

Revisão / Review

Fisiologia e metabolismo do ferro

Iron physiology and metabolism

Helena Z. W. Grotto

O conhecimento sobre a fisiologia e metabolismo do ferro foi bastante incrementado nos últimos anos. A identificação de alguns genes e as repercussões quando de suas mutações, principalmente as relacionadas ao acúmulo de ferro, auxiliaram no entendimento dos mecanismos regulatórios responsáveis pela manutenção da homeostase desse nutriente essencial para numerosos processos bioquímicos. A função de diversas moléculas já está bem estabelecida, como da transferrina e seu receptor e, nas últimas décadas, novas moléculas têm sido identificadas, como a ferroportina, o transportador de metal divalente e hemojuvelina. Um elegante mecanismo de controle mantém o equilíbrio entre os processos de absorção do ferro, reciclagem, mobilização, utilização e estoque. Alterações no sincronismo desses processos podem causar tanto a deficiência como a sobrecarga de ferro, ambos com importantes repercussões clínicas para o paciente. Nessa minirevisão serão abordados aspectos relacionados ao metabolismo do ferro e à participação de várias proteínas e mediadores envolvidos. Serão também apresentados os mecanismos regulatórios celular e sistêmico responsáveis pela disponibilidade do ferro em concentrações ideais para a manutenção de sua homeostase. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2010;32(Supl. 2):8-17.

Palavras-chave: *Metabolismo do ferro; anemia ferropriva; sobrecarga de ferro; hepcidina; homeostase do ferro.*

Metabolismo do ferro

O ferro é um mineral vital para a homeostase celular. A sua habilidade em aceitar e doar elétrons o torna imprescindível para diversas reações biológicas. É componente essencial para a formação da molécula heme e participa da formação de diversas proteínas. Na forma de hemoproteína, é fundamental para o transporte de oxigênio, geração de energia celular e detoxificação. O heme é sintetizado em todas as células nucleadas, sendo que a maior quantidade é produzida pelo tecido eritroide. Sua síntese é controlada por mecanismos enzimáticos e de degradação, e esse controle tem que ser rigoroso, uma vez que o excesso de ferro irá reagir com o oxigênio gerando radicais hidroxil e ânions superóxidos (reação de Fenton). A ação desses radicais

sobre proteínas, lípidos e DNA causa graves lesões celulares e teciduais.^{1,2}

O heme é constituído por um anel tetrapirrólico com um íon central de ferro (Figura 1). Parte de sua síntese ocorre nas mitocôndrias e parte no citosol. Diversas enzimas estão envolvidas na formação do heme, conforme esquematizado na Figura 2. Tem como primeiro estágio a formação do ácido aminolevulínico a partir da condensação da glicina com a succinil Co-A, reação catalisada pela delta aminolevulínico sintetase 2 (ALAS-2) e requer a participação do piridoxal 5-fosfato (vitamina B6) como cofator. Um importante mecanismo de regulação da ALAS-2 acontece no nível de tradução da síntese proteica. O RNAm da ALAS-2 contém elementos reguladores do ferro (IRE= *iron regulatory elements*) na extremidade 5', que interagem com proteínas reguladoras do

Hematologista. Professor Associado do Departamento de Patologia Clínica da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp – Campinas-SP.

Departamento de Patologia Clínica. Faculdade de Ciências Médicas – Unicamp – Campinas-SP.

Correspondência: Helena Z W Grotto

Departamento de Patologia Clínica/FCM/Unicamp – CP 6111

Cidade Universitária Zeferino Vaz – Barão Geraldo,

13083-970 – Campinas-SP – Brasil

E-mail: grotto@fcm.unicamp.br

Doi:10.1590/S1516-84842010005000050

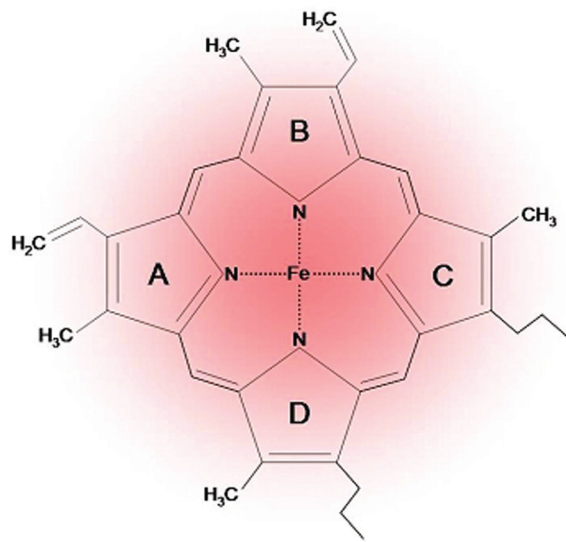


Figura 1. Estrutura do heme, mostrando o anel tetrapirrólico ao redor do átomo de ferro

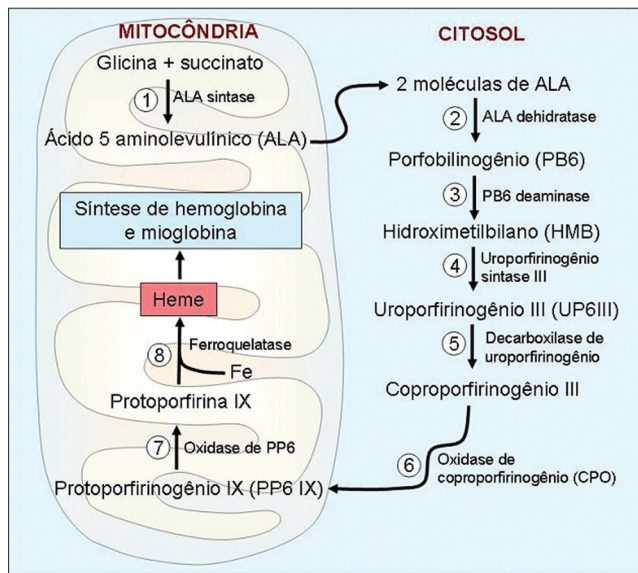


Figura 2. Esquema da biossíntese do heme

ferro (IRP= *iron regulatory proteins*) que se encontram no citosol. A formação do complexo IRE-IRP na extremidade 5' do RNAm impede a tradução do RNAm da ALAS-2. A afinidade do IRP ao IRE depende da quantidade de ferro dentro da célula. Em situações em que há excesso de ferro, a ligação IRP-IRE não ocorre, o que permite que a tradução prossiga. A ALAS-2, então, é expressa e inicia a biossíntese do heme para aproveitamento do ferro disponível. Quando há depleção do ferro, a formação do complexo IRP-IRE bloqueia a tradução, abolindo a expressão e atividade da ALAS-2, diminuindo, assim, a síntese do heme (Figura 3). Esse mesmo

mecanismo regula a expressão de outras proteínas envolvidas no metabolismo do ferro, como será visto com mais detalhe posteriormente. Por um processo aparentemente desconhecido, o ácido aminolevulínico passa da mitocôndria para o citosol, onde ocorre a dimerização, e duas moléculas de ALA são condensadas para formar o porfobilinogênio (PBG). Essa reação é catalisada pela desidratase aminolevulinato (ALAD). Pela ação da porfobilinogênio deaminase (PBGD) é formado um polímero de quatro moléculas de PBG, conhecido como hidroximetilbilano (HMB). O HMB serve como substrato para a uroporfirinogênio sintase III (URO3S), que catalisa a conversão do HMB para UPG III, primeiro elemento em anel ou cíclico. Uma forma isomérica metabolicamente inerte de UPG (UPG I) é formada espontaneamente e é parcialmente decarboxilada, produzindo o coproporfirinogênio I (Coprogen I), que é eliminado, não sendo convertido em heme. O UPG III é decarboxilado e quatro grupos acetato são removidos, gerando uma molécula hidrossolúvel, o Coprogen III. Essa reação é catalisada pela decarboxilase de uroporfirinogênio (UROD). A decarboxilação oxidativa de grupos propionato dos anéis pirrólicos A e B do Coprogen III leva à formação do PPG IX, reação catalisada pela oxidase de coproporfirinogênio (CPO). Essa enzima está localizada no espaço intermembrana da mitocôndria, ou seja, a reação iniciada na mitocôndria e depois localizada no citosol retorna agora para a mitocôndria, onde será finalizada. A oxidase de PPG (PPGO) oxida, então, o PPG IX e gera o Proto IX, capaz de incorporar o ferro para formar o heme, última etapa da reação que ocorre na superfície interna da membrana mitocondrial, onde o ferro é inserido no anel de Proto IX pela ação da ferroquelatase (FC). A FC é sintetizada no citosol e alcança a mitocôndria na forma de uma sequência conduzida por um peptídeo controlador, que é posteriormente clivado para produzir a forma madura da enzima. A expressão da FC é regulada pelos níveis de ferro intracelular e pela hipóxia. Assim, o grupo heme é formado por um anel tetrapirrólico contendo um átomo de ferro no seu interior (Figura 1). A degradação do heme vai gerar um tetrapirrólico linear, que é a biliverdina, que vai formar a bilirrubina, a ser excretada do fígado pela bile.³

A síntese do heme nas células eritroides está comprometida com a síntese de hemoglobina (Hb) nos eritroblastos. O segundo órgão que produz o heme é o fígado, cuja concentração de heme livre nos hepatócitos é estimada entre 0,05 e 0,2 μ M. Esse heme é incorporado nas hemoproteínas microsossomais, como a citocromo P450 e é controlado pela atividade da ALAS-N e pela degradação enzimática via hemoxigenase (revisado em^{2,4}).

Na homeostase do ferro, os mecanismos de excreção são menos desenvolvidos e eficazes do que aqueles que regulam a absorção e distribuição, e nesses processos várias células, hormônios e proteínas transportadoras do ferro estão envolvidas, como será visto a seguir.

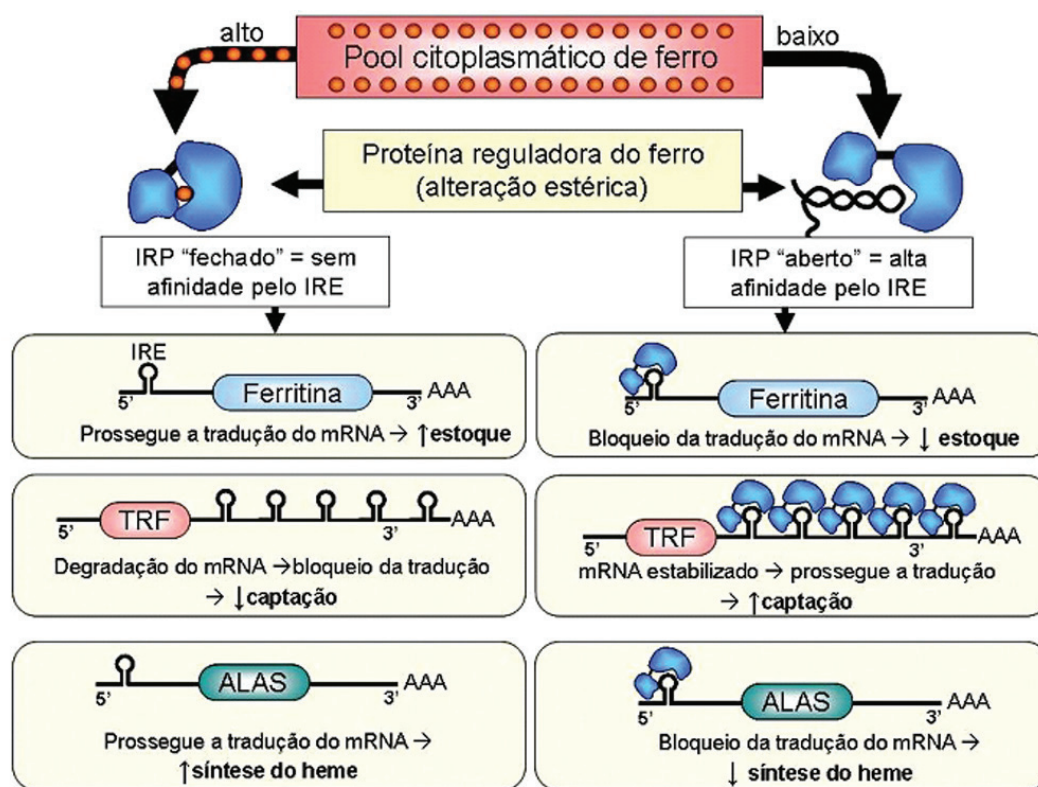


Figura 3. Homeostase do ferro intracelular

IRP: proteína reguladora do ferro; IRE: elementos responsivos ao ferro; Tfr: receptor da Tf; ALA-S: 5-aminolevulinato sintase.

À esquerda condições com altas concentrações de ferro intracelular. A não ligação do IRP ao IRE na extremidade 5' do mRNA favorece a síntese das proteínas (ferritina e ALA-S), enquanto na extremidade 3' bloqueia sua tradução (TFR), diminuindo a captação do ferro pela célula. À direita: condições com baixas concentrações de ferro intracelular. A ligação do IRP ao IRE leva à redução de estoque e da utilização do ferro para a síntese do heme e, por outro lado, estabiliza o mRNA do Tfr, favorecendo uma maior captação do ferro pela célula

Aquisição do ferro

O ferro utilizado pelo organismo é obtido de duas fontes principais: da dieta e da reciclagem de hemácias senescentes.

Absorção intestinal.

O ferro da dieta é encontrado sob duas formas: orgânica e inorgânica. Uma dieta normal contém de 13 mg a 18 mg de ferro, dos quais somente 1 mg a 2 mg serão absorvidos. A aquisição da forma heme corresponde a 1/3 do total e é proveniente da quebra da Hb e mioglobina contidas na carne vermelha. Ovos e laticínios fornecem menor quantidade de ferro heme, que é mais bem absorvido do que a forma inorgânica.⁵ O ferro inorgânico ou não heme é proveniente de vegetais e grãos e é encontrado principalmente na forma férrica (Fe⁺⁺⁺). Alguns fatores favorecem a absorção intestinal, como a acidez e a presença de agentes solubilizantes, como açúcares. A absorção acontece pelo epitélio duodenal superior, que apresenta estruturas vilosas para ampliar a superfície de absorção. O transporte do ferro do lúmen intestinal até a circulação sanguínea ocorre em três fases prin-

cipais: 1) captação e internalização na membrana apical do enterócito; 2) deslocamento intracelular, e 3) transporte para o plasma.⁶

1) Captação do ferro: A Figura 4 ilustra uma célula intestinal e a localização das proteínas envolvidas no processo de absorção. A transportadora de metal divalente 1 (DMT-1), também conhecida como Nramp2, é composta por 12 segmentos transmembrana e, além do ferro, transporta Mn²⁺, Co²⁺, Cu²⁺ e Zn²⁺. Para exercer sua função, a DMT-1 necessita que o ferro tenha sido convertido de Fe³⁺ para Fe²⁺, o que é mediado pela redutase citocromo b duodenal ou Dcytb⁸. A absorção do ferro heme é menos estabelecida. Aparentemente, a internalização é feita pela proteína transportadora do heme-1 (HCP1), recentemente descrita e posicionada na membrana apical das células do duodeno. No entanto, foi demonstrado que a HCP1 transporta o folato de maneira mais eficiente que o heme e questiona-se se a proteína seria um transportador bifuncional.⁸ O heme liga-se à membrana da borda em escova dos enterócitos duodenais e a proteína transportadora de 50-kDa com nove domínios transmembrana atravessa intacta a membrana plasmática, importando o heme

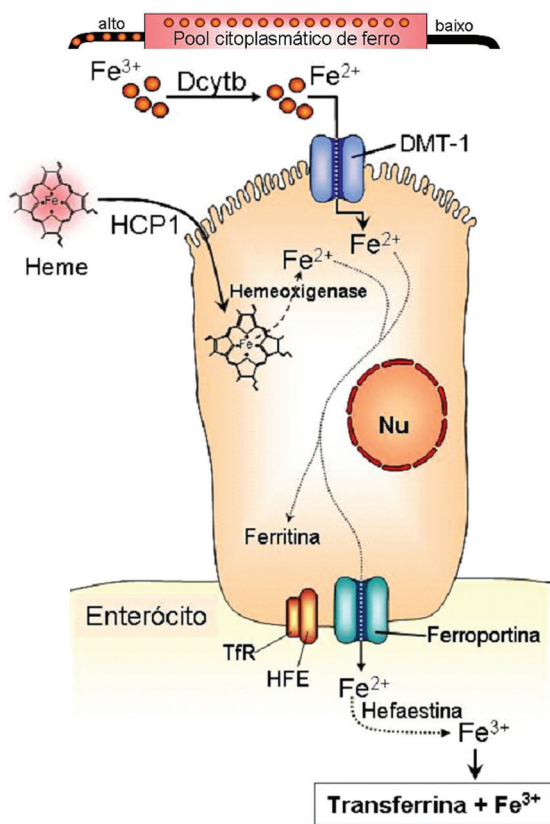


Figura 4. O enterócito e as proteínas envolvidas na absorção do ferro. Dcytb: ferredoxina; DMT-1: transportador de metal divalente-1; HCP-1: proteína transportadora do heme-1; NU: núcleo; HFE: proteína da hemocromatose; TfR: receptor

extracelular. A seguir, o heme apresenta-se ligado à membrana de vesículas no citoplasma da célula. A HCP1 também é expressa em outros locais, como o fígado e rins e sua regulação é feita de acordo com o nível de ferro intracelular: havendo deficiência de ferro, a HCP1 se redistribui do citoplasma para a membrana plasmática das células duodenais, enquanto em condições de excesso de ferro a redistribuição se dá a partir da borda em escova da célula para o seu citoplasma. Esse mecanismo regulador pós-tradução da proteína é interessante porque, de um lado, aproveita o heme da dieta antes que ele seja eliminado pelo peristaltismo do intestino e, no outro extremo, evita a captação desnecessária de ferro e o seu provável acúmulo. A hipóxia também induz a síntese da HCP1, facilitando a captação de heme quando há maior necessidade do organismo.⁹

2) transporte intracelular: no interior da célula, o ferro é liberado da protoporfirina pela heme oxigenase (HO). Após o ferro ser liberado, fará parte do mesmo *pool* de ferro não heme, tendo dois possíveis destinos dependendo da demanda de ferro. Se a necessidade for baixa ele permanecerá no enterócito sequestrado pela ferritina e será eliminado quando da descamação do epitélio intestinal. Se houver necessi-

dade de ferro pelo organismo ele será transportado para fora do enterócito em direção ao plasma para ser transportado pela transferrina (Tf).¹⁰

3) transporte para o plasma: O principal exportador do ferro da célula para o plasma é a ferroportina (FPN), também conhecida como IREG1. Possui 12 segmentos transmembrana e localiza-se na extremidade basolateral de vários tipos celulares, incluindo sinciotrofoblastos placentários, enterócitos duodenais, hepatócitos e macrófagos.¹¹ A FPN é crucial para a exportação do ferro celular e é o único mecanismo de efluxo do ferro. A expressão do mRNA da FPN está aumentada na deficiência de ferro e hipóxia. Como a DMT-1, a FPN também é seletiva para o ferro na forma Fe^{2+} . A FPN, além de exportador do ferro celular é também o receptor da hepcidina (HPN), importante regulador da aquisição do ferro, conforme será visto nas seções seguintes.¹²

Como a Tf sérica tem grande afinidade pelo ferro na forma férrica, o Fe^{2+} externalizado pela FPN deve ser oxidado para Fe^{3+} . A hefaestina, oxidase semelhante à ceruloplasmina sérica, é responsável por essa conversão. Mutações que inativam a FPN ou a hefaestina levam ao prejuízo na absorção e acúmulo de ferro no enterócito e nos macrófagos.¹⁰

Reciclagem do ferro pelos macrófagos

Como a maior parte do ferro no organismo está associada à molécula de Hb, a fagocitose e degradação de hemácias senescentes representam uma fonte importante de ferro (de 25 mg a 30 mg/dia). Essa quantidade de ferro reciclado é suficiente para manter a necessidade diária de ferro para a eritropoese.³

Macrófagos do baço e da medula óssea e, em menor extensão, células de Küpffer no fígado reconhecem modificações bioquímicas na superfície da hemácia que vão se acumulando à medida que a célula torna-se senescente, como peroxidação de lipoproteínas de membrana, perda de resíduos de ácido siálico e formação de neoantígenos, como moléculas modificadas da Banda 3.¹³ Essas alterações sinalizam para que o macrófago elimine essas células, processo conhecido como eritose, ou morte programada característica das células vermelhas, onde as células sofrem um "encolhimento" e externalização de fosfatidilserina, que será reconhecido pelo CD36, receptor da fosfatidilserina no macrófago. Após a reconhecimento dessas modificações por macrófagos da medula óssea, baço e fígado, as hemácias são internalizadas, com consequente degradação dos seus componentes.¹⁴ O catabolismo intracelular do heme é feito por um complexo enzimático ancorado na membrana do retículo endoplasmático e compreende uma NADPH-citocromo C redutase, a HO1 e a biliverdina redutase, e terá como produtos o CO, ferro e bilirrubina. A cadeia globínica, parte proteica da molécula de Hb, terá seus aminoácidos também reciclados e aproveitados na síntese de novas proteínas. O Fe^{2+} pode ser retido no

próprio macrófago dentro das moléculas de ferritina ou ser exportado pela FPN. Após a exportação pela FPN, o Fe^{2+} será oxidado pela ceruloplasmina, sintetizada no fígado. O Fe^{3+} será transportado pela Tf até os locais onde será reutilizado, predominantemente medula óssea, onde participará da hemoglobinizacão de novos eritrócitos.^{6,15}

Transporte e captação do ferro pelas células

Como foi mencionado, o ferro é transportado no plasma pela Tf, uma glicoproteína de 80 KDa sintetizada e secretada pelo fígado, além da retina, testículos e cérebro.¹⁶ Possui dois sítios homólogos, que em pH neutro podem transportar dois átomos de Fe^3 . Além de solubilizar o ferro, a Tf atenua sua reatividade e facilita a sua liberação para as células. Em condições normais, a Tf plasmática tem a capacidade de transportar até 12 mg de ferro, mas essa capacidade raramente é utilizada e, em geral, 3 mg de ferro circulam ligados à Tf, ou seja, 30% da Tf está saturada com o ferro. Quando a capacidade de ligação da Tf está totalmente saturada, o ferro pode circular livremente pelo soro, na forma não ligada à Tf (NTBI), que acumula nos tecidos parenquimais, contribuindo para o dano celular nos casos de sobrecarga de ferro. Quando complexado à Tf, a internalização do ferro é iniciada pela ligação desse complexo a um receptor específico (TfR) presente na superfície da maioria das células.¹⁷ Esse receptor é um homodímero transmembrana constituído de duas subunidades idênticas ligadas por pontes dissulfeto. Cada subunidade apresenta um domínio C-terminal extracelular, um domínio transmembrana e um pequeno domínio N-terminal citoplasmático. No domínio extracelular encontra-se o sítio de ligação para a molécula de Tf, enquanto no domínio citoplasmático, entre os domínios 20 e 23, encontra-se a sequência responsável pela endocitose do Tf complexado ao ferro.¹⁸

A afinidade do TfR à Tf diférrica parece ser determinada pela proteína produzida pelo gene da hemocromatose, a HFE, também presente na membrana plasmática dos eritroblastos. A interação Tf-TfR é facilitada pelo pH extracelular de 7,4 e, a partir dessa ligação, inicia-se o mecanismo de captação de ferro pela célula. O complexo Tf-TfR-HFE é internalizado por endocitose. Dentro do endossoma, a bomba de prótons dependente de ATP encarrega-se de reduzir o pH, facilitando a liberação do ferro da Tf, que permanece ligado ao seu receptor, e o complexo apoTf-TfR-HFE é reciclado de volta à superfície celular, quando então a apo-Tf é liberada do TfR. O ferro do endossoma atravessa a membrana da vesícula e alcança o citoplasma.³ A proteína DMT-1 é essencial para o efluxo do ferro do endossoma para o citoplasma. O ferro liberado pela Tf no endossoma está na forma férrica (Fe^{3+}) e a DMT-1 tem grande afinidade pelo Fe^{2+} . Uma ferreredutase recentemente identificada e denominada Steap 3 é responsável pela redução do ferro liberado pela Tf, que será então transferido para o citosol pela DMT-1.¹⁹ A incorporação do ferro ao anel de protoporfirina

irá formar o heme, que, em combinação com as cadeias de globina, formarão a molécula de Hb.

Há indícios que alguns sistemas são capazes de captar o ferro na ausência ou quando a Tf está saturada. Isso foi observado no coração e fígado; no entanto, os reticulócitos não são capazes de captar o ferro se o mesmo não estiver ligado à Tf.²⁰

Um produto da clivagem do TfR tecidual circula no plasma na forma solúvel do TfR (sTfR). A proteólise do TfR acontece próximo à 2ª ponte dissulfeto, na posição 100 da cadeia polipeptídica, numa ligação arginina-leucina. Ainda não está esclarecido em que momento ocorre essa proteólise e qual protease estaria atuando no processo. O que já está bem documentado é a correlação direta entre a quantidade de sTfR circulante e a TfR celular. A forma solúvel do receptor que circula no plasma reflete a massa de TfR celular, 80% dela nas células da linhagem eritrocítica da medula óssea. Assim, a concentração de sTfR circulante é determinada primariamente pela atividade medular eritroide. Situações caracterizadas por hipoplasia da série vermelha, como anemia aplásica ou insuficiência renal crônica, apresentam níveis reduzidos de sTfR, enquanto condições com hiperplasia eritroide, como anemia falciforme ou outras anemias hemolíticas crônicas, estão associadas com níveis elevados de sTfR. Outro fator que regula a expressão do TfR e, conseqüentemente, altera as concentrações circulantes do sTfR é o estado do ferro intracelular, mediado pelos IREs e as IRPs, mecanismo apresentado anteriormente (Figura 3). A deprivação de ferro favorece a formação do complexo IRE-IRP no mRNA do TfR, aumentando sua síntese. É o que pode ser observado em pacientes com anemia ferropriva que apresentam concentrações séricas elevadas de sTfR.^{21,22}

Um outro membro da família de TfR é o TfR2, bastante semelhante ao TfR descrito anteriormente, com 66% de similaridade na sequência de aminoácidos, mas que se expressa predominantemente no fígado e em algumas linhagens celulares, como a K562 (eritroleucemia) e HepG2 (hepatoblastoma). Aparentemente, o TfR2 tem atividade de captação do ferro, mas, diferentemente do TfR, tem uma afinidade muito baixa (cerca de 25 vezes menor) pela Tf diférrica.²³ Mutações no TfR2 têm sido descritas em pacientes com hemocromatose hereditária.²⁴

Transporte do ferro mitocondrial

A mitocôndria é essencial para o metabolismo do ferro, já que é o único local onde ocorre a síntese do heme e a biossíntese dos *clusters* Fe-S. Ainda não está totalmente esclarecido como ocorre a entrada do ferro na mitocôndria. Um modelo sugere que a liberação poderia ser feita diretamente do endossoma para a mitocôndria, desviando do citosol. Em reticulócitos, esse mecanismo estaria presente, conhecido como *kiss and run* entre as duas organelas. Outra possibilidade seria a presença de um transportador median-

do essa reação, a mitoferrina (SLC25A37), que tem grande afinidade pelo ferro. Em animais, mutações na SLC25A37 estão relacionadas com anemia hipocrômica grave, falta de ferro mitocondrial e atraso na diferenciação de eritroblastos imaturos (revisado em²⁵).

Após o ferro ser transportado através da membrana mitocondrial, a frataxina – proteína localizada na membrana interna e na matriz mitocondrial – regula sua utilização destinando o ferro à síntese do heme ou à gênese dos *clusters* Fe-S (Figura 5). A frataxina tem um papel importante ao formar um complexo com o ferro porque previne a formação de radicais livres na mitocôndria. Assim, a falta de frataxina promove o acúmulo de ferro mitocondrial, em detrimento do ferro citosólico. Pacientes com ataxia de Friedreich apresentam menor atividade de proteínas mitocondriais que contêm *clusters* Fe-S. A formação desses *clusters* é crítica para a prevenção do acúmulo do ferro e do estresse oxidativo.²⁶

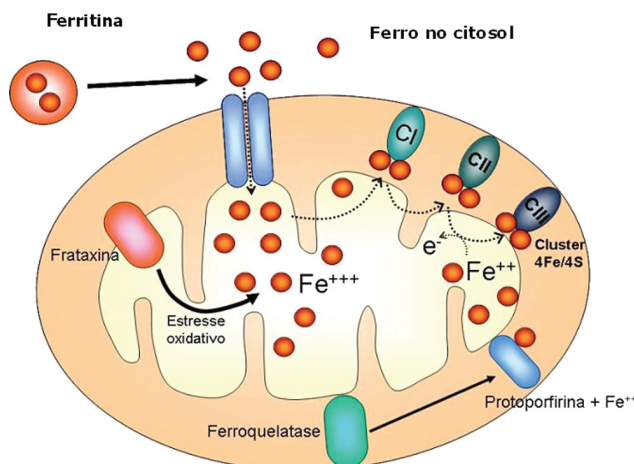


Figura 5. Internalização do ferro na mitocôndria e a regulação exercida pela frataxina na síntese do heme e dos *clusters* Fe-S. Conversão do ferro férrico em ferroso é importante para que a ferro quelatase reconheça o ferro e o incorpore ao anel pirrólico para formar o heme

A cadeia respiratória mitocondrial, com suas diversas subunidades envolvidas no transporte de elétrons, é importante na conversão do ferro férrico em ferroso, única forma química reconhecida pela ferroquelatase para ser incorporada ao anel pirrólico na finalização da síntese do heme. Mutações nas subunidades da cadeia respiratória mitocondrial têm sido reconhecidas como responsáveis por alguns tipos de anemias sideroblásticas adquiridas. Os transportadores responsáveis pela saída do heme da mitocôndria não estão bem definidos. Transportadores de membrana conhecidos como ABCB7 localizam-se na membrana interna da mitocôndria e exportam os *clusters* Fe-S para o citosol (revisado em²⁷).

Estoque do ferro

O ferro fica estocado nas células reticuloendoteliais do fígado, baço e medula óssea, nas formas de ferritina e hemossiderina. A apoferritina, a proteína livre do ferro, tem uma massa molecular de 46.000 Daltons e é composta de 24 subunidades que formam uma concha esférica. Esse núcleo central pode abrigar até 4.500 átomos de ferro na forma de hidroxifosfato férrico. A apoferritina contendo o núcleo férrico constitui a ferritina, a forma solúvel de armazenamento. Assim, a ferritina contém e mantém os átomos de ferro que poderiam formar agregados de precipitados tóxicos. De acordo com a proporção entre as subunidades de cadeias leves e pesadas, a isoferritina será mais ácida (rica em cadeias pesadas) ou mais básica (rica em cadeias leves). Essas últimas predominam nos tecidos comprometidos com a estocagem do ferro, como fígado e baço, enquanto a forma rica em cadeias pesadas predomina nos tecidos do coração e eritrócitos.^{3,5}

A hemossiderina corresponde à forma degradada da ferritina, em que a concha proteica foi parcialmente desintegrada, permitindo que o ferro forme agregados. Pode ser visualizada à microscopia óptica após a coloração com azul da Prússia ou reação de Perl, em que a hemossiderina cora com ferrocianeto de potássio na presença de ácido clorídrico.³

Homeostase do ferro

A homeostase do ferro é regulada por dois mecanismos principais: um deles intracelular, de acordo com a quantidade de ferro que a célula dispõe, e o outro sistêmico, onde a HPN tem papel crucial.

Regulação intracelular (Figura 3)

Para evitar excesso de ferro livre ou falta dele dentro da célula, proteínas reguladoras do ferro (IRP1 e IRP2) controlam a expressão pós-transcricional dos genes moduladores da captação e estoque do ferro. Em condições de baixa quantidade de ferro intracelular, essas proteínas vão se ligar a estruturas em forma de alças presentes nas regiões não codificadoras do mRNA, os IREs, que são sequências de mRNA constituídas de 30 nucleotídeos altamente conservados que podem estar localizadas nas regiões não codificadoras 3' ou 5'. Quando os IREs estão localizados na extremidade 3', a ligação com o IRP protege o mRNA da degradação e prossegue a síntese proteica. A ligação do IRP com o IRE localizado na extremidade 5' inibe a tradução do mRNA em proteína, diminuindo sua síntese. Por outro lado, em condições de excesso de ferro intracelular, as IRP seriam inativadas por dois mecanismos distintos: a IRP1, uma proteína citosólica bifuncional que contém um *cluster* Fe-S. Na presença de ferro, a IRP1 age como uma aconitase (interconvertendo citrato e isocitrato), e, na ausência de ferro, liga-se com grande afinidade aos IREs de vários transcripts da homeostase

do ferro. Por outro lado, a IRP2 é inativada por um mecanismo dependente de ferro, e, nas células repletas de ferro, não ocorre a ligação IRP2-IRE. Os elementos IRE localizados próximos à região não codificadora 3', quando não ligados ao IRP, permitem que haja a clivagem do mRNA e a síntese proteica é interrompida. A não ligação do IRP aos IRE localizados próximos à região 5' permite que o complexo de inicialização da tradução seja ativado, induzindo a síntese proteica.^{5,28,29}

A DMT-1 e a FPN apresentam estruturas "IRE-like", embora a função dos IREs nesses transportadores de ferro pareça ser mais complexa e ainda não totalmente esclarecida. Os níveis de mRNA da DMT-1 aumentam significativamente na deficiência de ferro em modelos experimentais, sugerindo que as IREs na região 3' podem mediar a expressão da DMT-1, estabilizando seu transcripto por um mecanismo ferro-dependente, embora não de maneira uniforme, entre as diversas células. A presença de estruturas "IRE-like" foi confirmada na região não traduzida 5' do mRNA da FPN. Estudos sugerem que a regulação de sua expressão ocorra em nível pós-transcricional e é mediada pelo sistema IRE-IRP, embora um mecanismo independente do IRE também participe da regulação da expressão da FPN em nível proteico.³⁰

Regulação sistêmica

Normalmente o ferro é eliminado do organismo pelas secreções corpóreas, descamação das células intestinais e epidermais ou sangramento menstrual. O organismo não possui um mecanismo específico para eliminar o excesso de ferro absorvido ou acumulado após a reciclagem do ferro pelos macrófagos. Assim, o controle do equilíbrio do ferro requer uma comunicação entre os locais de absorção, utilização e estoque. Essa comunicação é feita pela HPN, um hormônio peptídico circulante que tem um papel regulatório fundamental na homeostase do ferro, coordenando o uso e o estoque do ferro com a sua aquisição. Trata-se de um peptídeo antimicrobiano pertencente à família das defensinas e é mediador da imunidade inata, principalmente nos vertebrados inferiores. A atividade antimicrobiana é conferida pela propriedade da HPN em romper as membranas microbiais e na restrição da disponibilidade de ferro ao desenvolvimento microbiano.^{31,32} Nos vertebrados superiores, a sua atividade está muito mais relacionada à homeostase do ferro. O papel hormonal da HPN foi descoberto em experimentos animais, em que camundongos deficientes de HPN desenvolviam sobrecarga de ferro, especialmente no fígado, pâncreas e coração e, paradoxalmente, apresentavam depleção de ferro nos macrófagos. Por outro lado, animais que superexpressavam a HPN apresentavam anemia microcítica-hipocrômica ao nascimento e morriam rapidamente.³³ Ficou assim estabelecido que a HPN seria um regulador negativo do metabolismo do ferro. É codificada pelo gene HAMP, localizado no braço longo do cromossoma 19 e possui três exons. É sintetizada pelo fígado na forma de um propeptídeo de 84

aminoácidos (aa) e subsequentemente processada e secretada na circulação, onde é detectada no plasma e na urina como um peptídeo de 25 aa. Fragmentos de 22 e 20 peptídeos são também encontrados, mas não são biologicamente ativos.^{34,35}

A FPN é o receptor da HPN, e a interação HPN-FPN controla os níveis de ferro nos enterócitos, hepatócitos e macrófagos. O complexo HPN-FPN é internalizado nos domínios da membrana basolateral dos macrófagos. Ocorre então a fosforilação da tirosina em um dos domínios citoplasmáticos da FPN, com internalização da proteína, defosforilação, ubiquitinação e degradação de ambas as proteínas no componente lisossomal do endossoma. Desse modo, o ferro não é externalizado, levando ao aumento dos níveis de ferro no citosol que serão estocados como ferritina. Como consequência ocorre o acúmulo de ferro nos hepatócitos e macrófagos. A redução da passagem do ferro para o plasma resulta na baixa saturação da Tf e menos ferro é liberado para o desenvolvimento do eritroblasto (Figura 6) (revisado em¹⁶).

Regulam a expressão da HPN o estado do ferro (a sobrecarga de ferro aumenta sua expressão, enquanto a anemia e hipoxemia reduzem-na) e o estado inflamatório, em que a IL-6 tem um papel fundamental.³⁶ Trabalhos experimentais mostraram que a infusão de IL-6 estimula rapidamente a excreção urinária de HPN e induz à hipoferremia. Foi demonstrado que a IL-6 age diretamente nos hepatócitos estimulando a produção de HPN.³⁷

A relação entre a HPC e as doenças com acúmulo de ferro, as hemocromatoses, veio do conhecimento que as hemocromatoses hereditárias (HH) primárias cursavam com produção inadequada de HPC em relação aos estoques de ferro no organismo. Bridle *et al.*³⁸ observaram que níveis de RNAm de HPC em pacientes com HH estavam inapropriadamente baixos para os estoques de ferro. Outros estudos mostraram que indivíduos com hemocromatose juvenil apresentavam níveis de HPC urinária muito baixos, a despeito do acúmulo de ferro.³⁹ As moléculas HFE, hemojuvelina (HJV) e TfR2 regulam a expressão da HPC de acordo com os níveis de ferro circulantes. Havendo aumento dos níveis de ferro elas estimulam a síntese de HPC pelo fígado, que vai inibir a absorção do ferro intestinal e a liberação do ferro dos macrófagos, restabelecendo o equilíbrio do ferro. Mutações nessas proteínas causam alterações nesses mecanismos regulatórios, levando à redução na expressão da HPN 1. Assim, a deficiência de HPC e, consequentemente, o excesso de FPN levariam a uma liberação exagerada de ferro dos enterócitos e macrófagos, com contínua absorção intestinal e acúmulo de ferro nos tecidos parenquimais. Aparentemente a HJV é um correceptor das BMPs (*bone morphogenetic protein*), citocinas com importantes funções na regulação da proliferação, diferenciação, apoptose e migração tecidual. A BMP e seu receptor fosforilam proteínas intracelulares conhecidas como RSmad. O complexo HJV-BMP2 - BMPReceptor (BMPR) é deslocado para dentro do núcleo

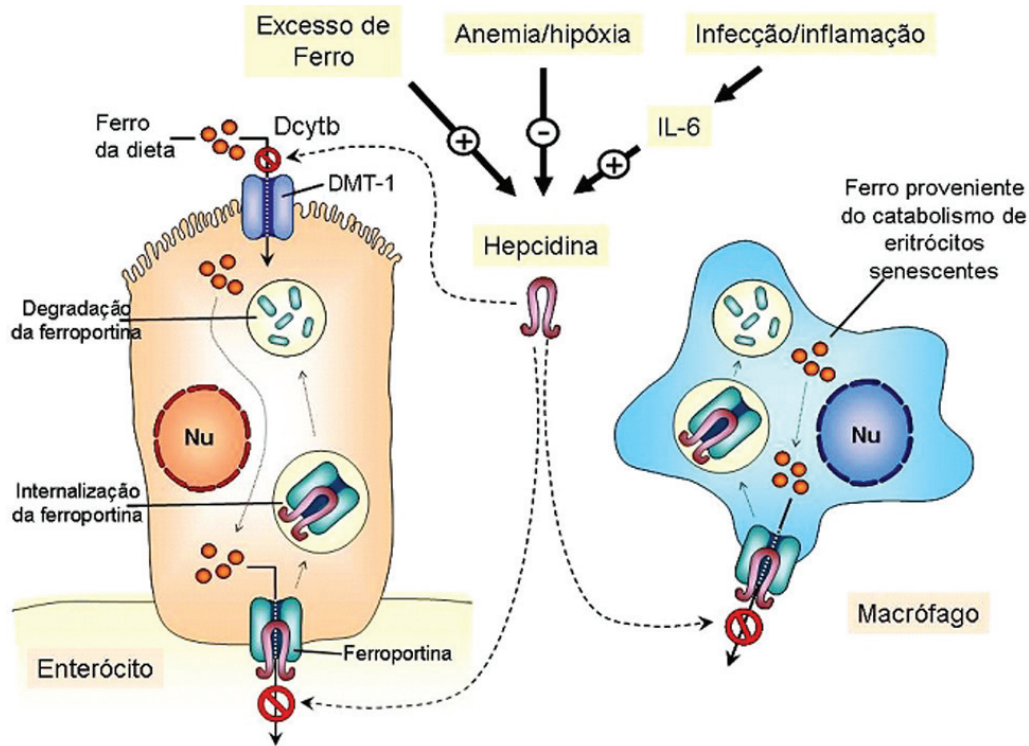


Figura 6. Ação da HPN no metabolismo do ferro. Ao formar um complexo com a FPN leva à sua degradação. No enterócito, o ferro não é transportado para o exterior da célula, e a absorção é inibida (figura à esquerda). Nos macrófagos, o ferro fica acumulado no seu interior, diminuindo o ferro disponível para a eritropoese (figura à direita)

onde ativa a cascata de sinalização intracelular para aumentar a transcrição dos genes-alvo, estimulando a síntese da HPN (revisado em ⁴⁰). O caminho de ativação da HFE e da Tfr2 não está ainda totalmente esclarecido (Figura 7).

As citocinas inflamatórias, em especial a IL-6, induzem a transcrição do gene HAMP pela ativação do Stat3 e da ligação do Stat3 ao elemento regulatório no gene promotor do HAMP.^{41,42}

A síntese de HCN é fisiologicamente suprimida pela matriptase-2, uma protease de membrana ligada à serina e codificada pelo gene *TMPRSS6*. Há evidências que sugerem que, na ausência do *TMPRSS6*, há um aumento na concentração de HPC, com consequente degradação da FPN e interferência na absorção normal de ferro. Camundongos com erro de *splicing* no *TMPRSS6* apresentam anemia ferropriva grave devido à reduzida absorção de ferro acompanhada de altos níveis de HPN.⁴³ Mutações nesse gene em humanos estão relacionadas com casos de anemia ferropriva refratária ao tratamento com ferro (IRIDA), que apresentam níveis de HPN inapropriadamente altos.⁴⁴ Como a matriptase-2 exerce sua ação supressora não está ainda totalmente esclarecido, mas é proposto um modelo em que a matriptase-2 seria res-

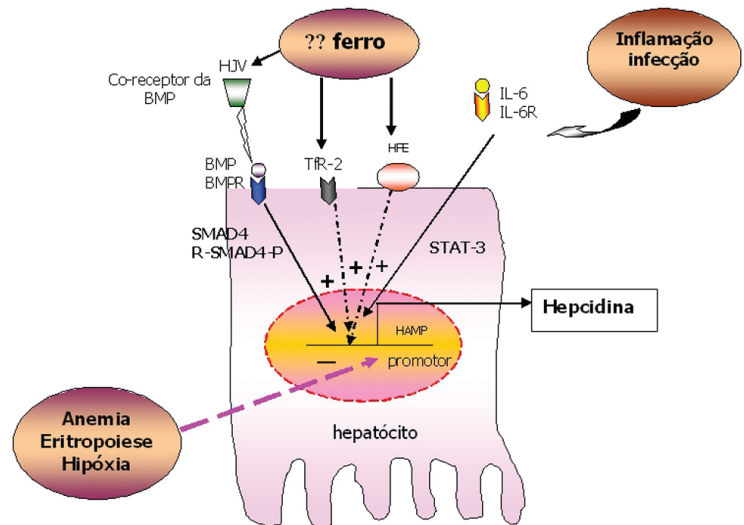


Figura 7. Regulação da transcrição da hepcidina nos hepatócitos

ponsável pela clivagem da HJL de membrana, originando vários fragmentos, interferindo assim com a ação da HJL como correceptora das BMPs, posicionando-os a reagirem com seus receptores e darem início à cascata de sinalização que aumenta a transcrição da HPN. Outro fator repressor da HPN é representado pela sHJL, forma de HJL detectada

no plasma, produto da clivagem da HJL de membrana intracelular pela furina. A SHJL age competindo com a HJL pela BMP. Situações como deficiência de ferro e hipóxia cursam com altos níveis de furina, situações em que é interessante que a HPN não atue para que mais ferro possa ser absorvido pelos enterócitos ou mais exportado do sistema reticuloendotelial aumentando a disponibilidade de ferro para a eritropoese (revisado por⁴⁵).

Embora o conhecimento dos fatores básicos relacionados às doenças genéticas com sobrecarga de ferro date de mais de 50 anos, foi somente nas últimas décadas que houve um grande avanço nas investigações a nível genético e molecular dos aspectos envolvidos com os processos de aquisição, estoque e regulação do ferro. Esses estudos têm possibilitado um melhor entendimento sobre a fisiopatologia de diversas doenças que cursam tanto com a sobrecarga como com a deficiência de ferro. No entanto, muito ainda há para ser esclarecido e, com o relato constante de novas informações, espera-se que esses conhecimentos, além de auxiliarem no entendimento dos mecanismos envolvidos no metabolismo do ferro, possam ser revertidos em novas propostas terapêuticas.

Abstract

Knowledge of the iron physiology and metabolism has increased greatly over the last few years. The identification of genes and the consequences of mutations, especially those related to the accumulation of iron, have improved the understanding of the regulatory mechanisms responsible for maintaining homeostasis of this essential nutrient in many biochemical processes. The function of several molecules is well established, as in the case of transferrin and its receptor and, in recent decades, new molecules have been identified such as ferroportin, divalent metal transporter, hepcidin and hepcidin. An elegant control mechanism maintains the balance between the processes of iron absorption, recycling, mobilization, utilization and storage. Disturbances in the synchronism among those processes may lead either to iron deficiency or to iron overload, both of which have important clinical consequences. This mini-review attempts to describe aspects related to iron metabolism and the participation of several proteins and mediators involved in these mechanisms. Moreover, intracellular and systemic regulation mechanisms responsible for providing the most suitable iron concentration for iron homeostasis maintenance will be presented. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2010; 32(Supl. 2):8-17.

Key words: Iron metabolism; iron deficiency anemia; iron overload; hepcidin; iron homeostasis.

Agradecimento

Ao Prof. Dr. Ronei Mamoni, brilhante pesquisador e artista, pelas ilustrações dessa revisão.

Referências Bibliográficas

- Dunn LL, Rahmanto YS, Richardson DR. Iron uptake and metabolism in the new millennium. *Trends Cell Biol.* 2007; 17(2):93-100.
- Wijayanti N, Katz N, Immenschuh S. Biology of heme in health and disease. *Curr Med Chem.* 2004;11(8):981-6.
- Fairbanks VG, Beutler E. Iron metabolism. In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn U, editors. *Williams-Hematology.* 6th ed. New York: McGraw-Hill; 2001.p. 295-304.
- Gattermann N. From sideroblastic anemia to the role of mitochondrial DNA mutations in myelodysplastic syndromes. *Leuk Res.* 1999; 24(2):141-51.
- Hoffbrand AV, Pettit FE, Moss PAH. *Essential Haematology.* 5th ed. Oxford (UK): Blackwell Publishing; c2006. Chapter 3, Hypochromic anaemias and iron overload; p. 28-43
- Chung J, Wessling-Resnick. Molecular mechanisms and regulation of iron transport. *Crit Rev Clin Lab Sci.* 2003;40(2):151-82.
- Andrews NC. A genetic view of iron homeostasis. *Semin Hematol.* 2002;39(4):227-34.
- Oiu A, Jansen M, Sakaris A, *et al.* Identification of an intestinal folate transporter and the molecular basis for hereditary folate malabsorption. *Cell.* 2006;127(5):917-28.
- Krishnamurthy P, Xie T, Schuetz JD. The role of transporters in cellular heme and porphyrin homeostasis. *Pharmacol Ther.* 2007; 114(3):345-58.
- Anderson J, Frazer DM, McLaren GD. Iron absorption and metabolism. *Curr Opin Gastroenterol.* 2009; 25:129-35.
- Pietrangolo A. The ferroportin disease. *Blood Cells Mol Dis.* 2004;32(1):131-8.
- Oates PS. The role of hepcidin and ferroportin in iron absorption. *Histol Histopathol.* 2007;22(7):791-804.
- Lutz HU, Fasler S, Stammer P, Bussolino F, Arese P. Naturally occurring anti-band 3 antibodies and complement in phagocytosis of oxidatively-stressed and in clearance of senescent red cells. *Blood Cells.* 1988;14(1):175-203.
- Bratosin D, Estaquier J, Petit F, Amoult D, Quatannens B, Tissier JP, *et al.* Programmed cell death in mature erythrocytes: a model for investigating death effector pathways operating in the absence of mitochondria. *Cell Death Differ.* 2001;8(12):1143-56.
- Knutson M, Wessling-Resnick. Iron metabolism in the reticuloendothelial system. *Cri Rev Biochem Mol Biol* 2003;38(1):61-88.
- De Domenico I, McVey Ward D, Kaplan J. Regulation of iron acquisition and storage: consequences for iron-linked disorders. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2008;9(1):72-81.
- Ponka P, Beaumont C, Richardson DR. Function and regulation of transferrin and ferritin. *Semin Hematol.* 1998;35(1):35-54.
- Worwood M. Serum transferrin receptor assays and their application. *Ann Clin Biochem.* 2002;39(Pt 3):221-30.
- Ohgami RS, Campagna DR, Greer EL, *et al.* Identification of a ferrireductase required for efficient transferrin-dependent iron uptake in erythroid cells. *Nat Genet.* 2005;37(11):1264-9.
- Liuzzi JP, Aydemir F, Nam H, Knutson MD, Cousins RJ. Zip 14 (Sic39a14) mediates non-transferrin-bound iron uptake into cells. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2006; 103:13612-7.
- Beguín Y. The soluble transferrin receptor: biological aspects and clinical usefulness as quantitative measure of erythropoiesis. *Hematologica.* 1992;77(1):1-10.
- Skikne BS, Flowers CH, Cook JD. Serum transferrin receptor: a quantitative measure of tissue iron deficiency. *Blood.* 1990;75(9): 1870-6.

23. Kawabata H, Yang R, Hiramata T, Vuong PT, Kawano S, Gombart AF, *et al.* Molecular cloning of transferrin receptor 2. A new member of the transferrin receptor-like family. *J Biol Chem.* 1999; 274(30):20826-32.
24. Roetto A, Daraio F, Alberti F, Porporato P, Cali A, De Gobbi M, *et al.* Hemochromatosis due to mutations in transferrin receptor 2. *Blood Cells Mol Dis.* 2002;29 (3):465-70.
25. Camaschella C, Silvestri L. New and old players in the hepcidin pathway. *Haematologica.* 2008;93(10):1441-4.
26. Cooper JM, Schapira AH. Friedreich's ataxia: coenzyme Q(10) and vitamin E therapy. *Mitochondrion.* 2007;7:S127-135.
27. Alcindor T, Bridges KR. Sideroblastic anaemias. *Brit J Haematol.* 2002;116(4):733-43.
28. Nairz M, Weiss G. Molecular and clinical aspects of iron homeostasis: from anemia to hemochromatosis. *Wien Klin Wochenschr.* 2006;118(15-16): 442-62.
29. Levi S, Rovida E. The role of iron in mitochondrial function. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1790(7):629-36.
30. Donovan A, Roy CN, Andrews NC. The ins and outs of iron homeostasis. *Physiology.* 2006;21:115-23.
31. Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem.* 2001; 276(11):7806-10.
32. Krause A, Neitz S, Magert HJ, *et al.* LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett.* 2000;480(2-3):147-50.
33. Nicolas G, Bennoun M, Porteu A, Mativet S, Beaumont C, Grandchamp B, *et al.* Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002; 99(7):4596-601.
34. Ganz T, Nemeth E. Iron imports. IV. Hepcidin and regulation of body iron metabolism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2006;290(2):G199-203.
35. Ganz T. Hepcidin - a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling by macrophages. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2005;18(2):171-82
36. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, *et al.* IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone Hepcidin. *J Clin Invest.* 2004;113(4):1271-76.
37. Rivera S, Liu L, Nemeth E, Gabayan V, Sorensen OE, Ganz T. Hepcidin excess induces the sequestration of iron and exacerbates tumor-associated anemia. *Blood.* 2005;105(4):1797-802.
38. Bridle KR, Frazer DM, Wilkins SJ, Dixon JL, Purdie DM, Crawford DH, *et al.* Disrupted hepcidin regulation in HFE-associated haemochromatosis and the liver as a regulator of body iron homeostasis. *Lancet.* 2003;361(9358):669-73.
39. Roy CN, Custodio AO, de Graaf J, Schneider S, Akpan I, Montross LK, *et al.* An Hfe-dependent pathway mediates hyposideremia in response to lipopolysaccharide-induced inflammation in mice. *Nat Genet.* 2004;36(5):481-5.
40. De Domenico I, Ward DM, Kaplan J. Hepcidin regulation: ironing out the details. *J Clin Invest.* 2007;117(7):1755-8.
41. Wrighting DM, Andrews NC. Interleukin-6 induces hepcidin expression through STAT3. *Blood.* 2006;108(9):3204-9.
42. Verga Falzacappa MV, Vujic Sapsic M, Kessler R, Stolte J, Hentze MW, Muckenthaler MU. STAT3 mediates hepatic hepcidin expression and its inflammatory stimulation. *Blood.* 2007; 109(1):353-8.
43. Du X, She E, Gelbart T, Truksa J, Lee P, Xia Y, *et al.* The serine protease TMPRSS6 is required to sense iron deficiency. *Science* 2008;320(5879):1088-92.
44. Finberg KE. Iron homeostasis: casting new roles. *Blood.* 2008; 112(6):2181.
45. Knutson MD. Into the matrix: regulation of the iron regulatory hormone hepcidin by matriptase-2. *Nutr Rev.* 2009;67(5):284-8.

O tema foi sugerido e avaliado pelo coeditor deste fascículo educativo, Rodolfo Delfini Caçado, e pelo *board* interno da RBHH, e publicado após a concordância do editor, Milton Artur Ruiz.

Conflito de interesse: sem conflito de interesse

Recebido: 15/12/2009

Aceito: 15/01/2010