

AVANCES EN EL METABOLISMO DEL HIERRO

AVANCES EN EL METABOLISMO DEL HIERRO

Hay cuatro grandes aportes últimos:

1. El descubrimiento del gen HFE
2. El descubrimiento de la hepcidina
3. El descubrimiento de numerosos transportadores de membrana del hierro
4. El hierro no ligado a la transferrina (HNLTL)

Gen y proteína HFE

Este gen comprende 7 exones, localizados en el cromosoma 18, y codifica una proteína del tipo HLA clase 1-like. El producto de este gen, la proteína HFE, posee un dominio transmembrana y 3 dominios globulares extracelulares. Esta proteína puede ser expresada sobre la membrana plásmica celular con la beta-2-microglobulina que está asociada con ella.

HFE ha sido detectada en el hombre por inmunolocalización, a lo largo del tubo digestivo, a nivel de los macrófagos y, en particular, a nivel de las células de Kupffer. Esta doble localización es importante debido al rol clave del tubo digestivo y de los macrófagos en el metabolismo del hierro. En el tubo digestivo, la localización citoplasmática o membranal de la proteína varía de acuerdo a la sección del tubo digestivo estudiada: en el duodeno donde se efectúa la absorción digestiva del Fe, la proteína se expresaría principalmente en la membrana citoplasmática basal de los enterocitos crípticos. Sin embargo, la proteína también ha sido puesta en evidencia a nivel de los otros enterocitos de la vellosidad intestinal. El ARNm de la HFE ha sido detectado en los hepatocitos de la rata.

Mutaciones del gen HFE y hemocromatosis genética.

a) Mutación C282 y fenotipo hemocromatósico.

La mutación C282 y del gen HFE (reemplazo de una cisteína por una tirosina en posición 282, ligada a una sustitución de una adenina por una guanina en posición 845 del ARN) es bastante frecuente en poblaciones de origen caucásico.

b) Otras mutaciones del gen HFE y sobrecargas de Fe.

Mutación H63D. Consiste en el reemplazo de una histidina por un ácido aspártico en posición 63, que resulta de una sustitución de una cistina por una guanina en posición 187 a nivel del exon 2.

No pueden coexistir las mutaciones C282 γ y H63D en un mismo alelo, sí pueden darse en diferentes alelos.-

No existe prácticamente la mutación H63D en estado heterocigoto.

c) Mutación S65C. Consiste en la sustitución de una serina por una cisteína en posición 65.- Es exclusiva en un solo cromosoma. Puede haber heterocigocia compósita.

HFE desempeña un rol en el metabolismo del Fe.

La consecuencia de la mutación de la HFE es la ruptura de un puente disulfuro que participa en la conformación globular de la porción extracelular, obstaculizando la asociación con la beta-2-microglobulina y perturbando así la expresión de la proteína sobre la membrana de las células.

Las mutaciones H63D y S65C no llevan a priori a modificaciones importantes de la zona de interacción con la beta-2-microglobulina y no generarían pues la expresión a nivel de la membrana.

Se confirma así el rol de la proteína HFE en el metabolismo del hierro.

DESCUBRIMIENTO DE LA HEPCIDINA

La hepcidina es una molécula que ha sido identificada en el hombre, primero en el plasma y en la orina, bajo la forma de un polipéptido de 25, 22 ó 20 aminoácidos. Estas diferentes formas son el resultado de un proceso de maduración de una pro forma de 84 aminoácidos, asegurado principalmente por el hígado y, en forma específica, por los hepatocitos.

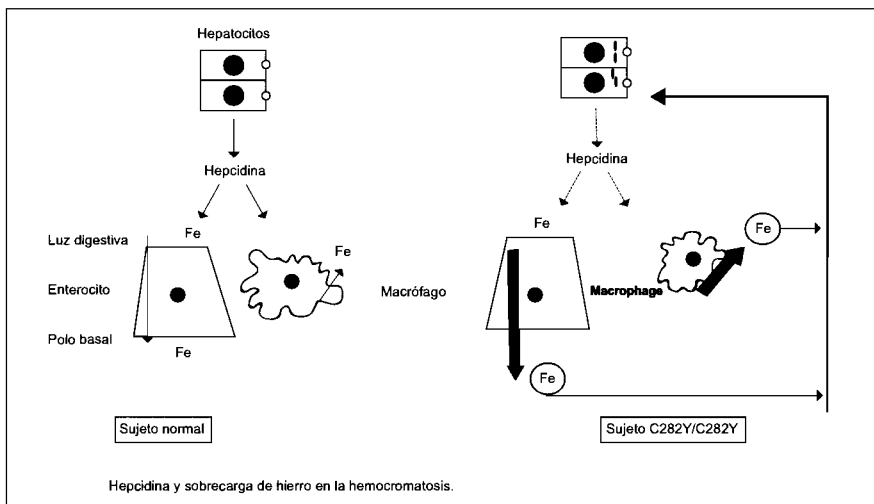
El gen humano que codifica a la hepcidina se localiza en el cromosoma 19.

La proforma de la hepcidina presenta 3 dominios sucesivos, que son una secuencia peptide-signal que orienta a la proteína hacia la vía de secreción, una porción intermedia y una porción terminal de la molécula, representada por sus 25 últimos aminoácidos que serían finalmente liberados gracias a la acción de proteínas de la familia de las convertasas, con un sitio potencial de clivaje localizado hacia atrás.

La forma madura de la proteína comprende 8 cisteínas sobre 25 aminoácidos. Esta riqueza en residuos de cisterna permite la creación de 4 puentes disulfuros, uno de ellos original, puesto que interesa a 2 aminoácidos vecinos. Estos puentes disulfuros permiten a la molécula adoptar una conformación tridimensional en 2 hojas beta antiparalelas ligadas por una estructura en asa.

La carga positiva de la molécula explica probablemente el efecto antimicrobiano de la molécula que es activa sobre ciertas bacterias y hongos.

Esta propiedad biológica ha hecho clasificar a esta molécula entre los péptidos antimicrobianos, directamente implicados en la defensa antimicrobiana innata. Parece pertenecer al grupo de proteínas de tipo de la reacción de fase aguda. La hipótesis formulada, en base a diversos trabajos experimentales, es que la hepcidina sería una hormona que regularía el metabolismo del hierro, controlando la absorción digestiva de Fe y su salida de los macrófagos. Los ratones que hiperexpresan el gen que codifica para la hepcidina 1, presentan una deficiencia de hierro mayor, letal al nacimiento. Un nivel pobre de hepcidina produciría una sobrecarga de Fe al favorecer su absorción digestiva y su liberación a partir de los macrófagos, anomalías observadas en el curso de la hemocromatosis genética. Un nivel elevado de hepcidina, en cambio, sería responsable de una carencia de hierro por limitación de la captación de Fe por el organismo y una retención de Fe en los macrófagos como se observa en el curso de las anemias ligadas a enfermedades inflamatorias crónicas:



Los mecanismos moleculares por los cuales la hepcidina pudiera controlar el metabolismo del hierro deberán ser precisados.

Descubrimiento de numerosos transportadores de membrana del hierro.

Durante mucho tiempo, el único transportador de membrana del hierro conocido

fue el receptor de la transferrina 1 (RTf1) Seis otras proteínas implicadas en el transporte del hierro a nivel de membrana, han sido recientemente identificadas:

- DMT1
- DC γ TB
- Ferroportina 1 (IREG1)
- Hefaestina
- Receptor de la transferrina de tipo 2 (RTf2)
- Transportador del hierro hemínico (TFeH)

Veámoslos brevemente por separado:

DMT1. Interviene en el transporte transmembranal apical del hierro a partir de la luz digestiva hacia el citoplasma del enterocito y su expresión está incrementada en el curso de la hemocromatosis HFE-1.

DC γ TB. Es una ferrireductasa expresada sobre la membrana luminal del enterocito apical, su actividad permite la captación del Fe⁺⁺ por el enterocito. Su expresión está aumentada en la hemocromatosis, de acuerdo con un aumento de la actividad ferrireductasa encontrada en esta afección. Existiría una regulación post-traduccional de la actividad de Dc γ tb en la hemocromatosis o quizás la intervención de otro tipo de reductasa férrica.

Ferroportina 1 (oIREG1). Se trata de una proteína localizada en la vertiente plasmática del enterocito apical. Contribuye a la salida del Fe de los enterocitos hacia la corriente plasmática. Interviene asimismo, en la salida plasmática del Fe a partir del macrófago y sin duda también de otros tipos celulares.

Hefaestina. De localización intracelular a nivel del enterocito apical y dotada de una actividad ferroxidasa, la hefaestina completaría la acción de la ferroportina para asegurar la expulsión del Fe intracelular a nivel del intestino.

Receptor de la transferrina de tipo 2 (RTf2).

Su gen se halla localizado sobre el cromosoma 7 y es expresado mayormente por los hepatocitos. En caso de mutación, se desarrolla un síndrome hemocromatósico muy próximo al que se observa en la hemocromatosis ligada a C282 γ .

Transportador del hierro hemínico (TfeH). Molécula nueva de mecanismo mal conocido, Una molécula candidata acaba de ser clonada.

Hierro no ligado a la transferrina (FNLT).

Presente en concentración mínima al estado normal, el FNLT está presente de manera cuantitativamente significativa en la sangre desde el momento en que la saturación de la transferrina se eleva por encima de 45%. La naturaleza bioquímica del FNLT permanece incompletamente conocida. Está ligado a ligandos de bajo peso molecular, de tipo citrato o acetato, pero puede también estar ligado a la albúmina. Su importancia fisiopatológica está en relación, por una parte, con su muy importante captación parenquimatosa (en particular hepatocitaria), no disminuida por el aumento de la tasa de hierro intracelular, por otra parte, con su fuerte propensión a ser citotóxica, vía la producción de radicales libres. El LPI (Labile Plasma Iron) parece corresponder a la fracción tóxica del FNLT.

El triptico enterocito-hepatocito-macrófago

En el estado normal.

El hierro férrico (Fe^{+++}) intraluminal es reducido a hierro ferroso (Fe^{++}) por acción de Dcytb), luego transportado a través de la membrana luminal por DMT1. En el interior del enterocito, puede ser stockeado en forma de ferritina o ser transportado hacia la membrana basolateral donde, tomado en cargo por la ferroportina, es exportado a la corriente sanguínea. Esta exportación implica asimismo a la hefaestina, que oxida al Fe^{++} , y lo convierte en Fe^{+++} , permitiendo entonces su captación por la apotransferrina.

El Fe transferrínico es sólo parcialmente de origen digestivo, su fuente principal (alrededor de 9/10ª parte) es el macrófago, después de la degradación de los eritrocitos senescentes. El destino del Fe ligado a la transferrina es minoritariamente, el hígado y, por otra parte, la médula ósea donde el Fe ha de servir para la síntesis de nuevos glóbulos rojos. El Fe es objeto de una eliminación por vía digestiva (exfoliación de las células intestinales), cutánea, urinaria y biliar, pero las pérdidas cotidianas de Fe son muy pequeñas, del orden de 1-2 mg por día. Ellas compensan exactamente la cantidad de Fe absorbida que no representa más que la 1/400ª parte del Fe total del organismo. Aparece pues que el metabolismo del Fe se efectúa en un verdadero circuito cerrado.

Regulación del hierro

A nivel intracelular, la homeostasis del Fe se halla asegurada por el sistema IRE

(Iron Regulatory Element)-IRP (Iron Regulatory Proteins): así en caso de elevación de la tasa de Fe intracelular y, particularmente, del LIP (Labile Iron Pool), la síntesis de ferritina se halla aumentada, permitiendo el almacenamiento del Fe excedente, y la expresión del receptor de la transferrina, disminuida (limitando la entrada de Fe a la célula). Un dispositivo adaptativo inverso se pone en funcionamiento en caso de disminución del contenido celular de Fe.

La hepcidina desempeña un rol crucial como regulador de la absorción digestiva del Fe. Así, en caso de disminución de la expresión del ARNm de la hepcidina por los hepatocitos, la absorción digestiva de Fe se incrementa y viceversa. Esta función de la hepcidina es determinante en la medida en que el organismo no es capaz de adaptar su metabolismo del Fe sino sólo jugando sobre su entrada digestiva, no siendo las vías de eliminación del Fe – o solamente muy poco – regulables.

El rol regulador del macrófago es, asimismo, determinante: además de la importancia cuantitativa ya mencionada del macrófago en la nueva puesta a disposición de la circulación del hierro proveniente de la eritrofagocitosis, una función esencial de regulación está atestada por la adaptación, demostrada desde hace mucho, de la liberación macrofágica del Fe en función de las necesidades de la médula ósea.

Hipótesis de la programación críptica.

Se propone que el contenido de Fe del enterocito críptico duodenal (célula no diferenciada) determina el grado de expresión de las proteínas de transporte membranar del Fe a nivel del enterocito apical (célula capacitada para expresar funciones diferenciadas en el curso de la ascensión villositaria). Así, una baja tasa de Fe al interior del enterocito críptico provocaría una hiperexpresión de los transportadores (en particular de DMT1), que conduce a una hiperentrada compensadora de Fe a partir de la luz duodenal y a la inversa. Este mecanismo supone que la hepcidina ejerce su acción a nivel críptico. Datos recientes sugieren que la hepcidina pudiera igualmente ejercer un efecto directo a nivel de las células enterocitarias apicales.

En efecto, en caso de una dieta pobre en Fe, se ha observado una hiperexpresión de DMT1, Dcytb y ferroportina en correlación inversa con la expresión de la hepcidina y ello en un lapso de tiempo tan rápido que es incompatible con el tiempo que sería necesario si el impacto de la hepcidina se realizara sólo a nivel críptico.

El estudio de la expresión de los transportadores enterocitarios de Fe bajo el efecto de variaciones de la carga alimentaria de Fe en ratas normales o ratones sla (que presentan una mutación de la hephaestina), indica que existe una regulación local de los transportadores luminales por la carga intraenterocitaria de hierro, mientras que los transportadores basolaterales responderían a las variaciones de las necesidades sistémicas de Fe. Sin embargo, los resultados experimentales son contradictorios. Es, por tanto, difícil concluir hoy en día en la veracidad de la hipótesis críptica.

Anemia inflamatoria.

Resulta notable que la síntesis de hepcidina sea estimulable no sólo por la sobrecarga de Fe sino también por la inflamación. Así pudiera explicarse, por lo menos en parte, la anemia crónica que se desarrolla en el curso de los síndromes inflamatorios crónicos. Se trata así de una nueva visión de la patología anémica en los diversos estados de inflamación crónica y pudiera, quizás, explicar algunos casos de anemia ferropénica refractaria, resistentes al tratamiento con hierro.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Parkkila S, Parkkila AK, Waheed A et al. Cell surface expression of HFE protein in epithelial cells, macrophages and monocytes. *Haematologica*, 2000, 85: 340-45.
2. Holmstrom P, Dzikaite V, Hulterantz R et al. Structure and liver cell expression pattern of the HFE gene in the rat. *J Hepatol*, 2003, 39: 308-14.
3. Krause A, Neitz S, Magert HJ et al. LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett*, 2000, 480: 147-50.
4. Park CH, Valore EV, Waring AJ et al. Hepsidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem*, 2001, 276: 7811-19.
5. Nemeth E, Valore EV, Territo M et al. Hepsidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II, acute-phase protein. *Blood*, 2003, 101: 2461-63.
6. Nicolas G, Benroun M, Porten A et al. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepsidin. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 4596-601.
7. Ganz T. Hepsidin, a Key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood*, 2003, 102: 783-88.
8. Bridle KR, Frazer DM, Wilkins SJ et al. Disrupted hepsidin regulation in HFE-associated haemochromatosis and the liver as a regulator of body iron homeostasis. *Lancet*, 2003, 361: 669-73.
9. Gunshin H, Mackenzie B, Berger UV et al. Cloning and characterization of a mammalian proton coupled metal-iron transporter. *Nature*, 1997, 388: 482-88.
10. Fleming MD, Trenor CC, Su MA et al. Microcytic anemia mice have a mutation in Nramp2, a candidate iron transporter gene. *Nat Genet*, 1997, 16: 383-86.
11. Zoller H, Koch RO, Theurl I et al. Expression of the duodenal iron transporters divalent-metal transporter 1 and ferroportin 1 in iron deficiency and iron overload. *Gastroenterology*, 2001, 120: 1412-19.
12. Zoller H, Theurl I, Koch RO et al. Duodenal cytochrome b and hephaestin expression in patients with iron deficiency and haemochromatosis. *Gastroenterology*, 2003, 125: 746-54.
13. Rolfs A, Bonkovsky HL, Kohroser JG et al. Intestinal expression of genes involved in iron absorption in humans. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2002, 282: G598-G607.
14. McKie AT, Barrow D, Latunde-Dada GO et al. An iron-regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron. *Science*, 2001, 291: 1755-59.
15. McKie AT, Marciani, Rolfs A et al. A novel duodenal iron-regulated transporter, REG 1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation. *Mol Cell*, 2000, 5: 299-309.
16. Donovan A, Brownlie A, Zhou Y et al. Positional cloning of zebrafish ferroportin 1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature*, 2000, 403: 776-81.
17. Ludwiczek S, Aigner E, Theurl I et al. Cytokine-mediated regulation of iron transport in human monocytic cells. *Blood*, 200, 101: 4148-54.

18. Vulpe CD, Kuo YM, Murphy, TL et al. Hephaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the sla mouse. *Nat Genet*, 1999, 21: 195-99.
19. Kawabata H, Yang R, Hiramata T et al. Molecular cloning of transferrin receptor 2. A new member of the transferrin receptor-like family. *J Biol Chem*, 1999, 274: 20826-32.
20. Kawabata H, Germain RS, /Kezoe T et al. Regulation of expression of murine transferrin receptor 2. *Blood*, 2001, 98: 1949-54.
21. Shayeghi M, Halliday N, Oakhill J et al. *Bioiron 2003*, Bethesda, MD, USA, Abstr.
22. Hider R C. Nature of iron transferrin-bound iron. *Eur J Clin Invest*, 2002, 32: 50-4.
23. Wright TL, Brissot P, Ma WL et al. Efficient clearance of non-transferrin-bound, iron clearance by the liver. *J. Biol Chem*, 1996, 261: 10909-914.
24. Brissot P, Pigeon G, Loréal O. Regulation of systemic iron transport and storage. In *Molecular and cellular iron transport*, New York, Basel, Edit Templeton DM, Marcel Dekker Inc., 2002: 597-612.
25. Frazer DM, Wilkins SJ, Becker EM et al. Hcpidin expression inversely correlates with the expression of duodenal iron. Transporters and iron absorption in rats. *Gastroenterology*, 2002, 123: 835-44.
26. Frazer DM, Wilkins SJ, Becker EM et al. A rapid decrease in the expression of DMT1 and DCTYB but not 1 reg 1 or hephaestin explains the mucosal block phenomenon of iron absorption. *Gut*, 2003, 52: 340-46.
27. Chen H, Su T, Attieh 2K et al. Systemic regulation of hephaestin and 1 reg 1 revealed in studies of genetic and nutritional iron deficiency. *Blood*, 2003, 102: 1893-99.
28. Frazer DM, Anderson GJ. The orchestration of body iron intake: how and when do enterocytes receive their clues? *Blood Cells Mol Dis*, 2003, 30: 289-97.
29. Loréal O, Brissot P. New regulatory molecules in the anemia of chronic diseases (in press).
30. Jou Anolle AM, Douabin-Gicquel V, Halimi C et al. Novel mutation in ferroportin 1 gene is associated with autosomal dominant iron overload. *J Hepatol*, 2003, 39: 286-89.