

Hepsidin ve Demir Metabolizması

Zümrüt Uysal

Demirin biyolojik önemi eski çağlardan beri bilinmesine rağmen hücresele düzeyde moleküler kontrol, emilim, depolanma, organizma demir döngüsünün moleküler yolları ile ilgili yeni proteinlerin keşfi ile son on yılda özellikle de son 2-3 yılda demir metabolizmasında çok büyük değişiklikler ve ilerlemeler olmuştur. Burada demirin önemi, demir metabolizması ve hepsidin anlatılacaktır.

Demir pek çok canlı için esansiyel bir elementtir ve yaşamsal öneme sahiptir. Elektron alıp verme özelliği nedeniyle oksijen taşınması, enerji yapımı, DNA, RNA ve protein sentezinde yer alır. Pek çok enzimin yapı ve fonksiyonu için gereklidir.

Demir fonksiyonları, taşınması ve depolanması sırasında hücrelerde ve vücut sıvılarında daima iki oksidasyon durumu olan ferrik (FeIII) veya ferröz (FeII) şekilde bulunur. Demirin bu elektron değişimi, redoks aktivitesi, bir taraftan gerekli ve yararlı olurken, diğer taraftan, demir fazlalığı durumlarında oluşan serbest demir, prooksidan olarak serbest oksijen radikallerinin yapılmasına yol açar. Antioksidanlar tarafından yeteri kadar detoksifiye edilemeyen serbest oksijen radikalleri özellikle de hidrosil radikal hücresele elemanlar için ileri derecede zararlı ve toksiktir. (Fenton ve Heber-Weis reaksiyonları). Bu nedenle demir hiçbir zaman serbest bırakılmamaya çalışılır. Transferinle taşınır, ferritinde depolanır ve organizmada demir konsantrasyonu da çok sıkı bir denetim altındadır.

Organizmada bulunan demirin % 60-70'i hemoglobinde ve dolaşan eritrositlerde, % 10'u miyoglobine ve sitokromlarda ve demir içeren enzimlerde. Kalan %20-30'u gereğinde kullanılır.

mak üzere başlıca karaciğer ve retikuloendotelial sistem makrofajlarında olmak üzere depolanır. Organizma demiri yararları nedeniyle sıkı bir şekilde korumaya programlanmıştır. Organizmadan demir atan normal fizyolojik bir mekanizma yoktur. Gastrointestinal sistemden dökülen epitelial hücrelerle az miktarda ve kanamalar dışında demir kaybı olmaz. Fazlası toksik olan bu elementin sistemik dengesi tamamen emilimin kontrolü ile sağlanmaktadır.

Organizmada da çok ciddi bir demir ekonomisi vardır. Diyet demirinin %10'u duodenumdan olmak üzere günde 1- 2 mg demir emilir, gene 1-2 mg demir dışkı ile atılır. Demir emilimi ve organizmada demir dengesinin sağlanması özellikle son yıllarda çok fazla araştırılan konulardır.

Demir emilimi

Diyette demir hemoglobin ve miyoglobinden kaynaklanan organik hem demiri ve et dışı kaynaklardan alınan inorganik demir olmak üzere iki şekilde bulunur. Et yemekle alınan hem demiri ve et dışı kaynaklardan alınan inorganik demirin emilim yolları birbirinden tamamen farklıdır.

Hem Demir Emilimi: Etle beslenenlerde vücut depo demirini sağlamada hem demir emiliminin çok önemli bir yeri vardır. Kuzey Amerika ve Avrupalıların diyetlerinin 1/3'ü hem demiri olmasına rağmen, günlük demir gereksiniminin 2/3'ünü sağlar şekildedir. Ağızdan alınan heminin %50'si organizmaya girmektedir Bu ülkelerde demir eksikliği görülme oranı da düşüktür. Ette bulunan hemoglobin barsakta intestinal enzimlerle hem ve globuline ayrılmakta globulin yıkım ürünleri hemi ve inorganik demiri solubul halde tutarak absor-

bsiyonu kolaylaştırmaktadır. Hem demiri emilimi için inorganik demirde gereken duodenal düşük pH ve emilimi kolaylaştıran askorbik asit, sitrik asit gibi faktörlere gereksinim yoktur. Besinlerde bulunan demir bağlayıcılardan da etkilenmez. Sadece kalsiyumun emilimi olumsuz olarak etkilediği gösterilmiştir..

Hem demiri ferröz (FeII) formda olup, demir eksikliği olduğunda emilimi 2-3 kat artmaktadır. Hem, duodenal enterosite eskiden hem vesikülü denilen şimdi ise yeni tanımlanan hem taşıyıcı protein 1 denilen özel bir taşıyıcı ile girer. Enterositte plazmaya çıkarken inorganik demirle aynı yolu kullanır.

Hem dışı (inorganik) demirin emilimi: Besinlerle alınan hem dışı demirin çoğu ferrik (FeIII) demir şeklinde olup, solubilitesi ve lümen duodenal villüsta enterosite alımı için lümen içi pH yı düşüren mide asiditesine gereksinimi vardır. İnorganik demirin emilimi çok kompleks ve moleküler olarak çok sıkı kontrol gerektiren bir sistem içinde düzenlenmektedir. Emilimde ilk basamak bu ferrik demirin membrana bağlı bir redüktaz olan ve askorbat bağımlı duodenal sitokrom b (DCytb) tarafından ferröz şekle (FeII) redükte edilmesidir. Son çalışmalarda başka redüktazların varlığı da gösterilmiştir. Fe II olgun enterositin lümen bakan yüzeyinde bulunan divalen metal transportör 1(DMT 1) ile enterosit içine alınır. DMT1 nonhem demir alımını sağlayan en önemli proteindir. Gerek DCytb' in gerekse DMT 1' in sentezi demir eksikliğinde artmaktadır. Bunların sentezi de IRP/IRE sistemi ile düzenlenmektedir. Enterosite alınan demirin bir kısmı ferritin şeklinde depolanır ve duodenal eksfoliasyon ile atılır. Organizmaya demir alınacaksa, gereksinim varsa, absorbe edildikten sonra enterositin bazolateral tarafına taşınır ve oradan insanda bilinen tek demir atıcısı olan ferroportin ile plazmadaki transferine yüklenir. Fakat önce seruloplazmin homologu ve bir transmembran proteinini olan hefastin ile FeII, FeIII haline okside edilmelidir.

Demirin hücreler tarafından alınması

Demir, plazmada karaciğerden oldukça fazlaca sentezlenen ve glukoprotein yapısında olan transferin tarafından taşınır. Enterositin bazolateral tarafından ferroportin ile dışarı verilen ve hefastin ile okside edilerek ferrik (FeIII) hale getirtildikten sonra transferine yüklenen demir, portal dolaşımdan çoğu kemik iliğinde eritrosit öncü hücreleri olmak üzere hücrelere taşınır. Her transferin

molekülü iki tane Fe III'ü güçlü bir şekilde bağlar. Hepastin eksikliğinde duodenal enterositlerde demir fazlalığı ve demir emilim bozukluğuna bağlı hipokrom mikrositer anemi olduğu gösterilmiştir.

Hücreler tipine göre demiri farklı yollardan alırlar. Diyet demiri enterosit tarafından apikal tarafta bulunan DMT1 ile alınırken, makrofajlar önce fagosite ettikleri sirküle eden yaşlı eritrositlerdeki hemoglobinden demir alırlar. Eritrosit lizişi ile açığa çıkan hemoglobinden hemoksijenaz ve biliverdin redüktaz ile demir ve bilirubin oluşur.. Makrofajların vakuolar membranlarından demir transportu gene DMT1 ile olmaktadır. Makrofajlarda açığa çıkan, demir ya tekrar organizmada dolaşan demir olması için makrofaj ferroportini ile plazmaya verilmekte ya da makrofaj içinde ferritin şeklinde depolanmaktadır. Ferroportin enterositte olduğu gibi hücrenin tek demir atıcısıdır. Makrofajdan demir plazmaya verilirken transferine yüklenebilmesi için gene FeIII şekline getirilmeli okside edilmelidir. Bu oksidasyon ve tansferine yüklenme işinde plazmada bakıra bağlı ferrioksidaz olan ve karaciğerde sentezlenen seruloplazmin rol almaktadır. Hepatositlerin demir alımı TfR1 ve TfR2 ile olur. Hepatositler portal dolaşımdan aldıkları demiri depolarlar ve gerektiğinde ferroportin yolu ile tekrar dolaşıma verirler.

Bunlar dışında tüm hücreler demiri yüzeylerinde bulunan transferin reseptörlerini kullanarak plazma transferrininden almaktadırlar. Normal şartlarda transferin demirle saturasyonu (TS) % 30 orandadır. Transferinin demir bağlama kapasitesi tamamen dolduğunda plazmada serbest transferine bağlı olmayan demir oluşur. Bu demir özellikle karaciğer ve kalp hücrelerine kolaylıkla girebilir ve hücresele düzeyde hasar oluşturabilir.

Plazmadaki diferrik transferin (holotransferrin), hücrenin membranında, hücre içi demir ihtiyacına göre miktarı belirlenen düzeyde sentezlenmiş ve hücre yüzeyine yerleşmiş transferrin reseptörüne (TfR) bağlanır. Tf-TfR1 kompleksi içselleştirilir ve bir endozom oluşur. Endozom içi pH düşürülerek, transferrin demirden ayrılır, demir FeII şekline redükte edilir. Endozomal membrandan demirin stoplazmaya geçişi DMT1 ile olur. Stoplazmada demir ya mitokondiride hem sentezine ya ferritin şeklinde depolanmaya ya da diğer metabolik işlerde kullanılmaya gider. Demirini bırakmış transferin yani apotransferrin-Tf-reseptör kompleksi tekrar hücre yüzeyine gönderilir ve transferrin tekrar kullanılmak üzere plazmaya salınır.

Transferin reseptörü disülfid bağları ile bağlı iki subünitten oluşmuştur. İki ayrı genle kodlanan TfR1 ve TfR2 şeklinde, iki farklı TfR'ü vardır. TfR1 enterosit kript bazolateral kısımda ve demiri transferinden alan tüm hücrelerde milyonlarcası da kemik iliği eritrosit öncülerinde bulunurken, TfR2 TfR1'in homoloğu buna da diferrik transferin bağlanır. 1 in tersine tüm hücrelerde değil ençok karaciğerde, kan hücrelerinde, duodenal kript hücrelerinde TfR2 karaciğere demir depoları sinyallerini iletmede önemlidir. TfR2 gen mutasyonunun herediter hemakromatosis'e yol açması, hepsidin ile ilişkisi belirlenmiştir. Bu konu hepsidinle ilgili bölümde anlatılacaktır. Transferin reseptörünün ekstrasellüler parçası serumda bulunur. Serum transferrin reseptör (sTfR) düzeyi ölçümü direkt olarak organizmanın demire olan ihtiyacını göstermektedir. Ayrıca serum TfR'nin kaynağı olgunlaşan eritroid hücrelerden dökülen TfR olduğu için de serumda sTfR ölçümü, plazma demir döngüsü (PIT) gibi ve ondan çok daha kolay şekilde eritropoetik aktivite düzeyini tahmin etmek amacıyla kullanılabilir.

Organizmada Demir Dengesi

Hücre içi demir dengesi: Hücresel düzeyde demirin moleküler kontrolü; demirin taşınması, depolanması, kullanılımı ile ilgili tüm ana proteinlerin sentezi posttranskripsiyon düzeyinde hücre içi demirle düzenlenmektedir. Bu düzenlenme stoplazmada bulunan ve hücre içinde demiri hissedilen, hücre demir sensör proteinleri olan 'iron regulatuar proteinler' IRP'ler ile, demir proteinlerinin mRNA' ları üzerinde 30 nükleotidlik bölgeyi içeren ve 'iron responsive elementler' denilen IRE' ler arasındaki ilişkiye bağlıdır. Ferritin, ferroportin ve delta aminolevulinik asit sentetazdaki (eALA-S) IRE motifleri 5' non coding bölgesindedir. Transferin reseptör 1 ve DMT1 gibi demir transportunda yer alan proteinlerin IRE bölgeleri onları kodlayan mRNA'ların 3' bölgesinde bulunurlar. Bu iki farklı yerlerden bağlanma tamamen farklı etkilere neden olur. Hücre içinde demir eksikliği olduğunda IRP'lerle IRE' ler bağlanırlar. Bu bağlanma transferin reseptörü (TfR) ve DMT1' in degradasyonunu azaltıp, translasyonunu artırırken, ferritin, ferroportin ve eALA-S' in sentezlerini durdurur. Hücre dışı demir konsantrasyonu normal sınırlarda iken hücre demir dengesi IRP/IRE sistemi ile düzeyleri ayarlanan proteinlerle düzenlenmekte, stoplazmik demir miktarına göre gereğinde demir alımı gereğinde depolama yapılmaktadır. Hücre demir fazlalığında ise IRP yapısal olarak değişip IRE' lere

bağlanamayacağı için TfR mRNA stabilizasyonu bozulup, degradasyonu artıp hücre demir alımı dururken, ferritin sentezi artarak ortalıkta bulunan demir de depolanır. IRP1 ve IRP2 şeklinde iki farklı moleküler formda IRP vardır ve her ikisi de IRE' lere yüksek bağlanma affinitesine sahiptir.

Organizmanın sistemik demir dengesi

İntestinal demir emiliminde rol alan proteinlerin IRP/IRE sistemi gene hücrelere lokal olarak çalışmaktadır. Demirin sistemik regulasyonunu açıklayan eski kripte programlanmış, kripte içi demir miktarı ile düzenlenen emilime göre, duodenal olgun enterositlerin ne kadar demir alacakları apikal DMT1 düzeyine bağlıdır ve bu düzey bazolateral taraftan HFE ile sinyal alan kripte hücredeki demir miktarının etkilediği IRP/IRE sistemi tarafından ayarlanır. Kripte HFE'si plazmadaki TfR1 ile fizyolojik ilişkisi ile organizma demir durumunu hissederek kripte içi demir miktarını belirler. HFE β_2 mikroglobülinle hücre yüzeyine gelip demirle doymuş transferrinle temas edip kripte demir alınmasını sağlar. Kripte içinde demir miktarı ayarlanır. HFE eksikliğinde kripte içinde demir eksikliği oluşur ve 2-3 gün sonra kripte olgun enterosit olunca eksik demire göre yanlış programlandığı için fazla sentezlenmiş DMT1 de fazlaca demir alınmasına ve enterosit içinde demir birikimine neden olur. Barsak hücresi içinde demir fazlalığı oluşacağı için IRP/IRE bağlanması olmayacak ferroportin sentezi artarak absorbe edilen demir plazmaya verilecektir. Bu kripte hücre hipotezi HFE eksikliği oluşturulmuş sıçan deneylerinde kripte demir alımının bozulduğu ve demir transport genlerinin ve proteinlerinin arttığı gösterilmiştir. Otozomal resesif kalıtılan HFE gen mutasyonu sonucu HFE eksikliği erişkin tipi olan ve en çok görülen hemokromatosis'e yol açmaktadır.

Tüm yapılan çalışmalar sonucunda organizma demir dengesini iki regülatörün kontrol ettiği anlaşılmıştır. Eritropoetik regülatör ve depo regülatörleri. Eritropoetik regülatör, kemik iliğinden gelen sinyallerle çalışmaktadır. Eğer eritropoetik aktivite çok artmış ise kemik iliğinde eritropoezin demir ihtiyacını karşılamak için depolar dolu olsa da intestinal demir emilimi olmaktadır. Depo regülatörü, karaciğer, iskelet kası ve dolaşan kandaki demir miktarı azaldığında bunu hissederek emilimi artıran bir regülatördür. Eritropoetik regülatör depo regülatörüne göre 20 kat fazla aktif demir emilimi sağlamaktadır. Bu nedenle talasemi inter-

mediada organizma demir fazlalığı olduğu halde intestinal demir emilimi fazladır.

Enterosit tarafından absorbe edilen demir miktarı depolar ve eritropoez hızı dışında, hipoksi, inflamasyon ve gebelik gibi çeşitli faktörlerden de etkilenmektedir. Bu faktörler enterositin major transport molekülleri olan DMT1, Dcytb, ferroportin'i hem mRNA, hem protein düzeyinde etkileyerek değişiklikleri oluşturmaktadırlar.

Hepsidininin keşfinden sonra organizmada demir dengesinin karaciğerde hepatositlerde sentezlenen bir antimikrobial protein olan hepsidin ile olduğu anlaşılmıştır. Hepsidin demir metabolizmasını düzenleyen bir hormondur. Duedenal demir emilimini ve makrofaj demirinin salınmasını engelleyerek organizmada demiri azaltarak demir dengesini düzenlemektedir. Demir dengesinin ayarlanmasının hepsidin yoluyla olduğu belirlendikten sonra demir kript yolu, HFE ve transferin saturasyonu ve tüm bunlarla hepsidinin ilgisi, makrofaj kaynaklı demirin dolaşıma verilmesi yoğun bir şekilde tekrar çalışılmaya başlanılmış ve bu konuda gene pek çok bilinmeyen olduğu anlaşılmıştır. Hepsidin ve demir metabolizmasındaki santral rolü ayrı bir başlık altında anlatılacaktır.

Hepsidin ve organizmanın demir dengesi

Tüm memelilerde demire belli bir miktar gereksinim vardır. Hem hücrese demir eksikliği, hem demir fazlalığı patolojik ve zararlıdır. Bu nedenle biyolojik sıvılardaki demirin yoğunluğu gerektiği zaman kullanılmak ve toksisitesinden sakınmak için çok sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir. Memelilerde demir dengesi başlıca intestinal emilim düzeyinde denetlenerek sağlanmaktadır.

Hepsidin esas olarak karaciğerden sentezlenen, dolaşımda bulunan idrarla atılan bir peptid hormon olup sistemik demir dengesinin ana düzenleyicisidir. Son olarak bakterial patojenlere karşı miyeloid hücrelerde de sentezlendiği gösterilmiştir. Geni 19. kromozomda HAMP genidir. Hepsidininin fazla yapımı ile doğan hayvanlar çok kısa sürede demir eksikliğinden ölümler, hepsidin yapan tümörlerde demir kullanımı bozulduğu için ciddi demir eksikliği ortaya çıkar. HAMP geni mutasyonu ile hepsidin eksikliği olduğunda da ağır demir birikimi olur. Hepsidin bu düzenlemeyi demirin kullanımı ve depolanmasını koordine ederek, demirin plazmaya çıkışını engelleyerek yapmaktadır. Hepsidin ince barsaktan demir emilimini azaltır, makrofajlar tarafından yaşlı eritrositlerden

çıkarılan ve tekrar plazmaya verilen demirin makrofaj çıkışını ve plazmaya verilmesini ve hepatik depolardan mobilizasyonunu engeller. Eritropoetik aktivite artışı, hipoksi, organizma demir depolarının azalması durumlarında hepatik hepsidin sentezi azalır. Organizmaya demir yüklenmesi, inflamasyon ise hepsidin sentezini artırır. Enflamasyon ister akut isterse kronik olsun hipoferrinemi ile sonuçlanır. Buna neden olan faktörlerden en önemlisi de akut faz proteini olarak artan hepsidindir. Hepsidin demir metabolizmasına negatif etkisi ve hipoferrinemi oluşturması yanında in vitro olarak eritroid öncü hücrelerin proliferasyonlarını ve yaşam sürelerini de azalttığı, eritropoezi bozduğu da gösterilmiştir.

Hepsidin reseptörü bir bazolateral transmembran proteini olan ferroportindir. Ferroportin demirin hücreden plazmaya atılmasını ve bir ferrioksidaz olan hefastinin yardımı ile plazma transferinine yüklenerek taşınmasını sağlar. Ferroportin plesentada, barsakta, retikuloendotelial makrofajlarda ve hepatositlerde bulunur. Hepsidin ferroportine bağlanması, onun internalizasyonuna ve lizozomal degradasyonuna sonuç olarak ta ferroportinin membrandan kaybına yol açmaktadır. Ferroportinin hücre yüzeyinden kaybı demirin plazmaya geçişini engeller. Bunun sonucunda intestinal demir emilimi azalır, makrofajlarda ve enterositlerde demir birikimi artar, plazmaya daha az demir çıkar, transferrin saturasyonunda azalma olur eritropoeze giden demir miktarı azalır. Ferroportin mutasyonları otozomal dominant kalıtmıli hemakromatosis tip 4 e yol açarlar. İki farklı tip sonuca yol açan mutasyon tanımlanmıştır. Birinci grupta ferroportinin makrofaj membranında eksikliği olmakta ve hepsidin resistansı oluşmaktadır. Bunda makrofaj tipi demir birikimi olur. İkinci tip mutasyonda hepsidin bağlanması olur fakat ferroportin hücre içine alınıp degrade edilemez. Bunda görülen demir birikimi ise parankimaldır.

Hepsidin/ ferroportin sistemi patojenlerin demiri almalarını engelleyerek konakçı savunmasına katkı sağlamaktadır. Sow ve arkadaşları tarafından hepsidin M.Tüberkülosiste yapısal hasar oluşturarak çoğalmasını engellediği gösterilmiştir. Bu invitro çalışma hepsidin mikroorganizmaların kullanacağı demiri azaltarak antimikrobial özelliği yanında, direkt antimikrobial özelliğini de kanıtlamaktadır. Hepsidin ayrıca diyetle fazla demir alındığında duedenal enterositlerden plazmaya fazla demir çıkışını da kısıtlamaktadır. Anemi ve

hipokside ise tersine hepsidin sentezi azalır, hücre yüzeyinde ferroportin artar. Bunun sonucunda demir Emilimi ve makrofajlardan dolaşıma tekrar verilen demir miktarı artar.

Enfeksiyon enflamasyon anemisinde oluşan hipoferrinemi hastanın savunma mekanizmalarından biridir. Bu durumdan sorumlu hormon da hepsidindir. IL-6 ve diğer sitokinlerle hepsidinin arttığı, hemoglobinin sentezi ve eritropoez için kullanılacak demiri, demir Emilimini engelliyerek ve retikuloendotelial sistemde demir blokajı yaparak azalttığı, hepsidinin arttığı bütün durumlarda anemi olduğu çeşitli klinik durumlarda gösterilmiştir. Hepsidinin hipoferrinemi yapıcı etkisi yanında eritroid öncü hücrelerinin çoğalmalarını ve yaşamlarını bozarak eritropoezi baskılayıcı etkisi de gösterilmiştir. Ayrıca enfeksiyonlar da oluşan süperoksit ve hidrojen peroksidin de, demir regülatuar protein'in (IRP), demir responsive element'lere (IRE) bağlanmasını azaltarak, demir metabolizmasına olumsuz etkileri de bilinmektedir.

Vücut sıvılarında hepsidin konsantrasyonu ölçümünün enflamasyon anemisi ve demir eksikliği anemisinin ayırıcı tanısında yararlı olacağı düşünülmektedir. Ayrıca herediter hemokromatosislerin ayırıcı tanısında da bundan yararlanılabilir. Enflamasyon anemisi tedavisinde farmakolojik hepsidin antagonistlerinden yararlanılabilir. hemakromatosisde hepsidin replasmanı, talasemia ve bunun gibi anemilerde de hepsidin agonistlerinin kullanımının, demir Emilimi engellemek ve demirin kalp hücrelerine ve hepatositlere birikmesi yerine daha az toksik şekli olan makrofajların içinde tutmak için yararlı olacağını düşünülmektedir.

Hepsidin ve demir birikim hastalıkları

Diyet demirinin kontrolsüz bir şekilde fazla emildiği dokularda biriktiği HFE gen mutasyonu ile olan klasik herediter hemakromatosis (HH1), Hemojuvelin gen mutasyonu ile olan hemakromatosis tip2a (HFE2, HJV), hepsidin geni olan HAMP mutasyonu ile olan hemokromatosis tip2b, transferrin reseptör 2 gen mutasyonu ile olan hemokromatosis tip 3 gibi dört farklı gende mutasyon sonucu ortaya çıkan kalıtsal demir birikim hastalıklarının çoğunda insan ve hayvan modellerinde hepsidinin demir fazlalığına rağmen yetersiz yapıldığı gösterilmiştir. Hepsinde hastalığın ağırlık derecesi hepsidin düzeyinin ne kadar yetersiz kaldığına bağlıdır. Bu durum TFR2, HFE ve hemojuvelinin hepsidinin regülasyonunda önemli rol oynadıklarını düşündürür. Sadece ferroportin

mutasyonu ile olan hemokromatosis farklıdır. Bu yukardaki bölümde açıklanmıştır.

En ağır juvenil hemokromatosis tipleri hepsidin geninde(HAMP) mutasyonla olan ve fenotipik olarak ondan ayırt edilemeyen hemojuvelin mutasyonu (HJV, HFE2) sonucu olmaktadır. Bunlara juvenil hemokromatosisler denilir. Erişkin tipi hemokromatosis yol açanlar ise HFE1, ve TFR2 mutasyonlarıdır. HFE1'de iki tip mutasyon tanımlanmıştır. HFE Cys282Try (tip1) ve HFE_His63Asp (tip 2).

HFE atipik bir major HLA sınıfı molekülü. TFR1 ile ilişki kurar. TFR1 hücreye demir alımında önemli transmembran glukoproteindir. HFE eksikliğinde kripte yeteri kadar demir alımı olamamakta, bu demir eksikliği sinyali yaratarak hepsidinin az salınımına neden olmaktadır.

Hemojuvelin 'Repulsive Guidance Molekül ailesi, RGM)'nin bir üyesidir. Bunlar sisteinden zengin proteinlerdir. Nöronal diferansiyasyon, migrasyon ve apoptosiste yer alırlar. Her biri N- terminal sinyal peptit içerirler. Hem membrana bağlı hem solubul şekilde bulunurlar. Aile bireyleri RGM A-nöral dokuda, RGM B-(dragon) nöral ve üreme dokularında, hemojuvelin veya RGM C(HJV, HFE2, JH) çizgili kas ve periportal hepatositlerde ve kalpte bulunmaktadır. RGM'lerin reseptörü neogenindir. Bu bir transmembran proteindir. RGMA ve RGMB neogenine bağlanırlar. HJV de invitro neogenine bağlanır.

RGMproteinleri Bone morfogenetik proteinlerinin (BMP) koreseptörleri olarak fonksiyon yapabilirler. Hemojuvelinin de BMP'nin koreseptörü olduğu belirlenmiştir. BMP ler TGF- beta ailesinin üyeleridir. Osteogenesis, gibi pek çok biyolojik aktiviteleri vardır. RGMler BMP2 ve 4 ile direkt olarak ilişki kurup, BMP sinyal yolunu güçlendirirler.

Hemojuvelinin diferrik transferinle olan hepsidin mRNA ekspresyonunu BMP4 sinyali üzerinden yönlendirdiği düşünülmektedir. BMP direkt olarak hepsidini artırır, demiri azaltır. Çalışmalarda hemojuvelin ile hepsidin düzeylerinin korelasyon göstermesi demir yüklenmesine cevabın en olası mediatörünün hemojuvelin olduğunu düşündürmektedir.

Hemolitik ve diseritropoetik anemilerde, devamlı transfüzyonel demir birikimi olan talasemilerde organizmada demir birikimi olmasına rağmen hepsidin düzeyi düşük olmaktadır. Burada aneminin etkisi ve hızlanmış eritropoezin etkisi, demir fazlalığının hepsidini artırıcı etkisine göre daha

baskın olmakta ve hepsidin az yapılmaktadır. Bu hastalarda hepsidin düşük oluşu, demir emiliminin artması ve dağılımının bozulması ile sistemik demir birikimi ve organ hasarını da artırmaktadır.

Hepsidin ekspresyonunun regülasyonu

İnflamatuvar sitokinlerin özellikle IL-6 ile *in vivo* ve *in vitro* olarak hepatositlerde hepsidin ekspresyonunun arttığı, anti-IL6 ile de azaldığı gösterilmiştir. Fakat IL6 geninde harabiyet yapıp endotoksin verildiğinde hepsidin artmamakta ve hipoferinemi olmamaktadır. HFE proteini olmadığı zaman ise endotoksin verildiğinde IL6 artmakta fakat hepsidin artışı olmamaktadır. Enflamasyon olduğunda IL6 salınır ve reseptörüne bağlanır. IL6 ligand-reseptör ilişkisi Janus kinazların (JAK lar) aktivasyonuna yol açar. Bunlar da sinyal transduksiyonları ve transkripsiyon aktivatörleri proteinlerinin (STAT) fosforilasyonuna sebep olurlar. Özellikle fosforile olan STAT3, hücre çekirdeğine giderek hedef genlerinin transkripsiyonuna neden olur. IL6 hepsidinin geni olan HAMP transkripsiyonunu STAT3 aktivasyonu ile yapmaktadır. STAT3, HAMP promotöründeki regülatuar elemente bağlanması ile hepsidin ekspresyonu indüklenmektedir. Yani enflamasyonda hepsidin artışı IL6/STAT yolu ile olmaktadır. Bu da bize enflamasyon anemisinde hepsidinin IL6 ile artması yanında, bazı malignitelerde olduğu gibi sitokinlerin artmadığı durumlarda da karaciğerdeki STAT3'teki değişikliklerin hepsidin artışına yol açmasını ve anemiye neden olmasını açıklamaktadır. Ayrıca hepsidinin enflamasyon durumlarında artmasında STAT3'ün anahtar rol oynadığı, STAT3 inhibe edildiğinde hepsidinin artmadığı da gösterilmiştir.

Hepsidin regülasyonunun ikinci şekli kemik morfolojik protein (BMP) BMP /Smad yolu ile dir. BMP'ler TGF- β ailesinden sitokinler ve bir çeşit otokrin hormonlardır. Hücre proliferasyonunda, diferasyonunda, apoptosiste, dokulara migrasyonda anahtar rol oynarlar. BMP'ler özellikle kardiak, nöral ve kıkırdak diferasyonunda esansiyel rol alırlar. Hemojuvelin BMP nin koreseptörü olarak BMP sinyalini artırır o da hepsidin ekspresyonunu artırır. HJV mutasyonunda BMP sinyali bozulur ve hepsidin artmadığı için çok erken yaşta başlayan demir birikimi ortaya çıkar.

Tüm BMP'ler, BMP'nin tip I ve tip II hücrelerin/treonin kinaz reseptörlerine, BMP-tipI/tipII-reseptör kompleksi oluşturmasını içeren ortak sinyal yolunu kullanırlar. Bu kompleks RSmad

denilen intrasellüler proteinin fosforilasyonunu sağlar. Co-Smad da denilen Smad 4 hücrenin nükleusuna taşınır ve hedef geni aktive eder. Wang ve arkadaşları Smad 4 te delesyonun embriyonik ölüme neden olduğunu, Smad 4'ün karaciğere özgül inaktivasyonunun, hepsidin sentezinin bozulmasına yol açtığını ve hepsidinsiz sıçanda olduğu gibi aşırı demir birikim fenotipi gösterdiğini ispatlamışlardır.

Babitt ve arkadaşları önce, hemojuvelinin Bone morfolojik protein (BMP) sinyalinin koreseptörü olduğunu, BMP sinyalinin karaciğerde *in vitro* olarak hepsidin ekspresyonunu düzenlediğini, sonra da *in vivo* olarak BMP-2 verilmesinin hepsidin ekspresyonunu artırdığını ve serum demir düzeyini düşürdüğünü gösterdiler. Ayrıca *in vitro* olarak rekombinan solubul hemojuvelinin (HJV.Fc) formunun BMP lere bağlandığı, BMP antagonisti gibi hareket ettiği gösterildi. Bu hepsidin transkripsiyonunu inhibe etme etkisi membrandaki HJV ile yarıştığı için olmaktadır. *In vivo* olarak solubul HJV (HJV-Fc) verildiğinde hepsidin azalırken ferroportinin arttığı, dalak demir depolarının mobilize olduğu, serum demir düzeyinin arttığı gösterildi. Solubul HJV ile birlikte IL6 verildiğinde bile gene BMP sinyali azalmakta ve hepsidin sentezi de azalmaktadır. Bu çalışma Wang'ın gözlemini tamamen destekler şekildedir. Smad 4 geninde delesyon olan sıçan enflamasyona ve demir birikimine cevap olarak hepsidin sentezliyememiştir. Bu çalışmalarla ilk kez hepsidin ekspresyonunda BMP/Smad4 yolunun kritik bir rol oynadığı gösterilmiştir.

Özet olarak hepsidin ekspresyonunun regülasyonu transkripsiyonal düzeyde olmaktadır. Hepsidin regülasyonunda şimdilik tanımlanmış iki yol vardır. Bunlar yukarıda açıklandığı şekilde BMP/SMAD sinyali ve IL6/STAT3 sinylidir. Pek çok çalışmada da STAT larla TGF β /SMAD sinyali arasındaki bağlantı olduğu raporlanmıştır. HJV BMP'nin koreseptörü gibi davranmakta, BMP-tipI/tipII reseptör kompleksinin aktivasyonunu kolaylaştırmaktadır.

Demirin tam olarak hepsidini nasıl düzenlediği halen tam net değildir. *In vivo* olarak demir yüklenildiğinde hepsidin artışı olmakta fakat *in vitro* olarak bu durum olmamaktadır. Son olarak bunun esas sensörünün transferine bağlı demir konsantrasyonu olduğu düşündürülen sonuçlar vardır. Diferrik transferin (halotransferrinin) miktarı transferin saturasyonu arttıkça artmakta ve esas bu demir sensörü olmaktadır. Normal ve patolojik şartlarda

demir emiliminde ve tüketimindeki değişiklikler serum transferin saturasyonunda büyük değişikliklere yol açmakta bu da hepatositlere halotransferrinin tarafından yansıtılmakta ve demir durumunun hissedilmesini halotransferrin sağlamaktadır.

Hepatositler sadece demir reglaturan hormon olan hepsidini yapan ve salgılayan hücreler değil aynı zamanda sistemik demir dengesini yansıtan plazma halotransferrin konsantrasyonunun sensörleridir. Halotransferrin konsantrasyonları hepsidin mRNA konsantrasyonlarını hemojuvelin/BMP2/4-e bağımlı yol üzerinden ayarlamaktadır.

Andrews ve arkadaşları memelilerde organizma demir algılanış yolunun HFE'nin TfR2 ile ilişkisi sonucu olduğunu belirtmektedirler. Bütün vücudun demir durumu transferin saturasyonu ile HFE-TfR1 kompleksine yansıtılmakta ve TfR2 ye iletilmektedir. Sonuçta transferin saturasyonu arttığında potansiyel olarak demiri azalmaya yönelik olaylar başlar. Bu organizma demir durumunun hissedilişinin, bu hissi iletme yolu olan BMP2/4 ve reseptörlerinin koreseptör hemojuvelinle kombinasyonları ve hepsidin sentezine yönelmesi tahmin edildiğinden çok daha kompleks olduğu görülmektedir.

Kaynaklar

1. Aquilar-Martinez P: Non-HFE-related hereditary iron overload. *Presse Med.* 2007 May 29; (Epub ahead of print).
2. Atanasiu V, Manolescu B, Stoian I: Hepsidin-central regulator of iron metabolism. *European Journal of Haematology Journal Compilation* 78(1-10) 2006 Blackwell Munksgaard.
3. Babitt JL, Huang FW, Xia Y, Sidis Y, Andrews NC, Lin HY: Modulation of bone morphogenetic protein signaling in vivo regulates systemic iron balance. *The Journal of Clinical Investigation* 117(7):1933-1939, 2007.
4. Beutler E: Iron storage disease: Facts, fiction and progress. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, Article in Press, available online 31 May, 2007, doi:10.1016/j.bcmd.2007.03.009.
5. Camus LM, Lambert LA: Molecular evolution of hemojuvelin and the repulsive guidance molecule family. *Journal of Molecular Evolution Springer Science+Business Media, LLC* 10.1007/s00239-006-0241-5. 2007
6. Dallaglio G, Law E, Means Jr RT: Hepsidin inhibits in vitro erythroid colony formation at reduced erythropoietin concentrations. *Blood* 107(7):2702-2704, 2006.
7. De Domenico I, Ward DM, Kaplan J: Hepsidin regulation: ironing out the details. *J Clin Invest* 117(7):1755-1758, July 2, 2007.
8. De Domenico I, Ward DM, Langelier C, Vaughn MB, Nemeth E, Sundquist WI, Ganz T, Musci G, Kaplan J: The molecular mechanism of hepcidin-mediated ferroportin down-regulation. *Mol Biol Cell.* 2007 May 2; (Epub ahead of print).
9. Domellöf M: Iron requirements, absorption and metabolism in infancy and childhood. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 10(3):329-335, May 2007.
10. Falzacappa MV, Spasic MV, Kessler R, Stolte J, Hentze MW, Muckenthaler MU: STAT3 mediates hepatic hepcidin expression and its inflammatory stimulation. *Blood* 109:353-358, 2007.
11. Flanagan JM, Truksa J, Peng H, Lee P, Beutler E: In vivo imaging of hepcidin promoter stimulation by iron and inflammation. *Blood Cells, Molecules, and Diseases* 38(3):253-257, 2007.
12. Fleming RE, Britton RS: Iron imports VI. HFE and regulation of intestinal iron transport. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 590: G199-G594, 2006.
13. Frazer DM, Anderson GJ: Iron imports I. Intestinal iron absorption and its regulation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 290: G631-G635, 2006.
14. Ganz T, Nemeth E: Iron imports IV. Hepsidin and regulation of body iron metabolism. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 290: G199-G203, 2006.
15. Goswami T, Andrews NC: Hereditary hemochromatosis protein, HFE, interaction with transferin receptor 2 suggests a molecular mechanism for mammalian iron sensing. *Journal of Biological Chemistry* 281(39):28494-28498, 2006.
16. Lin L, Valore EV, Nemeth E, Goodnough JB, Gabayan V, Ganz T: Iron-transferrin regulates hepcidin synthesis in primary hepatocyte culture through hemojuvelin and BMP2/4. *Blood.* 2007 May 31; (Epub ahead of print).
17. Nemere I, Hintze K: Novel hormone "receptors". *Journal of Cellular Biochemistry*, published online: 1 Jun 2007, doi: 10.1002/jcb.21437.
18. Nemeth E, Ganz T: Iron disorders and the regulation of hepcidin. *Annu Rev Nutr* 26:323-342, 2006.
19. Oates PS: The role of hepcidin and ferroportin in iron absorption. *Histol Histopathol* 22:791-804, 2007.
20. Punnonen K, Irjala K, Rajamäki A: Serum transferrin receptor and its ratio to serum ferritin in the diagnosis of iron deficiency. *Blood* 89:1052-1057, 1997
21. Roy CN, Enns CA: Iron homeostasis: New tales from the crypt *Blood* 96: 13, 4020-4027, 2000.
22. Sow FB, Florence WC, Satoskar AR, Schlesinger LS, Zwilling BS, Lafuse WP: Expression and localization of hepcidin in macrophages: a role in host defense against tuberculosis. *Journal of Leukocyte Biology* 82:1-12, 2007 (Uncorrected Version. Published on July 3, 2007 as DOI:10.1189/jlb.0407216).
23. Wrighting DM, Andrews NC: Interleukin-6 induces hepcidin expression through STAT3. *Blood* 108(9): 3204-3209, 2006.
24. Wang RH ve ark.: A role of SMAD4 in iron metabolism through the positive regulation of hepcidin expression. *Cell Metab.* 2:399-409, 2005