

Aspectos moleculares de la absorción duodenal de hierro. Papel del gen *HFE*

P. Guix^a, M. Parera^a, J.A. Castro^c, A. Picornell^c, M.M. Ramón^c y A. Obrador^b

^aServicio de Análisis Clínicos. ^bServicio de Digestivo. Hospital Universitario Son Dureta. ^cLaboratorio de Genética, Departament de Biologia. Universitat de les Illes Balears. Palma de Mallorca. España.

INTRODUCCIÓN

El descubrimiento del gen *HFE*¹, responsable de la mayoría de casos de hemocromatosis hereditaria (HH), ha llevado a la identificación de nuevas proteínas implicadas en la absorción de hierro en el duodeno y en la transferencia del mismo al principal órgano de depósito, el hígado; el objetivo de esta revisión es describir estas nuevas proteínas y los conocimientos actuales sobre las rutas metabólicas en las que se encuentran implicadas (tabla I).

Los metales de transición, como el hierro, son excelentes catalizadores por su capacidad para el intercambio de electrones en condiciones aeróbicas. Estas características hacen de él un metal imprescindible en funciones celulares esenciales como la síntesis de ADN, el transporte de oxígeno y la respiración celular². Esta capacidad para coexistir en dos formas de oxidación le proporciona la mayor parte de sus propiedades, pero al mismo tiempo lo convierte en un tóxico, cuando su concentración supera la cantidad tolerada por la célula. El hierro desempeña un papel decisivo en la génesis de especies muy reactivas a partir de la molécula de oxígeno. La regulación de la disponibilidad y el secuestro adecuado del hierro libre son los principales mecanismos para mantener bajo control la formación de estas especies reactivas de oxígeno, denominadas ROS; la célula desarrolla sistemas sofisticados para adecuar la concentración intracelular de hierro a sus necesidades fisiológicas y mantenerlo por debajo del umbral tóxico.

El hígado es el principal órgano de depósito de hierro y el más afectado por su exceso. Distintos estudios³⁻⁵ han demostrado que el exceso de hierro en los hepatocitos es el responsable del estrés oxidativo que da lugar a la lesión hepática en la HH.

Correspondencia: Dr. A. Obrador Adrover.
Cap de Servei de Digestiu.
Hospital Son Dureta.
Correo electrònic: obrador@hsd.es

Recibido el 31-7-2002; aceptado para su publicación el 29-8-2002.

HOMEOSTASIS DEL HIERRO

Una persona adulta sana acumula de 2-5 g de hierro. La mayoría del hierro corporal se distribuye entre la hemoglobina, el hígado y los macrófagos del sistema reticulo-endotelial. El contenido total de hierro en el organismo es regulado a través del proceso de absorción intestinal. En condiciones fisiológicas, sólo se absorbe un 10% del hierro procedente de la dieta (1 mg/día). El proceso tiene lugar en la membrana apical de los enterocitos del duodeno y parte inicial del yeyuno.

CAPTACIÓN DE HIERRO EN EL ENTEROCITO DUODENAL

El hierro contenido en la dieta se encuentra principalmente como hierro férrico (Fe 3+) o como hierro hemo. El hierro férrico forma fácilmente complejos insolubles; por ello, su biodisponibilidad es menor y, para su absorción, debe ser previamente reducido a ferroso. Recientemente, se ha identificado una enzima probablemente responsable del proceso, una reductasa situada en la membrana apical del enterocito, que recibe el nombre de Dcytb (citocromo b duodenal)⁶. El hierro hemo presente en la dieta se absorbe directamente como tal a través de un transportador no identificado. Una vez en el interior del enterocito el hierro es liberado por una hemooxigenasa.

La captación de hierro tiene lugar a ambos lados del epitelio intestinal: la membrana apical y la membrana basolateral^{2,7}. La membrana apical del enterocito maduro está especializada en el transporte de hierro hemo y de hierro ferroso procedente de la dieta al interior del enterocito. Se han propuesto tres vías de entrada (fig. 1). La mejor caracterizada es la captación de hierro ferroso por el transportador de metales divalentes DMT1 (también llamado Nramp 2 o DCT1)^{8,9}. Este transportador introduce hierro ferroso y otros cationes divalentes a través de la membrana apical desde el lumen intestinal hasta el enterocito. La segunda vía permite la entrada del grupo hemo procedente de la degradación de la hemoglobina

TABLA I. **Proteínas relacionadas con el metabolismo del hierro**

Proteína	Función	Localización
Citocromo b duodenal (Dcytb) Transportador de metales divalentes (DMT1) Ferroportina (FP1)	Reductasa férrica Transportador de hierro Fe 2+ Transportador de hierro Fe 2+	Membrana apical del enterocito Membrana apical del enterocito/endosoma Membrana basolateral del enterocito, placenta, otras células
Hephaestina (Hp) Transferrina (TF) Receptor de transferrina 1 (TfR 1)	Ferroxidasa Transportador de hierro Fe 3+ Captación de hierro	Membrana basolateral del enterocito Plasma Células eritroides, intestinales (cripta) y macrófagos
Receptor de transferrina 2 (TfR 2) Ferritina IRP 1	Captación de hierro Almacén citosólico Fe 2+ Regulador postranscripcional de ARNm diana	Hepatocitos, monocitos Mayoría de células Células de hígado, bazo, riñón, corazón, duodeno y cerebro
IRP 2 HFE Hepcidina	Regulador postranscripcional de ARNm diana ¿?unión al TfR 1 y ¿? TfR 2 ¿Regulador circulante?	Células de duodeno, riñón y cerebro Enterocitos de la cripta intestinal y macrófagos Hígado, plasma y orina

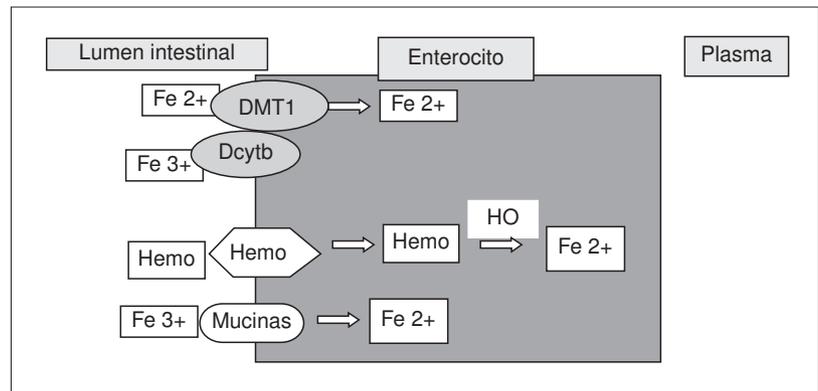


Fig. 1. Captación de hierro en la membrana apical del enterocito duodenal.

contenida en la dieta¹⁰. El mecanismo molecular de esta vía de entrada no ha sido establecido. En tercer lugar, se ha propuesto una vía para la entrada de hierro férrico¹¹, en la que se incluirían mucinas intestinales: una proteína de 56 kD, llamada mobilferrina, una integrina y una reductasa férrica.

PASO DE HIERRO A TRAVÉS DE LA MEMBRANA BASOLATERAL AL PLASMA

Una vez en el enterocito, el hierro pasa a formar parte de un *pool* en el interior de la célula, desde el que puede ser acumulado como ferritina o exportado hacia el plasma, donde se une a la transferrina plasmática previa oxidación a hierro férrico. El transporte de hierro a través de la membrana basolateral de los enterocitos de las vellosidades implica a varias proteínas: la ferroportina 1 (FP1)¹², también denominada proteína reguladora de hierro IREG1¹³ o proteína transportadora de metales MTP1¹⁴, y una ferroxidasa llamada hephaestina (Hp)¹⁵. Estas proteínas actúan al parecer conjuntamente en el proceso de paso del hierro intracelular al plasma (fig. 2).

CAPTACIÓN DE HIERRO POR LAS CÉLULAS

El hierro circula en el plasma unido a la transferrina (TF). Las células del organismo reciben el hierro que precisan

procedente de la transferrina diférrica que se une ávidamente al receptor de transferrina 1 (TfR1), localizado en todas las membranas celulares, excepto en los hematíes. El complejo Fe-TF-TfR1 es internalizado en vesículas ácidas, donde el hierro es liberado de la TF y llevado al citoplasma celular por el DMT1¹⁶, para ello previamente debe ser reducido a Fe2+. La identidad de la reductasa implicada es desconocida y al parecer es distinta de la Dcytb cuya expresión se limita al epitelio intestinal. La TF libre de hierro (apo-TF) permanece unida al TfR1 y es reciclada a la superficie celular donde se disocia de su receptor^{17,18}.

Recientemente, ha sido descubierto un nuevo receptor denominado receptor de transferrina 2 (TfR2)¹⁹; su función podría ser la misma que la del TfR1, pero se observan diferencias en su expresión celular. La transferrina diférrica presenta *in vitro* menor afinidad por este receptor que por el TfR1.

En los macrófagos la entrada de hierro puede realizarse a través del TfR1 y por fagocitosis de los hematíes senescentes, en este caso el hierro es liberado de la hemoglobina, previa actuación de una hemooxigenasa (HO). Parece ser que la ferroportina 1 sería la proteína encargada de devolver este hierro al plasma para que pueda incorporarse a la formación de nuevos hematíes²⁰.

En los hepatocitos se cree que la captación de hierro se realiza a través de los receptores 1 y 2 de la transferrina, pero además existe otra vía de entrada de hierro no unido a transferrina cuyo mecanismo no se conoce²¹.

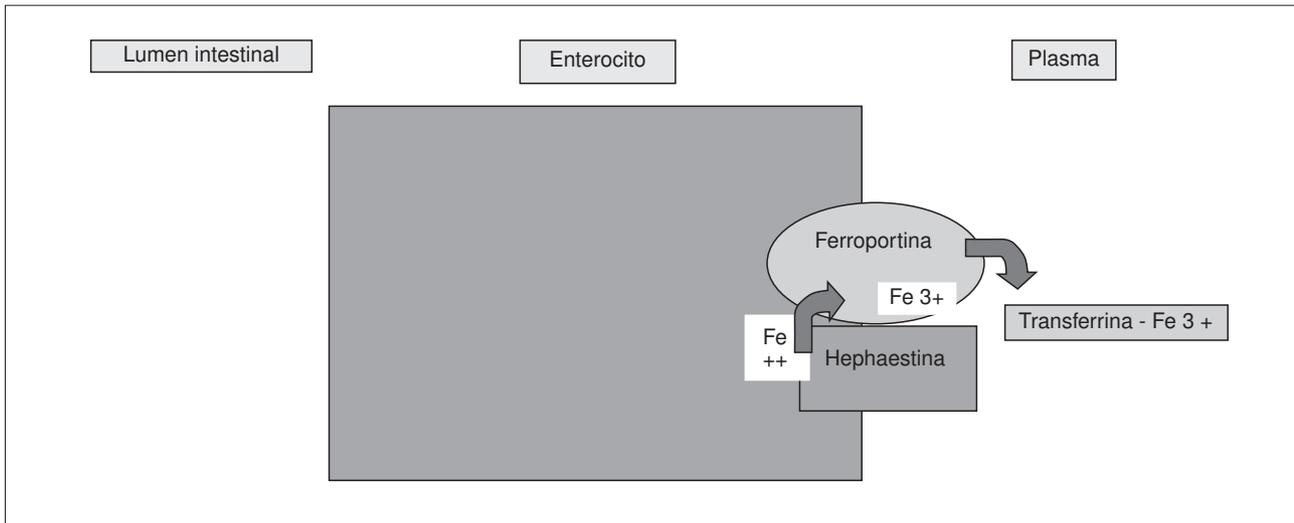


Fig. 2. Entrada de hierro hacia el plasma a través de la membrana basolateral del enterocito.

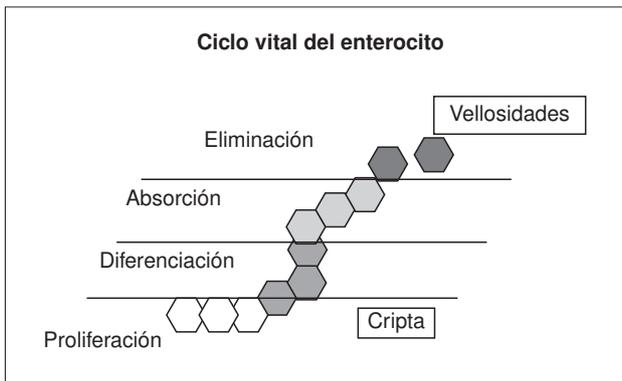


Fig. 3. Ciclo vital del enterocito duodenal.

REGULACIÓN DE LA CAPTACIÓN DE HIERRO

El control del metabolismo del hierro tiene lugar en la absorción en las células epiteliales del duodeno y la captación celular de hierro. Las células que están especializadas en la captación y la exportación de hierro, como las células epiteliales duodenales y los macrófagos de hígado y bazo, deben expresar sistemas reguladores que les permitan responder a señales procedentes de la médula ósea, donde el hierro es utilizado, y del hígado, donde es almacenado.

Regulación intestinal

Los enterocitos duodenales son sensibles a los cambios que se producen en el organismo y capaces de adaptarse a la demanda de hierro. En las criptas intestinales se encuentran células pluripotentes, precursoras de los enterocitos maduros. El proceso de maduración tiene lugar a la vez que se produce la migración de la célula desde la cripta intestinal hacia las vellosidades intestinales, donde

se llevará a cabo el proceso de absorción (fig. 3). Los enterocitos duodenales, una vez finalizado su ciclo vital, se eliminan por descamación. Éste es el único sistema fisiológico de eliminación de hierro a excepción de la hemorragia.

La absorción de hierro en el intestino está regulada por varios mecanismos:

- Depósitos de hierro en el organismo. Se cree que existe un factor regulador que actúa facilitando la acumulación lenta de hierro no hemo procedente de la dieta, aproximadamente 1 mg/día y evitando la sobrecarga^{2,22,23}. No parece que regule la captación de hierro hemo²⁴. No se conoce el mecanismo molecular exacto y se han propuesto distintas moléculas como factores solubles implicados (receptor de transferrina, transferrina, ferritina y hepcidina)²⁵⁻³².

- Factor eritropoyético. Mediante este mecanismo se cree que se consigue ajustar la absorción intestinal de hierro a las demandas de la eritropoyesis. Esta vía es independiente de los depósitos de hierro^{2,23}. No se conoce la naturaleza de este factor capaz de interactuar entre la médula ósea y el duodeno. La hipótesis de la existencia de este regulador se basa en la observación de que en los individuos con depósitos normales o aumentados de hierro se produce un aumento de la absorción en función de la demanda de la médula ósea. Se cree que esta vía está mediada por un regulador diferente al de los depósitos. Los individuos anémicos pueden incrementar la absorción hasta 20-40 mg/día, aumento muy superior al que puede producir el regulador de los depósitos³³. Se ha propuesto que el receptor soluble de la transferrina actuaría como un factor eritropoyético capaz de transmitir la información entre la médula ósea y el intestino³⁴.

- Otros factores:

- Concentración de hierro en la dieta. Después de una elevada dosis de hierro, los enterocitos no absorben más hierro de la dieta en los días posteriores³⁵. Se considera que existen pocos datos experimentales que refuercen este concepto³⁶.

- Hipoxia. Se ha observado que en situaciones de hipoxia se produce un aumento de la absorción de hierro, los genes que codifican la síntesis de transferrina y del Tfr son inducibles por esta situación³⁷⁻⁴⁰. No se sabe si el mecanismo por el cual aumenta la absorción de hierro en esta situación es el mismo que el inducido por el regulador eritropoyético.

Regulación de la captación de hierro en la cripta intestinal

La captación de hierro desde el plasma a los enterocitos de las criptas intestinales ejerce un papel esencial, ya que informa de los depósitos de hierro y condiciona su grado de absorción¹⁰. Los cambios agudos en los valores de hierro en el organismo, debidos a una déficit o una sobrecarga, no se reflejan en los valores de absorción de hierro hasta pasados 2 o 3 días⁴¹. Este tiempo se correlaciona con la maduración de los enterocitos duodenales.

El enterocito de la cripta recibe señales desde varios tejidos (hígado, músculo esquelético...) respecto a los depósitos de hierro en los mismos. Aunque no han sido identificados, se cree que serían factores solubles los responsables de transmitir esta información. Las investigaciones actuales sugieren que la concentración de hierro en las células de la cripta condiciona los valores de DMT1 y ferroportina en el enterocito maduro. Su concentración aumenta cuando disminuye el valor de hierro en las criptas intestinales, y viceversa. Se cree que esta respuesta podría estar mediada por las proteínas reguladoras del hierro 1 y 2⁴².

Regulación celular

El control de los valores de hierro intracelular se lleva a cabo mediante la regulación de la síntesis del receptor transferrina y de la ferritina mediante las denominadas proteínas reguladoras del hierro (IRP), sensores citoplásmicos del hierro que controlan postranscripcionalmente su síntesis.

Las IRP se unen a unas regiones no codificantes del ARNm denominados elementos que responden al hierro (IRE), presentes como estructuras repetidas en el extremo 5' de la región no codificante del ARNm de la ferritina y en el extremo 3' final del ARNm del receptor de la transferrina. Los IRE son ligados con una gran afinidad por dos proteínas (IRP1 y IRP2) en ausencia de hierro, el hierro iónico quela fuertemente a la IRP cerrando la estructura interna que, de otro modo, interactuaría con los IRE. Por este ingenioso mecanismo se consigue la regulación recíproca de la síntesis del receptor de transferrina 1 y de la ferritina sobre la traducción. Cuando la IRP se une al IRE en el ARNm de la ferritina, evita la iniciación de la traducción, mientras que la misma unión en el ARNm del Tfr1 inhibe su degradación (que ocurre normalmente en dirección 3-5'), de modo que se traducirán múltiples moléculas de esta proteína. Por el contrario, si el hierro es abundante en la célula, las IRP no se unirán a los IRE, de

modo que no se bloquea la traducción de la ferritina mientras se acelera la degradación del ARNm del Tfr1⁴³. En consecuencia, cuando el hierro escasea aumentan los receptores de transferrina en la superficie de la célula para aumentar la captación de hierro y, a la vez, disminuye la síntesis de la proteína de almacenamiento para aumentar su disponibilidad. Cuando el hierro es abundante ocurre lo contrario: se sintetiza poco Tfr1 para disminuir su entrada y aumenta la síntesis de ferritina para secuestrar el exceso de hierro⁴⁴.

Las IRP pertenecen a la superfamilia de las aconitasas. La IRP1 puede funcionar como proteína reguladora del hierro por medio de una agrupación hierro-azufre (Fe-S) o como enzima capaz de convertir el citrato en isocitrato⁴⁵. Aunque estructural y funcionalmente son similares, la IRP2 no parece tener actividad aconitasa y, además, tiene distinto patrón de expresión tisular⁴⁴.

Se han identificado IRE en el ARNm de otras proteínas relacionadas con el metabolismo del hierro, como la DMT1^{46,47} o la ferroportina⁴⁷, pero su papel en la regulación de la síntesis de estas proteínas no está claro.

LA PROTEÍNA HFE

El gen que codifica la síntesis de esta proteína fue descubierto por Feder et al¹ en 1996. Las mutaciones en este gen son las principales responsables de la hemocromatosis hereditaria (HH), enfermedad autosómica recesiva que conduce al depósito de hierro en órganos parenquimatosos por un aumento en la absorción de hierro procedente de la dieta. El defecto bioquímico en esta enfermedad ha sido atribuido a una disminución de la funcionalidad de la proteína HFE.

La proteína HFE es un homólogo del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) con tres dominios extracelulares, una zona de transmembrana y una pequeña parte intracelular⁴⁸. Como otras moléculas de clase I, contiene puentes disulfuro para estabilizar su estructura terciaria. Se requiere uno de estos puentes para su unión a la β 2-microglobulina (β 2M), proteína necesaria para la presentación de las proteínas de clase I en la superficie celular. Algunos estudios inmunohistoquímicos han demostrado que se expresa en los enterocitos de las criptas del intestino delgado⁴⁹ y otros estudios demuestran que desempeña un papel clave en la regulación del transporte de hierro mediado por el Tfr1^{50,51}. Sin embargo, a pesar de los grandes avances realizados, la función exacta de la proteína HFE en el metabolismo del hierro sigue siendo desconocida.

Distribución tisular y celular de la proteína HFE

Previamente al descubrimiento del gen *HFE*, se había demostrado la relación entre la β 2-microglobulina y la hemocromatosis hereditaria. Estudios bioquímicos y estructurales han revelado que la proteína HFE se asocia a la β 2-microglobulina en la superficie celular⁵²⁻⁵⁵.

Un primer estudio inmunohistoquímico demostró que la proteína HFE se expresaba en algunas células del tracto

gastrointestinal desde el esófago hasta el recto, en leucocitos, y también se observó tinción positiva en algunas líneas celulares de los sinusoides hepáticos⁴⁹. Bastin et al⁵⁶, en un estudio realizado con anticuerpos monoclonales específicos frente a la proteína HFE, observaron una tinción positiva en los tejidos, como el hígado (células de Kupffer y endoteliales), el intestino y el cerebro. La tinción era mucho más débil en muestras hepáticas de pacientes con HH. Estos resultados podrían indicar que la pérdida de expresión de la proteína HFE en las células de Kupffer era la responsable de que no se depositase hierro en ellas y de que la acumulación de hierro se produjese en las células parenquimatosas del hígado. Un tercer estudio inmunohistoquímico⁵⁷ analizó una serie de biopsias duodenales de pacientes control, pacientes con HH y pacientes con anemia ferropénica. La proteína HFE se expresaba en las criptas intestinales en los tres casos según un patrón perinuclear. Sin embargo, la tinción era más débil en los pacientes con HH y con anemia ferropénica comparado con el grupo control. No se observaron diferencias entre los pacientes con HH que recibían tratamiento con flebotomías y aquellos que no lo habían iniciado. En definitiva, los estudios inmunohistoquímicos realizados en pacientes con HH demuestran que la expresión de la proteína HFE está disminuida en algunos tejidos como consecuencia de la mutación C282Y.

Función de la proteína HFE

La similitud estructural entre la proteína HFE y las proteínas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) ha planteado diferentes preguntas sobre la función de la proteína HFE, ya que normalmente las moléculas de clase I ejercen un papel importante en los mecanismos de respuesta inmune mediante la presentación de péptidos a los receptores de los linfocitos T⁵⁸. Los estudios realizados hasta hoy no han hallado ninguna función de este tipo en el caso de la proteína HFE⁵⁹.

La proteína HFE está mutada en la forma más común de hemocromatosis hereditaria, y probablemente desempeña un papel clave en el conjunto de mecanismos sensores que condicionan el valor de hierro en el enterocito duodenal y, por tanto, en la cantidad del mismo que se absorberá en el enterocito maduro⁵⁰.

Existen varias hipótesis sobre el mecanismo de acción de esta proteína como sensor de hierro, y en los procesos de absorción de este metal en el organismo. A pesar del gran avance que se ha producido con la identificación del gen defectuoso y la caracterización de algunas de las propiedades bioquímicas de la proteína HFE, ninguna de estas hipótesis explica completamente el mecanismo molecular que tiene lugar en la hemocromatosis hereditaria.

La proteína HFE se une con gran afinidad al TfR1, en tejidos y líneas celulares^{50,51}. El TfR1, a su vez, se une a la transferrina, formándose un complejo terciario⁴⁸. Un estudio reciente demuestra que la proteína HFE no se une al TfR2⁶⁰. El importante papel del TfR1 en la captación de hierro, así como la elevada afinidad entre éste y la protef-

na HFE, sugieren que la formación del complejo HFE-TfR es crítica para la función de la proteína HFE en la absorción de hierro⁶¹.

Basándose en experimentos *in vitro*, algunos autores han atribuido a esta proteína un papel como inhibidor competitivo en la unión de hierro ligado a transferrina y TfR1⁶²⁻⁶⁵; sin embargo, otros autores mantienen que la exposición de las células a la proteína HFE conduce a una acumulación de hierro y ferritina y a una disminución de la expresión del TfR1⁴².

La hipótesis más extendida⁵⁹ sobre la función de la proteína HFE sugiere que desempeña un papel importante como sensor de los depósitos de hierro en los enterocitos de la cripta intestinal. La proteína HFE facilitaría, en este sentido, la captación de hierro vía TfR1; la proteína mutada perdería esta capacidad, convirtiendo las células en deficitarias de hierro. Esta situación daría lugar al aumento de la expresión del transportador de metales divalentes DMT-1 y ferroportina 1, y tal vez de otras proteínas implicadas en el metabolismo del hierro, que son los responsables de la absorción de hierro procedente de la dieta en las vellosidades de las células del intestino delgado. Existen datos que apoyan este mecanismo fisiopatológico, como la observación de que los enterocitos de los pacientes con hemocromatosis hereditaria son paradójicamente deficitarios en hierro⁶⁶ y presentan un aumento de la expresión de DMT1 y ferroportina⁶⁷, o que la exposición a la proteína HFE no mutada normaliza el hierro en los marcógrafos de los sujetos con HH⁶⁸.

Según Townsend et al⁴², la proteína HFE amplifica la señal proporcionada por el índice de saturación de transferrina plasmática a la célula de la cripta. Cuando el índice de saturación de transferrina es elevado (situación de sobrecarga de hierro), el hierro ligado a transferrina se une a los TfR1 de la cripta, desplazando a la proteína HFE, que se disocia del TfR1 y se une a la ferroportina; así, se inhibe la salida de hierro desde el enterocito de la cripta al plasma, se aumenta la concentración de hierro en estas células y se produce una menor síntesis de transportadores de hierro en el enterocito maduro (DMT1 y ferroportina); por tanto, disminuirá la absorción de hierro. Cuando el IST es bajo (déficit de hierro), se producirá la situación inversa. Este modelo incluye un papel para el receptor soluble de la transferrina: este receptor cuya concentración aumenta en el plasma en respuesta a la demanda de los precursores eritropoyéticos, se uniría a la proteína HFE en la membrana de las células de la cripta, impidiendo la unión de la HFE a la ferroportina y, por tanto, disminuiría el hierro intracelular y aumentaría la absorción de hierro intestinal. Este modelo explicaría la teoría del regulador de los depósitos y del regulador eritropoyético a través de una vía final común, interfiriendo la acción inhibitoria de la proteína HFE sobre la salida de hierro intracelular.

Una tercera hipótesis sobre la función de la proteína HFE implica a un péptido antimicrobiano, la hepcidina, en el metabolismo del hierro. Nicolas et al³⁰ observaron que la ausencia de la expresión de este péptido en ratones daba lugar a una sobrecarga de hierro. La hepcidina sería la molécula capaz de comunicar el estado de los depósitos a las

células de la cripta intestinal. Según estos autores, el hierro captado en el hígado por el receptor 2 de transferrina modularía la expresión de la hepcidina que, a su vez, interaccionaría con la proteína HFE y el TfR1 en las células de la cripta intestinal y en las células del sistema reticulo-endotelial para regular la absorción de hierro de la dieta.

EFFECTO DE LAS MUTACIONES C282Y Y H63D

Se han relacionado con la HH dos mutaciones puntuales: C282Y y H63D¹. El cambio del aminoácido tirosina por cisteína en posición 282 elimina un puente disulfuro en el dominio α -3 de la proteína HFE. Esta alteración estructural impide la asociación de la proteína con la β 2-microglobulina y su adecuada presentación en la superficie celular⁵². Estudios biológicos posteriores han confirmado que la proteína HFE normal se une a la β 2-microglobulina y que la proteína mutada no puede unirse⁵³. La proteína mutada se encuentra en el citoplasma celular formando parte de agregados de elevado peso molecular, que son degradados de forma más rápida que la proteína HFE normal⁵³.

La mutación H63D produce cambios en la estructura terciaria de la proteína HFE, que se cree que podrían afectar a su funcionalidad, pero no afecta a la unión con la β 2-microglobulina, ni a la expresión de la proteína en la superficie celular, y su papel es controvertido en la hemocromatosis hereditaria^{48,69}.

En resumen, los conocimientos actuales indican que la entrada de hierro no hemo en el organismo se inicia con la reducción del hierro férrico a ferroso que realiza la enzima Dcytb (citocromo b duodenal) y su introducción al enterocito por medio del transportador DMT1. Una vez en el enterocito, el hierro pasa a formar parte de un *pool* desde el cual puede ser almacenado como ferritina o transferido a plasma en función de las necesidades del organismo. El paso de hierro al plasma incluye una oxidación realizada por la enzima hephaestina y su transporte a través de la membrana basolateral efectuado por la ferroportina. Una vez en el plasma, el hierro se une a la transferrina, desde donde será captado por las células mediante el TfR1, y en algunas células también mediante el TfR2; la liberación hacia el citoplasma celular es realizado por el DMT1. Como se ha señalado en el caso de los macrófagos, la ferroportina es la encargada de devolver al plasma el hierro acumulado, para su reutilización. El papel de estas nuevas proteínas implicadas en el metabolismo del hierro se ve reforzado por el hallazgo de diversas mutaciones en los genes que codifican su síntesis y conducen a distintos tipos de sobrecarga de hierro^{20,70-72}. En este proceso metabólico quedan muchos puntos por aclarar, como la vía de entrada al enterocito duodenal del grupo hemo y las posibles vías de entrada a las células de hierro no unido a transferrina.

En cuanto al proceso de regulación del metabolismo del hierro, son numerosos los interrogantes planteados, ya que ninguna de las hipótesis actuales consigue explicar el proceso en su totalidad^{31,42,73}.

La proteína HFE está mutada en la forma más común de hemocromatosis hereditaria, enfermedad en la que se pro-

duce un aumento de la absorción de hierro; por ello, es lógico pensar que ejerce un papel clave en el conjunto de mecanismos sensores que condicionan el valor de hierro en el enterocito duodenal y, por tanto, la cantidad del mismo que se absorberá en el enterocito maduro. Sin embargo, el mecanismo molecular y su función exacta siguen siendo desconocidos.

La hipótesis más extendida sugiere que la proteína HFE facilita la captación de hierro a través del TfR1, y que la proteína mutada perdería esta capacidad convirtiendo las células en deficitarias de hierro, lo que daría lugar al aumento de expresión del DMT1 y de ferroportina 1, responsables directos del aumento de la absorción de hierro procedente de la dieta.

La gran complejidad que presenta la regulación molecular del metabolismo del hierro hace que, a pesar de los grandes avances realizados, queden muchos interrogantes al respecto. Es de esperar que las líneas actuales de investigación permitan esclarecer completamente este metabolismo y dilucidar su papel en otras enfermedades de elevada prevalencia.

BIBLIOGRAFÍA

1. Feder JN, Gnirke A, Thomas W, Tsuchihashi Z, Ruddy DA, Basava A, et al. A novel MHC Class I-Like gene is mutated in patients with hereditary haemochromatosis. *Nat Genet* 1996;13:399-408.
2. Roy CN, Enns CA. Iron homeostasis: new tales from the crypt. *Blood* 2000;96:4020-7.
3. Britton RS. Metal-induced hepatotoxicity. *Semin Liver Dis* 1996;16:3-12.
4. Bacon BR, Britton RS. The pathology of hepatic iron overload: a free radical-mediated process? *Hepatology* 1990;11:127-37.
5. Niemelä O, Parkkila S, Britton RS, Brunt E, Janney C, Bacon B. Hepatic lipid peroxidation in hereditary hemochromatosis and alcoholic liver injury. *J Lab Clin Med* 1999;133:451-60.
6. Mckie AT, Barrow D, Latunde-Dada GO, Rolfs A, Sager G, Mudaly E, et al. An iron regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron. *Science* 2001;291:1755-9.
7. Conrad ME, Crosby WH. Intestinal mucosal mechanism controlling iron absorption. *Blood* 1963;22:406-15.
8. Gunshin H, Mackenzie B, Berger UV, Gunshin Y, Romero MF, Boron WF, et al. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature* 1997;388:482-8.
9. Andrews NC. The iron transporter DMT1. *Int J Biochem Cell Biol* 1999;31:991-4.
10. Anderson GJ. Control of iron absorption. *J Gastroenterol Hepatol* 1996;11:1030-2.
11. Conrad ME, Umbreit JN. Iron absorption-mucin-mobilferrin-integrin pathway. A competitive pathway for metal absorption. *Am J Hematol* 1993;42:67-73.
12. Donovan A, Brownlie A, Zhou Y, Shepard J, Pratt SJ, Moynihan J, et al. Positional cloning of zebrafish ferroportin 1 identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature* 2000;403:776-81.
13. Mckie AT, Marciani P, Rolfs A, Brennan K, Wehr K, Barrow D, et al. A novel duodenal ion-regulated transporter, IREG1, implicated in the basolateral transfer of iron to the circulation. *Mol Cell* 2000;5:299-309.
14. Abboud S, Haile DJ. A novel mammalian iron regulated protein involved in intracellular iron metabolism. *J Biol Chem* 2000;275:19906-12.
15. Vulpe CD, Kuo YM, Murphy TL, Cowley L, Askwith C, Libina N, et al. Hephaestin, a ceruloplasmin homologue implicated in intestinal iron transport, is defective in the *sla* mouse. *Nat Genet* 1999;21:195-9.

16. Fleming MD, Romano Ma, Su MA, Garrick LM, Garrik MD, Andrews NC. Nramp2 is mutated in the anemic Belgrade (b) rat: evidence of a role for Nramp2 in endosomal iron transport. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:1148-53.
17. Aisen P, Wessling-Resnick M, Leibold EA. Iron metabolism. *Curr Opin Chem Biol* 1999;3:200-6.
18. Richardson DR, Ponka P. The molecular mechanisms of the metabolism and transport of iron in normal and neoplastic cells. *Biochim Biophys Acta* 1997;1331:1-40.
19. Kawabata H, Yang R, Hirama 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;274:20826-32.
20. Montosi G, Donovan A, Totaro A, Garuti C, Pignatti E, Cassanelli S, et al. Autosomal dominant hemochromatosis associated with a mutation in the ferroporin (SLC11A3) gene. *J Clin Invest* 2001;108:619-23.
21. Brown KE, Bacon BR. Hepatic iron metabolism in hemochromatosis. En: Barton JC, Edwards CQ, editors. *Hemochromatosis. Genetics, pathophysiology, diagnosis, and treatment*. Cambridge: Cambridge University Press, 2000; p. 157-62.
22. Sayers MH, English G, Finch C. Capacity of the store-regulator in maintaining iron balance. *Am J Hematol* 1994;47:194-7.
23. Andrews NC. Intestinal iron absorption: currents concepts circa 2000. *Dig Liver Dis* 2000;32:56-61.
24. Hunt JR, Roughead ZK. Adaptation on iron absorption in men consuming diets with high or low iron bioavailability. *Am J Clin Nutr* 2000;71:94-102.
25. Flowers CA, Kuizon M, Beard JL, Skikne BS, Covell AM, Cook JD. A serum ferritin assay for prevalence studies of iron deficiency. *Am J Hematol* 1986;23:141-51.
26. Taylor P, Martínez-Torres C, Leets I, García Casal MN, Layrisse M. Relationships among iron absorption, percent saturation of plasma transferrin and serum ferritin concentration in humans. *J Nutr* 1988;118:1110-5.
27. Cook JD, Dasenko S, Skikne BS. Serum transferrin receptor as an index of iron absorption. *Br J Haematol* 1990;75:603-9.
28. Feelders RA, Kuiper-Kramer EP, Van Eijk HG. Structure, function and clinical significance of transferrin receptors. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:1-10.
29. Raja KB, Pountney DJ, Simpson RJ, Peters TJ. Importance of anemia and transferrin levels in the regulation of intestinal iron absorption in hypotransferrinemic mice. *Blood* 1999;94:3185-92.
30. Nicolas G, Bennoun M, Devaux I, Beaumont C, Grandchamp B, Kahn A, et al. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:8780-5.
31. Fleming RE, Sly WS. Hepcidin: a putative iron-regulatory hormone relevant to hereditary hemochromatosis and the anemia of chronic disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001;98:8160-2.
32. Feelders RA, Kuiper-Kramer EP, van Eijk HG. Structure function and clinical significance of transferrin receptors. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:1-10.
33. Finch C. Regulators of iron balance in humans. *Blood* 1994;84:1697-702.
34. Cazzola M, Begin Y, Bergamaschi G, Guarnone R, Cerani P, Barella S, et al. Soluble transferrin receptor as a potential determinant of iron loading in congenital anaemias due to ineffective erythropoiesis. *Br J Haematol* 1999;106:752-5.
35. Hahn PF, Bale WF, Ross JF, Balfour WM, Whipple Gh. Radioactive iron absorption by gastrointestinal tract: influence of anemia, anoxia, and antecedent feeding. *J Exp Med* 1943;78:169-88.
36. Beutler E. How little we know about the absorption of iron. *Am J Clin Nutr* 1997;66:419-20.
37. Lok CN, Ponka P. Identification of a hypoxia response element in the transferrin receptor gene. *J Biol Chem* 1999;274:24147-52.
38. Rolfs A, Kvietikova I, Gassmann M, Wenger RH. Oxygen related transferrin expression is mediated by hypoxia inducible factor 1. *J Biol Chem* 1997;272:20055-62.
39. Toth I, Yuan L, Rogers JT, Boyce H, Bridges KR. Hypoxia alters iron regulatory protein 1 binding capacity and modulates cellular iron homeostasis in human hepatoma and erythroleukemia cells. *J Biol Chem* 1999;274:24467-73.
40. Tacchini L, Bianchi L, Bernelli-Zazzera A, Cairo G. Transferrin receptor induction by hypoxia. HIF-1 mediated transcriptional activation and cell specific post-transcriptional regulation. *J Biol Chem* 1999;274:24142-6.
41. Lombard M, Chua E, O'Toole P. Regulation of intestinal non-haem iron absorption. *Gut* 1997;40:435-9.
42. Townsend A, Drakesmith H. Role of the HFE in iron metabolism, hereditary haemochromatosis, anaemia of chronic disease, and secondary iron overload. *Lancet* 2002;359:786-90.
43. Ponka P, Beaumont C, Richardson DR. Function and regulation of transferrin and ferritin. *Semin Hematology* 1998;35:35-54.
44. Pietrangelo A. Physiology of iron transport and the hemochromatosis gene. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002;282:G403-14.
45. Hentze MW. Translational regulation: versatile mechanisms for metabolic and developmental control. *Curr Opin cell Biol* 1995;7:393-8.
46. Lee PL, Gelbart T, West C, Halloran C, Beutler E. The human Nramp 2 gene: characterization of the gene structure, alternative splicing, promoter region and polymorphisms. *Blood Cells Mol Dis* 1998;24:199-215.
47. Cairo G, Pietrangelo A. Iron regulatory proteins in pathobiology. *Biochem J* 2000;352:241-50.
48. Lebron JA, Bennett MJ, Vaughn DE, Chirino AJ, Snow PM, Mintier GA, et al. Crystal structure of the hemochromatosis protein HFE and characterization of its interaction with transferrin receptor. *Cell* 1998;95:111-23.
49. Parkkila S, Waheed A, Britton RS, Feder JN, Tsuchihashi Z, Schatzman RC, et al. Immunochemistry of HLA-H, the protein defective in patients with hereditary hemochromatosis, reveals unique pattern of expression in gastrointestinal tract. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:2534-39.
50. Waheed A, Parkkila S, Saarnio J, Fleming RE, Zhou XY, Tomatsu S, et al. Association of HFE protein with transferrin receptor in crypt enterocytes of human duodenum. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:1579-84.
51. Parkkila S, Waheed A, Britton RS, Bacon RS, Zhou XY, Tomatsu S, et al. Association of the transferrin receptor in human placenta with HFE, the protein defective in hereditary hemochromatosis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:13198-202.
52. Feder JN, Tsuchihashi Z, Irrinki A, Lee VK, Mapa FA, Morikang E, et al. The Hemochromatosis founder Mutation in HLA-H disrupts β 2-microglobulin interaction and cell surface expression. *J Biol Chem* 1997;272:14025-8.
53. Waheed A, Parkkila S, Zhou XY, Tomatsu S, Tsuchihashi Z, Feder JN, et al. Hereditary hemochromatosis: effects of C282Y and H63D mutations on association with β 2-microglobulin, intracellular processing, and cell surface expression of the HFE protein in COS-7 cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:12384-9.
54. Rothenberg BE, Voland JR. Beta-2 Knockout mice develop parenchymal iron overload: a putative role for class I genes of the major histocompatibility complex in iron metabolism. *Proc Natl Acad Sci* 1996;93:1529-34.
55. Santos M, Schilham MW, Rademakers LH, Marx JJ, De Sousa M, Clevers H. Defective iron homeostasis in beta 2-microglobulin knockout mice recapitulates hereditary hemochromatosis in man. *J Exp Med* 1996;184:1975-85.
56. Bastin JM, Jones M, O'Callaghan, Schimanski L, Mason DY, Townsend ARM. Kupffer cell staining by an HFE-specific monoclonal antibody: implications for hereditary haemochromatosis. *Br J Haematol* 1998;103:931-41.
57. Byrnes V, Ryan E, O'Keane C, Crowe J. Immunohistochemistry of the HFE protein in patients with hereditary hemochromatosis, iron deficiency anemia, and normal controls. *Blood Cells Mol Dis* 2000;26:2-8.
58. Townsend A, Bodmer H. Antigen recognition by class I-restricted T lymphocytes. *Annu Rev Immunol* 1989;7:601-24.
59. Parkkila S, Niemela O, Britton RS, Fleming RE, Waheed A, Bacon BR, et al. Molecular aspects of iron absorption and HFE expression. *Gastroenterology* 2001;121:1489-96.
60. West AP Jr, Bennett MJ, Sellers VM, Andrews NC, Enns CA, Bjorkman PJ. Comparison of the interactions of transferrin receptor and transferrin receptor 2 with transferrin and the hereditary hemochromatosis protein HFE. *J Biol Chem* 2000;275:38135-8.
61. Ramalingam TS, West AP Jr, Lebron JA, Nangiana JS, Hogan TH, Enns CA, Bjorkman PJ. Binding to the transferrin receptor is required for endocytosis of HFE and regulation of iron homeostasis. *Nat Cell Biol* 2000;2:953-7.

62. Gross CN, Irrinki A, Feder JN, Enns CA. Co-trafficking of HFE, a nonclassical major histocompatibility complex class I protein, with the transferrin receptor implies a role in intracellular iron regulation. *J Biol Chem* 1998;273:22068-74.
63. Roy CN, Penny DM, Feder JN, Enns CA. Hemochromatosis protein, HFE, specifically regulates transferrin-mediated iron uptake in HeLa cells. *J Biol Chem* 1999;274:9022-8.
64. Feder JN, Penny DM, Irrinki A, Lee VK, Lebron JA, Watson N, et al. The hemochromatosis gene product complexes with the transferrin receptor and lowers its affinity for ligand binding. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998;95:1472-7.
65. Salter-Cid L, Brunmark A, Li Y, Leturcq D, Peterson PA, Jackson MR, et al. Transferrin receptor is negatively modulated by the hemochromatosis protein HFE: implications for cellular iron homeostasis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999;96:5434-9.
66. Pietrangelo A, Rocchi E, Casalgrandi G, Rigo G, Ferrari A, Perini M, et al. Regulation of transferrin, transferrin receptor and ferritin genes in human duodenum. *Gastroenterology* 1992;102:802-9.
67. Zoller H, Pietrangelo A, Vogel W, Weiss G. Duodenal metal-transporter (DMT-1, NRAMP-2) expression in patients with hereditary hemochromatosis. *Lancet* 1999;353:2120-3.
68. Montosi G, Paglia P, Garuti C, Guzman CA, Bastin JM, Colombo MP, et al. Wild type HFE protein normalizes transferrin iron accumulation in macrophages from subjects with hereditary hemochromatosis. *Blood* 2000;96:1125-9.
69. Lebron JA, West AJ, Bjorkman PJ. The hemochromatosis protein HFE competes with transferrin for binding to the transferrin receptor. *J Mol Biol* 1999;294:239-45.
70. Wallace DF, Pedersen P, Dixon JL, Stephenson P, Searle JW, Powell LW, et al. Novel mutation in ferroportin 1 is associated with autosomal dominant hemochromatosis. *Blood* 2002;100:692-4.
71. Devalia V, Carter K, Walker AP, Perkins SJ, Worwood M, May A, et al. Autosomal dominant reticuloendothelial iron overload associated with a 3-base pair deletion in the ferroportin 1 gene (SLC11A3). *Blood* 2002;100:695-7.
72. Girelli D, Bozzini C, Roetto A, Alberti F, Daraio F, Colombari R, et al. Clinical pathologic findings in hemochromatosis type 3 due to a novel mutation in transferrin receptor 2 gene. *Gastroenterology* 2002;122:1295-302.
73. Philpott C. Molecular aspects of iron absorption: insights into the role of HFE in hemochromatosis. *Hepatology* 2002;35:993-1001.