

ABSTRAKT

Železo je kovový prvek, který hraje v lidském organismu zásadní roli, ale jeho nedostatek i nadbytek jsou spojeny se závažnými chorobnými stavy. Hlavním regulátorem metabolismu železa je hepcidin, peptid tvořený v játrech. Nadbytek železa a zánět expresi hepcidinu zvyšují, nedostatek železa a aktivovaná erytropoéza ji snižují. Molekulární mechanismy regulace exprese hepcidinu a jejich hierarchie a propojení jsou poznány jen částečně. Hlavní regulační drahou je BMP/ SMAD, která reaguje na množství železa v organismu. Její součástí tvoří řada molekul včetně hemojuvelinu a HFE a jejich mutace jsou spojeny s neadekvátně nízkou produkcí hepcidinu, nadbytkem železa a hereditární hemochromatózou. Erytroidní regulace, která musí mít na expresi hepcidinu negativní působení, je známa jen částečně, stejně jako její propojení s drahou BMP/ SMAD. V nedávné době byly popsány dva nové negativní regulátory exprese hepcidinu. Membránový enzym přítomný v hepatocytech – matriptáza-2 (MT-2, TMPRSS6) a solubilní faktor tvořený erytroblasty – erytoferron (ERFE).

Cílem naší práce bylo zjistit, jak je MT-2 zapojena do erytroidní dráhy a zdali nemůže být místem, kde se protínají jednotlivé regulační dráhy. Stanovovali jsme expresi genů na úrovni mRNA pomocí real-time PCR a na úrovni proteinů pomocí imunoblotů. K pokusům jsme nejprve použili samce myši a samice potkanů, kterým byl podáván erytropoetin (EPO), železo či byli na nízkoželeznou dietě. Prokázali jsme, že železo ani EPO neovlivňují expresi MT-2 na úrovni mRNA, ale že je množství MT-2 ovlivněno na úrovni proteinu. EPO a nedostatek železa navozený nízkoželeznou dietou ji zvyšují, podání železa ji naopak snižuje. Změny byly výraznější u potkanů. V dalších experimentech jsme proto u potkanů podali kombinaci podávání železa a EPO a sledovali jejich vliv na MT-2 a ERFE. Potvrdili jsme předešlé pozorování na myších, že při předchozím podání vysokých dávek železa nedochází po podání EPO k snížení exprese hepcidinu, a to přesto, že exprese ERFE ve slezině zůstává zvýšena. Protože podání železa zabránilo vzestupu množství proteinu MT-2 po EPO, domníváme se, že MT-2 přispívá k omezení poklesu hepcidinu.

Z našich výsledků dále vyplývá, že zvýšené ERFE i snížené množství fosforylovaných SMAD proteinů nedokážou v případě předchozího podání železa dostatečně snížit expresi hepcidinu. Exprese hepcidinu zůstává vysoká (normální) i v přítomnosti vysokého množství ERFE v plazmě a aktivaci dráhy BMP/ SMAD. Podání železa přitom zabraňuje zvýšení množství MT-2, což by mohlo být molekulární příčinou toho, že exprese hepcidinu není

snížená, a to i při současné výrazné erytroidní stimulaci. To by nasvědčovalo tomu, že MT-2 může mít roli v dlouhodobější erytroidní regulaci hepcidinu a může být místem, kde se erytroidní i zásobní regulační systém setkávají a že mechanismy regulace hepcidinu a metabolismu železa jsou zřejmě výrazně ovlivněny časovým průběhem a mohou se lišit podle akutnosti či dlouhodobosti změn v erythropoéze.

Klíčová slova: železo, hepcidin, erythropoetin, matriptáza-2, erytoferron, zánět