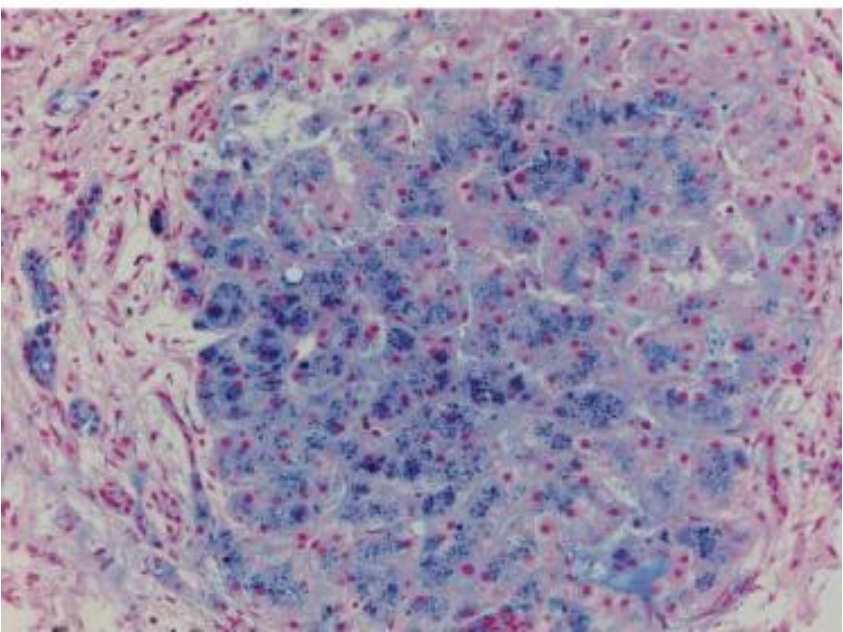


Jiří Horák a kolektiv

Hemochromatóza



Upozornění pro čtenáře a uživatele této knihy

Všechna práva vyhrazena. Žádná část této tištěné či elektronické knihy nesmí být reprodukována a šířena v papírové, elektronické či jiné podobě bez předchozího písemného souhlasu nakladatele. Neoprávněné užití této knihy bude **trestně stíháno**.

Používání elektronické verze knihy je umožněno jen osobě, která ji legálně nabyla a jen pro její osobní a vnitřní potřeby v rozsahu stanoveném autorským zákonem. Elektronická kniha je datový soubor, který lze užívat pouze v takové formě, v jaké jej lze stáhnout s portálu. Jakékoliv neoprávněné užití elektronické knihy nebo její části, spočívající např. v kopírování, úpravách, prodeji, pronajímání, půjčování, sdělování veřejnosti nebo jakémkoliv druhu obchodování nebo neobchodního šíření je zakázáno! Zejména je zakázána jakákoliv konverze datového souboru nebo extrakce části nebo celého textu, umístování textu na servery, ze kterých je možno tento soubor dále stahovat, přitom není rozhodující, kdo takovéto sdílení umožnil. Je zakázáno sdělování údajů o uživatelském účtu jiným osobám, zasahování do technických prostředků, které chrání elektronickou knihu, případně omezují rozsah jejího užití. Uživatel také není oprávněn jakkoliv testovat, zkoušet či obcházet technické zabezpečení elektronické knihy.



Copyright © Grada Publishing, a.s.

Hemochromatóza

Hlavní autor a editor:

Prof. MUDr. Jiří Horák, CSc.

Autoři v abecedním pořadí:

MUDr. Markéta Dostálíková, PhD., MUDr. Miluše Hendrichová,
prof. MUDr. Jiří Horák, CSc., prof. MUDr. Ladislav Chrobák, CSc.,
prof. RNDr. Jan Kovář, DrSc., doc. MUDr. Pavel Kraml, PhD., MUDr. Karolina Krátká,
RNDr. Jitka Neubauerová, RNDr. Ivana Půtová, doc. MUDr. Jaroslav Stránský, CSc.,
MUDr. Jan Strítěský, CSc.

Recenze:

Prof. MUDr. Jiří Ehrmann, CSc.
MUDr. Libuše Husová, Ph.D.

© Grada Publishing, a.s., 2010

Cover Design © Grada Publishing, a.s., 2010

Vydala Grada Publishing, a.s.

U Průhonu 22, Praha 7

jako svou 3978. publikaci

Odpovědný redaktor Mgr. Luděk Neužil

Sazba a zlom Jan Šístek

Obrázky dodali autoři.

Počet stran 232 + 16 stran barevné přílohy

1. vydání, Praha 2010

Vytiskla tiskárna PROTISK, s.r.o., České Budějovice

*Autoři děkují za významnou finanční podporu při vydání
publikace Nadačnímu fondu České hepatologické společnosti.*



*Publikace vznikla s podporou výzkumného záměru 3. lékařské fakulty Univerzity Karlovy
č. MSM 0021620814 – Prevence, diagnostika a terapie diabetes mellitus, metabolických
a endokrinních postižení organismu.*

Publikaci doporučuje časopis Postgraduální medicína.



Názvy produktů, firem apod. použité v této knize mohou být ochrannými známkami nebo registrovanými ochrannými známkami příslušných vlastníků, což není zvláštním způsobem vyznačeno.

Postupy a příklady v knize, rovněž tak informace o lécích, jejich formách, dávkování a aplikaci jsou sestaveny s nejlepším vědomím autorů. Z jejich praktického uplatnění ale nevyplývají pro autory ani pro nakladatelství žádné právní důsledky.

Všechna práva vyhrazena. Tato kniha ani její část nesmí být žádným způsobem reprodukována, ukládána či rozšiřována bez písemného souhlasu nakladatelství.

ISBN 978-80-247-3287-9 (tištěná verze)

ISBN 978-80-247-6385-9 (elektronická verze ve formátu PDF)

© Grada Publishing, a.s. 2011

Seznam autorů	8
1 Metabolismus železa (Jiří Horák)	9
1.1 Biologický význam a fyziologické funkce železa (Jan Kovář)	15
1.1.1 Chemické vlastnosti železa a jejich biologický význam	15
1.1.2 Železo vázající molekuly v organismu	17
1.1.3 Fyziologické funkce železa v organismu	19
1.1.4 Intracelulární metabolismus železa	20
1.1.5 Železo jako regulační faktor	22
1.2 Příjem železa potravou a jeho ztráty z organismu (Jiří Horák)	23
1.3 Intestinální absorpce železa (Jitka Neubauerová, Jan Kovář)	26
1.3.1 Absorpce nehemového železa	26
1.3.2 Absorpce hemového železa	29
1.4 Transport železa k orgánům a do buněk (Jitka Neubauerová, Jan Kovář)	30
1.4.1 Transport železa v organismu	30
1.4.2 Transport transferinového železa do buněk	31
1.4.3 Transport netransferinového železa do buněk	34
1.5 Regulace množství železa v organismu (Jan Kovář, Jitka Neubauerová)	35
1.5.1 Mechanismy regulace množství železa v organismu	35
1.5.2 Systém IRP/IRE a regulace množství železa v buňce	37
1.5.3 Hepcidin a homeostáza železa v organismu	39
2 Poruchy metabolismu železa (Jiří Horák)	42
2.1 Geneticky podmíněné poruchy metabolismu železa (Markéta Dostálíková)	43
2.1.1 Hemochromatóza	43

2.1.2	Další genetické poruchy metabolismu železa	65
2.2	Sekundární akumulace železa (<i>Jiří Horák</i>)	67
3	Orgánové důsledky akumulace železa (<i>Jiří Horák</i>)	73
3.1	Játra	75
3.2	Pankreas	76
3.3	Srdce	78
3.4	Endokrinní systém	79
3.5	Klouby	79
3.6	Ostatní orgány	80
4	Epidemiologie genetické hemochromatózy (<i>Markéta Dostálíková</i>)	82
4.1	Věk a pohlaví	82
4.2	Výskyt mutací v HFE genu	82
4.3	Původ mutací	89
5	Klinické projevy genetické hemochromatózy (<i>Jiří Horák</i>) . .	90
6	Diagnostika genetické hemochromatózy (<i>Jiří Horák</i>)	92
6.1	Biochemické vyšetření (<i>Jiří Horák</i>)	93
6.2	Molekulárně-biologická diagnostika (<i>Markéta Dostálíková, Ivana Půtová</i>)	95
6.3	Zobrazovací metody (<i>Jiří Horák</i>)	103
6.4	Indikace k jaterní biopsii (<i>Jiří Horák</i>)	104
6.5	Histologická diagnostika genetické hemochromatózy (<i>Jan Strítěský</i>)	105
6.6	Jaterní funkce u hemochromatózy (<i>Miluše Hendrichová</i>)	116
6.7	Klinické nálezy (<i>Jiří Horák</i>)	120
7	Screening genetické hemochromatózy (<i>Markéta Dostálíková</i>)	123
8	Terapie genetické hemochromatózy (<i>Jiří Horák</i>)	127

9	Metabolismus železa u jaterních chorob (Jiří Horák).....	131
9.1	Poškození jater alkoholem (Jiří Horák).....	131
9.2	Jaterní steatóza a nealkoholová steatohepatitida (Jiří Horák).....	133
9.3	Chronické virové hepatitidy (Jaroslav Stránský, Jiří Horák).....	134
9.4	Pozdní kožní porfyrie (Karolina Krátká)	145
10	Metabolismus železa u mimojaterních chorob (Jiří Horák)	149
10.1	Anémie z nedostatku železa (Ladislav Chrobák)	149
10.2	Autoimunitní systémová revmatická onemocnění a hemochromatóza (Ivana Půtová)	161
10.2.1	Autoimunita	161
10.2.2	Autoimunitní systémová onemocnění	163
10.2.3	Autoimunitní systémová onemocnění a výskyt autoprotilátek	164
10.2.4	Autoimunitní systémová onemocnění a mutace v genu HFE	165
10.2.5	Autoimunitní systémová onemocnění a asociace s HLA	170
10.2.6	Hemochromatóza a asociace s HLA	180
10.3	Železo a ateroskleróza (Pavel Kraml).....	185
	Seznam použitých zkratk	195
	Literatura	199
	Rejstřík	227

Seznam autorů

Hlavní autor a editor:

Prof. MUDr. Jiří Horák, CSc. – *I. interní klinika 3. LF UK a FNKV, Praha*

Autoři v abecedním pořadí:

MUDr. Markéta Dostálíková, PhD. – *Ústav biochemie, buněčné a molekulární biologie 3. LF UK, Praha*

MUDr. Miluše Hendrichová – *I. interní klinika 3. LF UK a FNKV, Praha*

Prof. MUDr. Jiří Horák, CSc. – *I. interní klinika 3. LF UK a FNKV, Praha*

Prof. MUDr. Ladislav Chrobák, CSc. – *II. interní klinika FN, Hradec Králové*

Prof. RNDr. Jan Kovář, DrSc. – *Ústav biochemie, buněčné a molekulární biologie 3. LF UK, Praha*

Doc. MUDr. Pavel Kraml, PhD. – *II. interní klinika 3. LF UK a FNKV, Praha*

MUDr. Karolina Krátká – *I. interní klinika 3. LF UK a FNKV, Praha*

RNDr. Jitka Neubauerová – *Ústav biochemie, buněčné a molekulární biologie 3. LF UK, Praha*

RNDr. Ivana Půtová – *Ústav biochemie, buněčné a molekulární biologie 3. LF UK, Praha*

Doc. MUDr. Jaroslav Stránský, CSc. – *I. interní klinika 3. LF UK a FNKV, Praha*

MUDr. Jan Stříteský, CSc. – *Ústav patologie a 1. LF UK a VFN, Praha*

1 Metabolismus železa

Jiří Horák

Železo se tradičně řadí mezi stopové prvky nezbytné k životu. V organismu savců je železo součástí řady sloučenin, které zajišťují klíčové fyziologické funkce, jako je buněčné dýchání, přenos kyslíku k tkáním, syntézu DNA aj. (viz kap. 1.1). Nejznámější a kvantitativně nejvýznamnější látkou obsahující železo je hemoglobin, nutno ale zmínit také myoglobin, tkáňové enzymy a plazmatický transferin. Tělo zdravého dospělého člověka obsahuje asi 35–45 mg železa na kilogram hmotnosti, celkem tedy přibližně 3,5–4 g železa. V erytrocytech je obsaženo kolem 1800 mg železa, v kostní dřeni asi 300 mg, v makrofázích přibližně 600 mg a na transferinu jsou navázány asi 3 mg železa [288]. Kolem 400 mg je vázáno v různých bílkovinách obsahujících železo a v zásobní formě je uloženo asi 1000 mg železa, z toho je v játrech jako feritin či hemosiderin uloženo přibližně 400 mg. Toto zásobní železo se může v případě potřeby mobilizovat a být znovu fyziologicky využito. Pokud množství zásobního železa klesne pod 1 gram, zvýší se vstřebávání železa z potravy až do doby, kdy je zásobní železo doplněno. Asi 98 % jaterního železa se nachází v hepatocytech a zbytek převážně v Kupfferových buňkách; ty ovšem mohou za určitých okolností železo významně akumulovat. V játrech je také syntetizována naprostá většina transferinu, ceruloplazminu, feritinu, hepcidinu, hemopexinu a haptoglobinu, tedy proteinů významně se podílejících na transportu, regulaci metabolismu a uchovávání železa. Ačkoliv je ceruloplazmin hlavní měď-přenášejí bílkovinou krevní plazmy, jeho nejdůležitější úlohou je zřejmě usnadnění výstupu železa z buněk. Při intravaskulární hemolýze pak uvolněný hemoglobin v plazmě váže haptoglobin a podobně hemopexin váže hem. Vzniklé komplexy z plazmy rychle mizí. V játrech jsou také významně exprimovány proteiny regulující metabolismus železa, jako je hepcidin, HFE protein a transferinový receptor 2 [15].

Kromě hepatocytů hrají významnou roli v metabolismu železa i Kupfferovy buňky. Ty jsou součástí retikuloendotelového systému, fagocytují tedy stárnoucí erytrocyty a uvolňují z nich železo do krevní plazmy. V játrech zaniká asi 10–15 % erytrocytů. Při nadměrné akumulaci

železa mohou Kupfferovy buňky železo hromadit, což cestou produkce cytokinů vede k aktivaci hvězdčovitých buněk a jaterní fibróze.

Železo se do jater dostává převážně pomocí transferinu, avšak je-li transportní kapacita transferinu za patologických okolností saturována, může se významným zdrojem železa pro játra stát také železo nevázané na transferin (non-transferin-bound iron – NTBI). Játra jsou také schopna získávat železo z cirkulujícího hemoglobinu, hemu a feritinu.

Železo vázané na transferin přechází do hepatocytů převážně pomocí transferinového receptoru 1 (TfR1). Komplex transferin-transferinový receptor 1 je mechanismem endocytózy přenášen do nitra hepatocytů. Vznikající vezikuly se mění na endosomy, které po okyselení protony-přenášející ATPázou uvolňují železo z vazby na transferin. Železo je současně redukováno z trojmocného na dvojmocné a přechází přes endosomální membránu do cytoplazmy. Hepatocyty exprimují několikrát více transferinových receptorů než neparenchymové buňky v játrech, jako jsou Kupfferovy, sinusoidální, endotelové nebo hvězdčovité buňky. TfR1 je různou měrou exprimován na všech jaderných buňkách v těle.

Játra jsou schopna získávat železo také z hemu a hemoglobinu. Uvolněný hemoglobin je v krevní plazmě vázán na játry tvořenou bílkovinu haptoglobin a vzniklý komplex je vychytáván makrofágy mechanismem endocytózy. Při degradaci hemoglobino-haptoglobino-vého komplexu v lyzosomech se uvolňuje hem a různé štěpy globinu. Hem je následně degradován hemoxygenázou 1 na biliverdin, z něhož v dalším kroku vzniká bilirubin. Pokud dojde k rozštěpení hemoglobinu již v krevní plazmě, je uvolněný hem vázán na další v játrech vznikající protein hemopexin. Na povrchu hepatocytů, makrofágů i dalších buněk je exprimován receptor, který váže komplex hem-hemopexin. Celá struktura je následně internalizována zřejmě v lyzosomech; hem je katabolizován hemoxygenázou 1. Za normálních okolností jsou obě popsané cesty málo významné, avšak při intravaskulární hemolýze se mohou stát cestami dominantními.

Dalším potenciálním zdrojem železa pro hepatocyty je feritin. Zatímco tkáňový feritin představuje hlavní zdroj zásobního železa, plazmatický feritin železo prakticky neobsahuje. Proto se plazmatický feritin za fyziologických okolností jako přenašeč železa neuplatňuje. Pokud však dojde k orgánovému poškození, může se tkáňový feritin dostat do cirkulace a je účinně vychytáván játry, zejména pak hepatocyty. Uvnitř hepatocytu může být feritin metabolizován nebo uložen pro pozdější potřebu.

Intracelulární železo katalyzuje reakce vedoucí ke vzniku kyslíkových radikálů, a proto je koncentrace volného železa uvnitř hepatocytů udržována na velmi nízké úrovni. Naprostá většina železa je uložena ve vazbě na feritin. Feritin je velká bílkovina složená ze 24 podjednotek a vytváří dutinu, která může obsahovat až 4500 atomů železa. Za normálních okolností je hlavním faktorem ovlivňujícím syntézu feritinu železo, při zánětech však jeho syntézu stimulují také cytokiny. Degradace bílkovinné složky feritinu probíhá v sekundárních lyzosomech. Když se zásoby železa v játrech výrazně zvýší, začne se v hepatocytech objevovat další zásobní forma železa, a to hemosiderin. Hemosiderin je produktem proteolýzy feritinových agregátů a na rozdíl od feritinu je ve vodě nerozpustný. Vytváří amorfní ložiska obsahující polymery hydroxidu železitého a degradovaných bílkovin.

Pokud vznikne nedostatek železa, exprimují hepatocyty více transferinových receptorů a více receptorů je také vystaveno na plazmatické membráně. Naopak v situacích s nadbytkem železa, jako je genetická hemochromatóza nebo sekundární hromadění železa, jsou transferinové receptory na hepatocytech prakticky neprokazatelné. Přitom Kupfferovy buňky mohou TfR1 exprimovat zvýšeně.

Transferinový receptor 2 (TfR2) zajišťuje nízkoafinitní transport železa do hepatocytu. Afinita TfR2 k transferinu je asi 25násobně nižší než afinita TfR1. Na rozdíl od TfR1 je TfR2 prokazatelný pouze na několika typech buněk, na prvním místě na hepatocytech.

Zatímco vstup železa do jater je popsán již do značných podrobností, obrácený proces je prozkoumán mnohem méně. Je dobře známo, že v případě potřeby se železo uložené v hepatocytech, ať již jako feritin nebo jako hemosiderin, může rychle uvolňovat. U zdravých zvířat mohou játra uvolnit asi 6 % zásobního železa za den. Další železo přechází do plazmy z Kupfferových buněk. Hlavní látkou transportující železo přes plazmatickou membránu hepatocytů je feroportin 1 (FP1). Feroportin je exprimován nejen hepatocyty a enterocyty, ale také Kupfferovými buňkami a většinou ostatních buněk v těle. Expres feroportinu hepatocyty při akumulaci železa stoupá, což je ochranný mechanismus proti přetížení železem. Ve stejné situaci však v enterocytech exprese feroportinu klesá a s ní i jeho vstřebávání ze střeva.

Exkrece železa žlučí je za fyziologických okolností velmi nízká, avšak při akumulaci železa se může zvyšovat. Ve žluči lze pak prokázat železo jak volné, tak vázané na feritin a transferin. Železo se dostává

do žluče z lyzosomů, které se hromadí při kanalikulární membráně hepatocytů.

Hlavní cestou transportu železa v organismu je jednosměrný tok od plazmatického transferinu k předchůdcům erytrocytů, z erytrocytů k makrofágům a zpět k plazmatickému transferinu. Asi 80 % z množství železa procházejícího denně transferinovým kompartmentem směřuje k a z erytrocytů a jejich prekursorů. Nezralé erytroidní buňky získávají železo z transferinu pomocí specifického transferinového receptoru lokalizovaného na plazmatické membráně. Tzv. HFE protein, který je produktem genu pro hemochromatózu, se váže na transferinový receptor a zřejmě ovlivňuje jeho afinitu k transferinu; přesný mechanismus jeho účinku však není dosud znám. Vzniklý komplex sestávající z transferinového receptoru, transferinu obsahujícího železo a patrně i HFE proteinu je internalizován uvnitř endosomu, který v důsledku acidifikace uvolňuje železo. To je transportováno přes endosomální membránu prostřednictvím transportéru pro divalentní kovy (DMT1). Většina železa je využita pro syntézu hemoglobinu a vstupuje do cirkulace v erythrocytech, menší množství může být uloženo intracelulárně ve vazbě na ferritin.

Homeostáza železa v organismu je přesně regulována rovnováhou mezi procesy vstřebávání železa v enterocytech, transportem železa ve vazbě na transferin v krevní plazmě, utilizací a ukládáním železa v kostní dřeni, v játrech i dalších orgánech.

Za fyziologických okolností je udržována přesná regulace činnosti buněk, které železo z potravy vstřebávají (enterocyty v duodenu), železo spotřebovávají (zejména prekursor erytrocytů) a železo skladují (hepatocyty a tkáňové makrofágy). Při udržování homeostázy železa se uplatňuje celá řada transportních a regulačních proteinů a peptidů, z nichž klíčová úloha připadá hepcidinu (původně popsánemu jako hepatic bactericidal protein – HAMP) čili LEAP (liver-expressed antimicrobial peptide), neboť byl původně izolován z moči jako látka s antimikrobiálními vlastnostmi [217]. Hepcidin je syntetizován v játrech a v menší míře i v tukové tkáni a jeho syntéza se snižuje při anémii, hypoxémii a dalších stavech, kdy stoupá potřeba železa v tkáních. Za fyziologických okolností hepcidin reguluje absorpci železa. Při nadbytku železa v organismu stoupá syntéza hepcidinu, což má za následek snížené uvolňování železa z enterocytů a makrofágů vyvolané interakcí hepcidinu s ferroportinem. Ferroportin je transportní protein pro export železa lokalizovaný v bazolaterální membráně enterocytů

a v membránách makrofágů. Ferroportin tak můžeme označit jako hepcidinový receptor. Naopak ve stavu sideropenie klesá syntéza hepcidinu a enterocyty a makrofágy uvolňují více železa. Vrozený deficit hepcidinu je podkladem těžké formy juvenilní hemochromatózy. U nemocných s homozygotní formou HFE vyvolané hemochromatózy byla nalezena paradoxně snížená jaterní exprese i sérová koncentrace hepcidinu a je tedy možné, že HFE protein reguluje expresi hepcidinu. Mutovaný HFE protein snad potlačuje syntézu hepcidinu v játrech, což vede k nadměrnému uvolňování železa z enterocytů duodena a makrofágů. Podle této představy hraje tedy hepcidin klíčovou roli nejen při fyziologické regulaci metabolismu železa, ale i u hemochromatózy podmíněné HFE. Syntéza hepcidinu v játrech je ovšem ovlivňována i transferinovým receptorem 2 a hemojuvelinem, a také mutace genů pro tyto proteiny má za následek akumulaci železa s fenotypem hemochromatózy (viz kap. 2.1).

Při těžších zánětech stoupá koncentrace hepcidinu v séru, ferroportin je zablokován a klesá absorpce železa, což lze považovat za jistou ochranu proti bakteriálním infekcím.

Nadbytek i nedostatek železa mají za následek závažná poškození organismu; zatímco nedostatek železa (sideropenie) patří k nejrozšířenějším lidským chorobám vůbec, velmi závažné zdravotní důsledky má i nadbytek železa. U stavů s nadbytkem železa, typicky u genetické hemochromatózy, se železo hromadí zejména v játrech, která mohou obsahovat několik (výjimečně až 40) gramů železa. Protože tělo nemá k dispozici účinný způsob jak se zbavit nadbytečného železa, je základním homeostatickým mechanismem v metabolismu železa přesná regulace jeho vstřebávání. Nemocní s velkým nadbytkem železa sice také více železa vylučují, to je ale zřejmě způsobeno ztrátou makrofágů s vysokým obsahem železa a ne cíleným regulačním mechanismem. V důsledku objevu tzv. genu pro hemochromatózu (HFE gen) v roce 1996 [98] došlo k explozi poznatků o metabolismu železa za normálních i patologických okolností. Ukázalo se, že přesná regulace příjmu železa existuje již ve fetálním údobí, kdy placenta reguluje transport železa z těla matky k plodu [117]. Při udržování homeostázy železa se uplatňuje celá řada transportních a regulačních proteinů a peptidů, z nichž klíčová úloha připadá hepcidinu.

Z méně významných faktorů ovlivňujících metabolismus železa je nutno zmínit polymorfismus haptoglobinu. U zdravých mužů, nikoliv však u žen, je genotyp Hp 2-2 sdružen s vyšší koncentrací železa a feritinu v séru a s vyšší saturací transferinu než genotypy 1-1 a 2-1. Polymorfismus haptoglobinu tak může ovlivňovat průběh chorob

s poruchou metabolismu železa, jako je genetická hemochromatóza, infekce a ateroskleróza [80].

Železo přicházející do těla s potravou je převážně v trojmocné formě a před absorpcí musí být nejprve redukováno na formu dvojmocnou. Téměř veškeré vstřebávání železa z potravy probíhá v duodenu. Ferireduktázovou aktivitu v kartáčovém lemu duodenální sliznice vykazuje duodenální cytochrom b (Dcytb). V dalším kroku přenáší železo do nitra enterocyty divalentní transportér kovů 1 (DMT1). Mutace v genu DMT1 mají za následek poruchu vstřebávání železa, sideropenii a mikrocytární anémii. Expres Dcytb i DMT1 je závislá na koncentraci železa v enterocytech. V enterocyty může být železo dočasně uloženo v podobě feritinu nebo transportováno dále do krevní plazmy. Železo uložené v enterocyty jako feritin může být z organismu ztraceno, když se buňka odloupne do střevního lumina. Transport železa enterocytem není zcela objasněn. V dalším kroku je železo exportováno přes bazolaterální membránu pomocí bílkoviny Ireg1 (iron-regulated transporter-1 – ferroportin) a poté je navázáno na transferin; zde hraje významnou úlohu transferinový receptor 2 (TfR2). Ferroportin se nachází také v tkáňových makrofázích, jako jsou Kupfferovy buňky v játrech a makrofágy kostní dřeně a sleziny. Ferroportin slouží také jako exportér železa v cirkulujících fagocytech, které pohlcují stárnoucí erytrocyty. Koordinovaná exprese ferroportinu v enterocytech a makrofázích má základní význam pro homeostázu železa. Před navázáním na transferin musí být dvojmocné železo oxidováno na trojmocné. Tento krok katalyzuje intracelulární bílkovina hefeitin, která je strukturou podobná ceruloplazminu, vykazuje feroxidázovou aktivitu a stimuluje uvolňování železa z enterocyty. Transferin následně přenáší železo k jednotlivým orgánům a tkáním. Transferin existuje ve třech izoformách – apotransferin, monofेरický a diferický transferin. Všechny cirkulují v lidské plazmě a jejich poměr závisí na saturaci transferinu – při vysoké saturaci stoupá zastoupení diferického transferinu a obráceně. Přesný mechanismus, kterým železo přechází na transferin, nebyl dosud objasněn. Je možné, že hefeitin oxiduje železo v těsné blízkosti apotransferinu, který snad vstupuje do cytosolu, aby získal železo.

Transferin denně dopraví k prekursorům erytrocytů asi 20 mg železa a stejné množství je recyklováno makrofágy ze stárnoucích erytrocytů.

Úloha HFE proteinu v regulaci metabolismu železa ani v patogenezi GH nebyla dosud uspokojivě vysvětlena. HFE protein není transportní molekula ani transkripční faktor, nýbrž produkt HLA genu I. třídy.

V dalších kapitolách jsou popsány biologické funkce železa, jeho příjem potravou, absorpce, transport k orgánům a regulace jeho zásob.

1.1 Biologický význam a fyziologické funkce železa

Jan Kovář

1.1.1 Chemické vlastnosti železa a jejich biologický význam

Železo má schopnost existovat za běžných podmínek ve dvou stabilních oxidačních stavech, a to jako Fe^{2+} a Fe^{3+} . Atom železa se tak může účastnit oxidoredukčních (redoxních) reakcí spojených s přenosem jednoho elektronu. Redoxní potenciál $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ komplexně vázaného železa se výrazně mění v závislosti na charakteru vazby a ligandů. Tyto unikátní chemické vlastnosti umožňují železu hrát rozhodující úlohu v oxidoredukčních pochodech organismů [9, 180]. Redoxní potenciál železa může organismus na základě složení železo vázající molekuly ovlivnit tak, že vyhovuje potřebám příslušné oxidoredukční reakce. Uvádí se, že redoxní potenciál železa v organismech se pohybuje v rozmezí od +300 do -500 mV. Vzhledem k tomu, že v přírodě v podstatě neexistuje další běžný prvek s analogickými vlastnostmi, je úloha železa v organismech víceméně nezastupitelná. Dokonce se předpokládá, že již formování prvotního metabolismu při vzniku života je spojené s oxidoredukčními reakcemi, kterých se účastnily běžně dostupné sloučeniny železa.

Železo ve formě Fe^{2+} je běžně rozpustné ve vodě, přičemž vzniká komplex $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{2+}$. Za normálních podmínek v oxidační atmosféře se však dvojmocné železo rychle oxiduje na železo trojmocné. Trojmocné železo je pak ve vodě rozpustné pouze za extrémně nízkého pH ($\text{pH} < 1$), přičemž vzniká komplex $[\text{Fe}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$. Vyplyvá z toho, že za fyziologických podmínek oxidační atmosféry a fyziologického pH je rozpustné železo prakticky nedostupné. Při neutrálním pH je celková koncentrace rozpuštěného Fe^{3+} ve vodě maximálně 10^{-9} M. Rovnovážná koncentrace volného Fe^{3+} v organismech za fyziologických podmínek je dokonce pouze 10^{-18} M. Prokaryotní a eukaryotní organismy problém vyřešily zavedením většinou nízkomolekulárních nosičů železa známých jako siderofory [205]. Siderofory mají vysokou afinitu k železu a jsou dobře rozpustné ve vodě. Na úrovni obratlovců

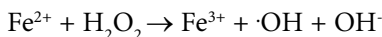
je otázka transportu trojmocného železa v použitelné formě vyřešena systémem specifických nosičových proteinů známých jako transferiny (viz kap. 1.4). V dávné evoluční historii života přechod z anaerobních podmínek, kdy rozpustné Fe^{2+} železo bylo běžně dostupné, na aerobní podmínky, kdy nerozpustné Fe^{3+} železo ve volné formě přestalo být dostupné, mohl představovat jeden z nejkritičtějších okamžiků ohrožujících veškerý život na Zemi.

Hydroxidy trojmocného železa mohou v důsledku dehydratace polymerovat:



Tyto polymery se vyskytují i v organismech, přičemž obsahují 2 (ribonukleotidreduktáza) až více než 4000 (ferritiny) atomů železa. Běžně jsou takoveto nerozpustné polymery trojmocného železa známé jako rez.

Schopnost železa účastnit se oxidoredukčních reakcí je na jedné straně pro organismy velmi výhodná, ale na druhé straně může být pro organismy také velmi nebezpečná. Je to přesně v duchu známého rčení „dobrý sluha, zlý pán“. V důsledku normálních metabolických reakcí vznikají v buňce některé reaktivní sloučeniny kyslíku známé jako ROS (reactive oxygen species). Patří mezi ně i superoxidový anion ($\cdot\text{O}_2^-$) a peroxid vodíku (H_2O_2). Reakcí trojmocného železa se superoxidovým aniontem může vznikat dvojmocné železo. Dvojmocné železo potom reaguje s peroxidem vodíku v reakci známé jako Fentonova reakce za vzniku extrémně reaktivního a tím nebezpečného hydroxylového radikálu ($\cdot\text{OH}$):



Hydroxylový radikál a i další ROS mohou kromě jiného poškozovat DNA a buněčné membrány v důsledku peroxidace lipidů. Nadbytečné železo je tak pro buňku toxické. Z tohoto důvodu je hladina železa v buňce i celém organismu pečlivě regulovaná (viz kap. 1.5), a tím udržovaná v příslušných mezích [9, 180].

1.1.2 Železo vázající molekuly v organismu

Kromě železa vázaného v nějaké formě na proteiny se v organismu nachází i železo vázané v nízkomolekulárních komplexech. Mezi takovéto komplexy patří Fe^{3+} -citrát. Železo může tvořit komplexy také s dalšími kyselinami (acetát, laktát, pyruvát, askorbát), aminokyselinami a cukry. Úloha těchto i jiných nízkomolekulárních komplexů železa v organismu však nebyla zatím zcela objasněna [125].

Železo může být vázané na proteiny buď (1) jako volné železo, nebo (2) ve formě hydroxidů a jejich polymerů (viz kap. 1.1.1), (3) ve formě hemu, nebo (4) ve formě Fe-S klastrů.

- 1) Příkladem proteinů vázajících volné železo jsou nosičové proteiny ze skupiny transferinů. Sérový transferin má dvě vazebná místa pro Fe^{3+} .
- 2) Dobrým příkladem proteinu vázajícího železo ve formě hydroxidových komplexů je pak železo skladující protein feritin. Nerozpustný polymer hydroxidů trojmocného železa zde obsahuje i určité množství fosfátu [9, 180].
- 3) Jako hem označujeme jeden z porfyrinů známý jako protoporfyrin IX, který čtyřmi koordinačními vazbami váže atom dvojmocného železa na atom dusíku všech čtyř přítomných pyrolových heterocyklů. Porphyriny jsou sloučeniny tvořené spojením čtyř pyrolových heterocyklů metenylovými můstky. Charakteristickou vlastností porfyrinů je právě schopnost tvorby komplexů s kovovými ionty, které jsou vázané na atom dusíku pyrolových heterocyklů. Příkladem porfyrinu vázajícího Mg^{2+} je chlorofyl. Pokud je dvojmocné železo v hemu zoxidované na trojmocné železo, sloučenina se označuje jako hemin. Proteiny vázající hemovou skupinu se označují jako hemoproteiny. Typickým příkladem hemoproteinu jsou kyslík transportující hemoglobin, respirační protein myoglobin ze svalů a cytochromy, jakožto přenašeči elektronů v oxidoredukčních reakcích [214].
- 4) Fe-S proteiny vážou skupinu známou jako Fe-S klastr, která se skládá z atomů železa a síry. Stechiometrie jednotlivých typů Fe-S klastrů se může lišit. Nejběžnější Fe-S klastry jsou typu $2\text{Fe}-2\text{S}$, kde jednotlivé atomy leží střídavě v rozích rovnostranného čtyřúhelníku, a typu $4\text{Fe}-4\text{S}$, kde jednotlivé atomy leží střídavě v rozích krychle. Typickým

příkladem Fe-S proteinu je protein IRP1 regulující hladinu železa v buňce [31].

Přehled vybraných železo vázajících proteinů je uveden v tabulce 1.1.

Tab. 1.1 *Přehled vybraných železo vázajících proteinů*

protein	vazba železa	funkce
sérový transferin	dvě vazebná místa pro Fe	transport Fe v plazmě
laktoferin	dvě vazebná místa pro Fe	vazba Fe v sekretech
ovotransferin	dvě vazebná místa pro Fe	vazba Fe ve vaječném bílku
melanotransferin	jedno vazebné místo pro Fe	protein v cytoplazmatické membráně nádorových buněk bez známé funkce
hemoglobin	hemoprotein	přenos kyslíku v krvi
haptoglobin	vazba hemoglobinu	intravaskulární vazba a transport hemoglobinu
hemopexin	hemoprotein	intravaskulární vazba a transport hemu
feritin	vazba mnoha atomů Fe ve formě hydroxidových komplexů	intracelulární ukládání Fe
hemosiderin	vazba mnoha atomů Fe ve formě hydroxidových komplexů	degradační produkt feritinu
myoglobin	hemoprotein	vazba kyslíku ve svalech
cytochrom c	hemoprotein	přenos elektronů při oxidoredukčních reakcích v mitochondriích
cytochrom P450	hemoprotein	metabolismus xenobiotik v játrech
ferredoxin	Fe-S protein	přenos elektronů při fotosyntéze
ribonukleotidreduktáza	vazba 2 atomů Fe ve formě hydroxidového komplexu	syntéza deoxyribonukleotidů

protein	vazba železa	funkce
IRP1	Fe-S protein	regulace hladiny Fe v buňce
IRP2	Fe-S protein	regulace hladiny Fe v buňce

1.1.3 Fyziologické funkce železa v organismu

Fyziologické funkce železa v organismu vyplývají z jeho schopnosti účastnit se oxidoredukčních reakcí [9, 180]. Tato schopnost se potom odvozuje od chemických vlastností železa (viz kap. 1.1.1). Železo může fungovat v různých formách (viz kap. 1.1.2) jako součást (1) enzymů katalyzujících oxidoredukční reakce, (2) proteinů účastnících se přenosu elektronů a (3) proteinů fungujících jako přenašeče kyslíku.

- 1) Enzymy obsahující železo katalyzují širokou škálu oxidoredukčních reakcí s různými funkcemi. Aktivace a detoxifikace kyslíku se účastní oxidázy, katalázy a peroxidázy. Jsou to hemoproteiny. Katalázy rozkládají peroxid vodíku (H_2O_2), který vzniká v důsledku působení oxidáz. U rostlin potom plní funkci kataláz peroxidázy. Cytochrom P450 (hemoprotein) se účastní detoxifikace xenobiotik v játrech. Enzymy obsahující železo katalyzují mnohé metabolické reakce včetně reakcí Krebsova cyklu. Příkladem je mitochondriální akonitáza a sukcinátdehydrogenáza. Oba dva tyto enzymy jsou Fe-S proteiny. Dalším příkladem důležitého enzymu obsahujícího železo je potom ribonukleotidreduktáza, která se účastní syntézy deoxyribonukleotidů. Ribonukleotidreduktáza obsahuje dva atomy Fe ve formě hydroxidového komplexu.
- 2) Cytochromy (hemoproteiny) se účastní přenosu elektronů v oxidoredukčních reakcích při oxidativní fosforylaci v mitochondriích. Hlavní skupiny cytochromů představují cytochrom a, cytochrom b a cytochrom c. Přenosu elektronů při fotosyntéze v chloroplastech se účastní Fe-S protein feredoxin.
- 3) Hemoprotein hemoglobin je schopen reverzibilně vázat kyslík a funguje jako přenašeč kyslíku v krvi. Hemoprotein myoglobin, podobný hemoglobinu, reverzibilně váže kyslík ve svalech, kde potom vytváří zásobu aktuálně použitelného kyslíku.

Zajímavá je úloha železa v obraně organismu před infekcí. Železo je nezbytné pro fungování víceméně všech organismů. Tedy i pro infekční mikroorganismus (bakterie, houba, prvok) v rámci hostitelského organismu je nezbytná možnost získávat železo. Vyvázání volného železa z tělních tekutin je proto účinnou obranou proti infekci. V krevní plazmě vyvazuje volné železo s vysokou afinitou sérový transferin, který zde funguje jako přenašeč železa. Další dva proteiny ze skupiny transferinů, tj. laktoferin a ovotransferin, mají podobnou úlohu. Laktoferin vyvazuje volné železo v tělních sekretech včetně mléka. Ovotransferin potom váže železo v bílku ptačích vajec. Úspěšné patogenní mikroorganismy používají pro získávání potřebného železa siderofory s vyšší afinitou k železu, než má transferin [167].

1.1.4 Intracelulární metabolismus železa

Intracelulární metabolismus železa [242] představuje na jedné straně (1) transport železa do buňky a na druhé straně (2) utilizaci železa buňkou, tj. inkorporaci do funkčních molekul obsahujících železo, (3) ukládání nadbytečného železa a (4) export železa z buňky. Pro udržování těchto procesů v rovnováze buňka používá hlavně systém IRP/IRE (iron regulatory protein/iron responsive element). Proteiny IRP1 a IRP2 monitorují hladinu železa v buňce. Při snížení hladiny železa zajistí IRP proteiny zvýšený transport železa do buňky a snížení jeho utilizace, ukládání a popř. jeho exportu. Při zvýšení hladiny železa dojde naopak ke snížení transportu do buňky a zvýšení utilizace, ukládání a exportu (viz kap. 1.5.2).

Prostředníkem mezi transportem železa do buňky, jeho utilizací, ukládáním a exportem je pravděpodobně intracelulární „pool“ železa, který nebyl zatím zcela jasně charakterizován. Většinou se předpokládá, že jde o nízkomolekulární komplexy železa, kde ligandem může být citrát, askorbát, aminokyselina nebo nukleotid (především ATP) a další látky. Některé hypotézy však existenci tohoto nízkomolekulárního „poolu“ železa popírají a předpokládají přímé napojení transportu železa do buňky, jeho utilizace, ukládání nebo exportu.

- 1) Transport železa do buňky zajišťuje hlavně transferin s navázaným železem (viz kap. 1.4.1) prostřednictvím transferinového receptoru v plazmatické membráně [9, 180]. Jde o transferinovým receptorem zprostředkovanou endocytózu transferinu. Někdy se

tento mechanismus příjmu železa označuje jako transferinový cyklus. Mechanismus je podrobně popsán dále (viz kap. 1.4.2). Vedle příjmu železa navázaného na transferin je buňka schopná přijímat i nízkomolekulární netransferinové železo. Mechanismus transportu nízkomolekulárního železa do buňky, s výjimkou enterocytů (viz kap. 1.3.1), není zatím známý. Bylo však identifikováno několik molekul, které by se tohoto transportu mohly účastnit (viz kap. 1.4.3).

- 2) Utilizace železa představuje inkorporaci železa v příslušné formě do různých železo obsahujících funkčních molekul [9, 180]. Mezi tyto molekuly patří různé enzymy obsahující železo (např. sukcinátdehydrogenáza, ribonukleotidreduktáza), proteiny účastnící se přenosu elektronů (cytochromy) a proteiny přenášející kyslík (hemoglobin, myoglobin) (viz kap. 1.1.3). Inkorporace železa zahrnuje i syntézu hemu nezbytného pro formování hemoproteinů a syntézu Fe-S klastrů nezbytných pro formování Fe-S proteinů. Syntéza hemové skupiny probíhá částečně v cytosolu a částečně v mitochondriích a syntéza Fe-S klastrů v mitochondriích [88]. Proto je nezbytný transport železa přes mitochondriální membránu a také je nezbytné zajišťování homeostázy železa v rámci mitochondrií. Transport železa do mitochondrií pravděpodobně zajišťuje mitochondriální transportér železa mitoferin. Železo v mitochondriích může být uloženo v mitochondriálním feritinu (viz dále), nebo může být použito pro syntézu hemu a Fe-S klastrů. Předpokládá se, že transport Fe-S klastrů a hemu z mitochondrií může zajišťovat celá skupina transportérů (ABCB7, ABCG2, ABCme, FLVCR). Pro zajišťování homeostázy železa v mitochondriích je důležitý protein frataxin. Jeho přesná role však zatím není známá.
- 3) Železo se v buňce ukládá do molekul feritinu, který tvoří kulovitou schránku složenou u savců z 24 podjednotek [9, 18]. U obratlovců se feritin skládá ze dvou typů podjednotek, a to lehké podjednotky známé jako L-feritin (light feritin) a těžké podjednotky známé jako H-feritin (heavy feritin). L-feritin a H-feritin jsou kódované dvěma odlišnými geny. Jednotlivé feritiny se od sebe liší zastoupením L-feritinu a H-feritinu v závislosti na typu tkáně. Inkorporace železa do feritinu je spojená s oxidací dvojmocného železa na trojmocné feroxidázovou aktivitou feritinu. Jedna feritinová schránka je schopná pojmout víc než 4000 atomů železa ve formě nerozpustného

hydroxidového polymeru. K uvolnění železa z feritinu dochází při snížení hladiny železa v buňce. Otázka, jestli feritin funguje hlavně jako buněčná zásoba utilizovatelného železa nebo spíš jako bezpečné úložiště potenciálně nebezpečného železa, zůstává zatím nezodpovězena. Extracelulární feritin může u některých živočichů fungovat i jako přenašeč železa. V některých typech buněk lze najít hůře definovatelný hemosiderin, který pravděpodobně představuje nerozpustný degradační produkt feritinu.

- 4) Export železa z některých typů buněk (enterocyty, hepatocyty, makrofágy) zajišťuje transmembránový protein feroportin [88]. Feroportin je zatím jediný známý transportér železa ven z buňky. Významnou úlohu má feroportin především v intestinální absorpci železa prostřednictvím enterocytů (viz kap. 1.3.1) a také v udržování homeostázy železa v rámci celého organismu (viz kap. 1.5.3).

1.1.5 Železo jako regulační faktor

Vzhledem k tomu, že železo je pro fungování organismu nepostradatelné, je nakládání se železem v rámci buňky i v rámci celého organismu přísně regulované. Na úrovni buňky jde o dobře známý regulační systém IRP/IRE (iron regulatory protein/iron responsive element), který je detailně popsán dále (viz kap. 1.5.2) [53]. Na úrovni organismu má potom centrální úlohu v udržování homeostázy železa peptid hepcidin, jehož fungování je také detailně popsáno dále (viz kap. 1.5.3) [157].

Vedle toho se železo jako takové účastní regulace exprese některých genů na transkripční úrovni. Zde existuje několik možností. Byl popsán regulační mechanismus hemin/HRE (hemin responsive element). Železo zde prostřednictvím železo obsahujícího heminu inhibuje transkripci několika genů (např. tartarát-rezistentní kyselá fosfatáza) na základě vazby heminu na HRE v nekódujících oblastech těchto genů. Zdá se, že i samotné železo se může účastnit regulace transkripce některých genů. Železo může také ovlivňovat transkripci prostřednictvím železem produkováných ROS (reactive oxygen species) (viz kap. 1.1.1), protože ROS regulují některé transkripční faktory včetně c-Jun. Dále je známé, že deprivace železa simuluje hypoxii, a proto i regulační mechanismus HIF1/HRE (hypoxia inducible factor 1/hypoxia responsive element) může mít určitou úlohu při regulaci transkripce železem [41, 74].

1.2 Příjem železa potravou a jeho ztráty z organismu

Jiří Horák

Lidský organismus přijímá železo v potravě obvykle v mírném nadbytku. Množství z potravy vstřebávaného železa je regulováno dosud ne zcela objasněným mechanismem tak, aby vstřebání pokrylo ztráty železa z organismu (odloupavými epitelii střeva a kůže) a v údobích růstu či gravidity také jeho zvýšenou potřebu; u menstruuujících žen je nutno pokrýt také ztráty železa menstruační krví. Protože neexistuje žádný fyziologický způsob, kterým by tělo mohlo vylučovat nadbytečné železo, musí být regulace vstřebávání velice přesná, aby nedošlo na jedné straně k nedostatku či naopak k nadměrnému hromadění železa v organismu.

Zatímco celosvětově a zejména v rozvojových zemích patří nedostatek železa k nejrozšířenějším zdravotním problémům, v zemích vyspělých se často setkáváme i s nepřiměřenou akumulací železa. Doporučený denní příjem železa silně kolísá podle pohlaví, věku a dalších faktorů. Nejvíce železa potřebují těhotné ženy a ženy menstruuující, zatímco u žen v menopauze a u mužů činí doporučená dávka v potravě asi 10 mg denně. V průběhu těhotenství potřebuje žena získat asi 500 mg železa navíc v porovnání se ženou netěhotnou, což odpovídá 2 mg vstřebávaného železa denně [291]. U většiny dospívajících dívek není přívod železa dostatečný k pokrytí fyziologických potřeb organismu a sideropenie je v této skupině velmi častá. V současné době neexistují moderní doporučené denní dávky pro železo českých odborníků. V obecných a stručných Výživových doporučeních pro obyvatelstvo ČR Společnosti pro výživu z roku 2004 o železe není vůbec zmínka [282]. V tabulce 1.2 jsou uvedeny hodnoty doporučené Německou společností pro výživu (Deutsche Gesellschaft für Ernährung), které jistě lze považovat za směrodatné. Z uvedených dávek železa se ovšem využije pouze zlomek – denně se vstřebá asi 1 mg železa u zdravých mužů a 1,5 mg u menstruuujících žen. Žlučí se ztrácí mezi 0,22–0,28 mg denně, deskvamovanými střevními epitelii 0,24 mg denně a močí 0,5–1 mg železa denně [291]. Ztráta železa menstruační krví vyvolává dodatečnou potřebu asi 0,56 mg železa denně [291].

Obsah železa v některých potravinách lze nalézt např. u J. Blatné [39].

Tab. 1.2 Doporučený denní příjem železa (podle Deutsche Gesellschaft für Ernährung, <http://www.dge.de/>)

věk	železo				
	mg/den			mg/MJ (nutriční denzita)	
	muži		ženy ¹	muži	ženy
do 1 roku²					
0–4 měsíce ^{3,4}		0,5		0,3	0,3
4–12 měsíců		8		2,7	2,8
děti					
1–4 roky		8		1,7	1,8
4–7 let		8		1,3	1,4
7–10 let		10		1,3	1,4
10–13 let	12		15	1,3	1,8
13–15 let	12		15	1,1	1,6
dospívající + dospělí					
15–19 let	12		15	1,1	1,8
19–25 let	10		15	0,9	1,9
25–51 let	10		15	1,0	1,9
51–65 let	10		10	1,1	1,4
65 a starší	10		10	1,2	1,4
těhotné ženy			30		3,3
kojící ženy⁵			20		1,9

- 1) Nemenstruující ženy, které nejsou těhotné a nekojí: 10 mg/den
- 2) S výjimkou nedonošených novorozenců
- 3) Odhadnutá hodnota
- 4) Potřeba železa v potravě existuje až od 4. měsíce vzhledem k zásobám hemového železa u novorozence
- 5) Týká se kojících i nekojících matek; jde o náhradu železa ztraceného během těhotenství

Při nízkých koncentracích sérového feritinu (pod 60 ng/ml) je množství vstřebaného železa nepřímou úměrnou koncentraci feritinu. Při vyšších hodnotách se u zdravých osob vstřebává pouze tolik železa, kolik činí