p. 285–297.
5. **Sharp, P., Srail, S. K.** Molecular mechanisms involved in intestinal iron absorption. *World J. Gastroenterol.*, 2007, 13, 35, p. 4716–4724.
6. **Kemna, E. H. J. M., Tjalsma, H., Willems, H. L., Swinkels, D. W.** Hpcidin: from discovery to differential diagnosis. *Haematologica*, 2008, 93, 1, p. 90–97.
7. **Frazer, D. M., Anderson, G. J.** Iron Imports. I. Intestinal iron absorption and its regulation. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2005, 289, 4, p. G631–G635.
8. **Kohgo, Y., Ikuta, K., Ohtake, T., Torimoto, Y., Kato, J.** Body iron metabolism and pathophysiology of iron overload. *Int. J. Hematol.*, 2008, 88, 1, p. 7–15.
9. **Siah, C. W., Trinder, D., Olynyk, J. K.** Iron overload. *Clin. Chim. Acta*, 2005, 358, 1-2, p. 24–36.
10. **Graham, R. M., Chua, A. C., Herbison, C. E., Olynyk, J. K., Trinder, D.** Liver iron transport. *World J. Gastroenterol.*, 2007, 13, 35, p. 4725–4736.

11. **Park, C. H., Valore, E. V., Waring, A. J., Ganz, T.** Hpcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J. Biol. Chem.*, 2001, 276, 11, p. 7806–7810.
12. **Krause, A., Neitz, S., Mägert, H.-J., Schulz, A., Forssmann, W.-G., Schulz-Knappe, P., Adermann, K.** LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett.*, 2000, 480, 2-3, p. 147–150.
13. **Pigeon, C., Ilyin, G., Courselaud, B., Leroyer, P., Turlin, B., Brissot, P., Loréal, O.** A new mouse liverspecific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J. Biol. Chem.*, 2001, 276, 11, p. 7811–7819.
14. **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. USA*, 2001, 98, 15, p. 8780–8785.
15. **Fleming, R. E., Sly, W. S.** Hpcidin: A putative iron-regulatory hormone relevant to hereditary hemochromatosis and the anemia of chronic disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, 98, 15, p. 8160–8162.
16. **Nicolas, G., Bennoun, M., Porteu, A.** Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, 99, 7, p. 4596–4601.
17. **Nicolas, G., Chauvet, C., Viatte, L., Dana, J. L., Bigard, X., Devaux, I., Beaumont, C., Kahn, A., Vaulont, S.** The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J. Clin. Invest.*, 2002, 110, 7, p. 1037–1044.
18. **Nemeth, E., Valore, E. V., Territo, M., Schiller, G., Lichtenstein, A., Ganz, T.** Hpcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood*, 2003, 101, 7, p. 2461–2463.
19. **Nemeth, E., Rivera, S., Gabayan, V., Keller, C., Taudorf, S., Pedersen, B. K., Ganz, T.** IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J. Clin. Invest.*, 2004, 113, 9, p. 1271–1276.
20. **Nemeth, E., Tuttle, M. S., Powelson, J., Vaughn, M. B., Donovan, A., Ward, D. M., Ganz, T., Kaplan, J.** Hpcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science*, 2004, 306, 5704, p. 2090–2093.
21. **Ganz, T.** Hpcidin and its role in regulating systemic iron metabolism. *Hematology*, 2006, p. 29–35.
22. **Weinstein, D. A., Roy, C. N., Fleming, M. D.** Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: implications for the anemia of chronic disease. *Blood*, 2002, 100, 10, p. 3776–3781.
23. **Ganz, T.** Molecular control of iron transport. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2007, 18, 2, p. 394–400.

Projekt podpořen VZ MSM 0021620819.

Do redakce došlo 11. 12. 2008.

Adresa pro korespondenci:

Ing. Terezie Sedláčková

Ústav klinické biochemie a hematologie LF UK a FN v Plzni

Alej Svobody 80

304 60 Plzeň

e-mail: sedlackovat@fnplzen.cz