نقش هپسیدین در متابولیسم آهن و کاربردهای بالینی بالقوه ی آن

احمدی همدانی، م.

مروری بر متابولیسم طبیعی آهن

عملکرد

آهن عنصری حیاتی است که توسط همه ی سلول های بدن مورد استفاده قرار می گیرد. همچنین آهن به عنوان یک عنصر کاربردی برای انتقال اکسیژن و خون سازی، یک عنصرِ ضروری برای واکنش های بی شمارِ آنزیمی و یک عنصر مهم در متابولیسمِ انرژی، سنتز DNA و پاسخ های ایمنی سلولی شناخته می شود. برخلاف اهمیت آن، آهن با تشکیل گونه های فعال اکسیژن می تواند باعث آسیب سلولی نیز گردد (واکنش فنتون)، بنابراین تنظیم غلظت آهن بدن باید به دقت کنترل شود.

واکنش فنتون: $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^{\bullet} + OH$

جایگاه

بیشتر آهن تام بدن درون هم موجود است که غالباً بصورت هموگلوبین در گلبول های قرمز و میوگلوبین عضلات و به مقدار کمتر درون آنزیم های هموپروتئین هستند. در حیوانات سالم، ۶۰ تا ۷۰ درصد آهن تام بدن به شکل هموگلوبین وجود دارد. پیش رس های اریتروئیدی جایگاه اولیه ی بهره برداری از آهن می باشند. از آنجا که این سلول ها سنتز هموگلوبین را برعهده دارند، بیشترین نیاز به آهن را در مقایسه با بقیه ی سلول ها دارند. آهنِ ذخیره در ماکروفاژها و هپاتوسیت ها به شکل فریتین وجود دارد، ۲۰ تا ۳۰ درصد آهن تام از این طریق در بافت های مختلف مانندِ کبد، طحال و مغز استخوان ذخیره می شود. هموسیدرین (حاصل تخریب جزئی فریتین) حلالیت کمتری دارد و وقتی ذخائر آهن زیاد هستند ممکن است از فریتین فراوان تر باشد. هپاتوسیت ها آهن را از پلاسما از طریق یک گیرنده ی غشایی (رسپتور ترانسفرین ۱) دریافت می کنند. هپاتوسیت ها نه تنها آهن را ذخیره می کنند بلکه همچنین هپسیدین، ترانسفرین و سایر پروتئین های مهم در هوموستاز آهن را سنتز می کنند. علاوه بر ذخیره آهن، ماکروفاژها نقش حیاتی را در چرخه ی آهن که بعنوان بخشی از پاکسازی طبیعی گلبول های قرمز رخ می دهد، بر عهده دارند. از آنجا که تنها مقدار کمی آهن از رژیم غذایی حاصل می شود، چرخه آهن در ماکروفاژها تا حد زیادی مسئول حفظ غلظت مناسب آهن پلاسمایی می باشد. همانند کبد، جذب آهن توسط پیش

۱. گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، سمنان، ایران.
*نویسنده مسؤول: ahmadi.hamedani@gmail.com

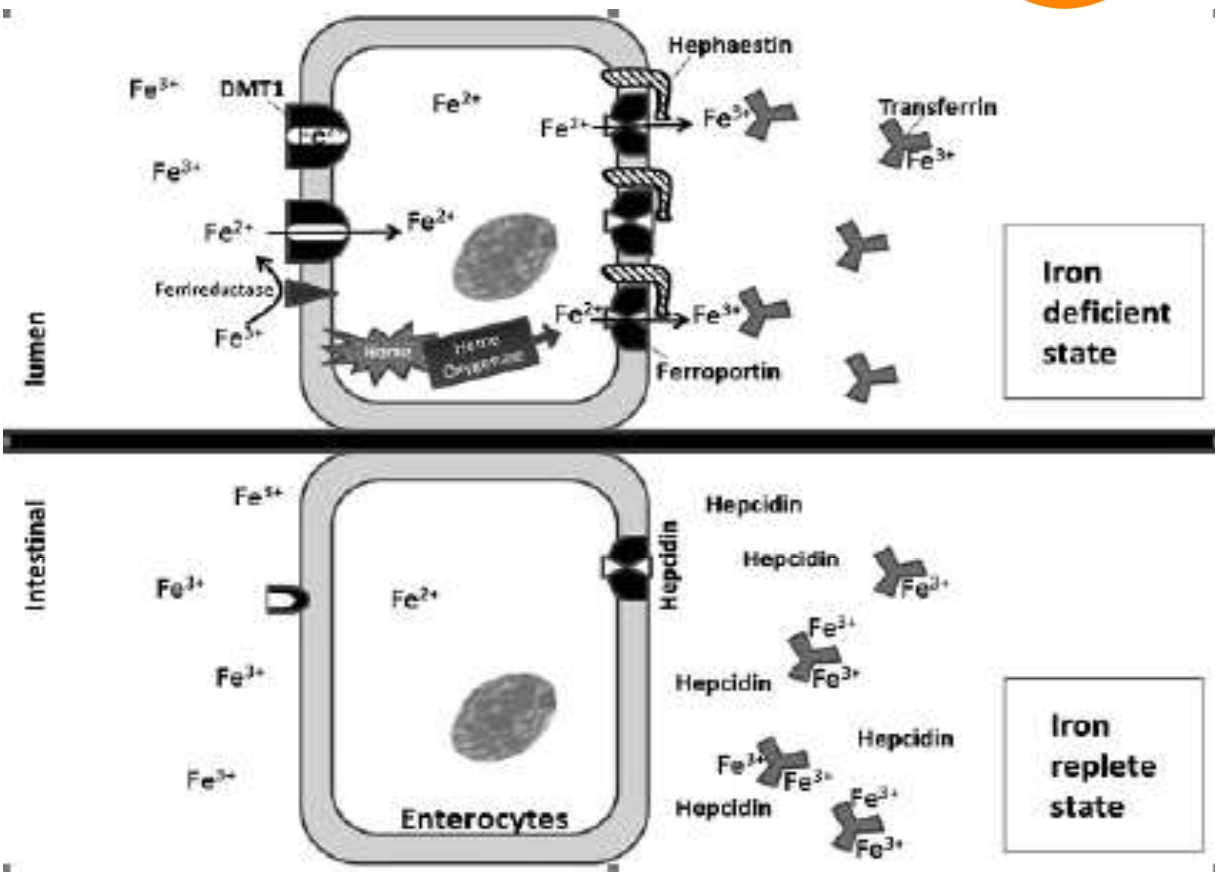
رس های اریتروئیدی بوسیله رسپتور ترانسفرینِ ۱ تسهیل می شود.

آهنِ پلاسما

آهن منحصراً از طریق رژیم غذایی وارد بدن می شود، مگر در مواردی که بصورت تزریقی یا در قالب انتقال خون تجویز می شود. آهن رژیم غذایی در اشکال هم و غیر هم وجود دارد، که به ترتیب عمدتاً از منابع حیوانی و گیاهی تأمین می شود. فرآیندهای هضم کننده ، آهن را از منابع غذایی آزاد می-کنند و آن را آماده ی جذب توسطِ پروتئین های اختصاصی انتقال دهنده در غشای رأسیِ انتروسیت ها می کنند. دو شکل مختلف آهن، آهن هم و غیر هم بطور اختصاصی از طریق گیرنده های رأسی و جانبی غشاء سلول های اپی تلیال جذب می شوند. آهن غیرهم در ابتدا به شکل فریک Fe^{3+} وارد بدن می شود که باید به آهن فروس Fe^{2+} توسط سیتوکروم b ردوکتاز دئودنوم (Dcytb) احیاء شود. بخشی از فعالیت سیتوکروم b ردوکتاز بستگی به غلظت سوبسترای آسکوربات دارد. پس از احیاء، آهن غیرهم از طریق سطح رأسی غشاء انتروسیت ها بداخل سیتوپلاسم بوسیله انتقال دهنده فلزات دوظرفیتی (DMT۱) منتقل می شود. آهن وارد شده بوسیله DMT۱ می تواند در مولکول های ذخیره کننده آهن (فریتین) ذخیره شود یا از غشاء پشتی- جانبی انتروسیت ها از طریق فروپورتین به خارج جریان پیدا کند.عملکرد بعدی آهن به دو اکسیداز بستگی دارد: سرولوپلاسمین در گردش خون و هفاستین در سطح پشتی-جانبی غشاء انتروسیت ها. اکسیداسیون Fe^{3+} به Fe^{2+} برای اتصال آهن به ترانسفرین و برای توزیع آهن در سرتاسر بدن از طریق گردش خون ضروری است. آهن هم ممکن است بوسیله آندوسیتوز باواسطه رسپتور داخل انتروسیت ها شده و سپس بوسیله هم اکسیژناز ۲ در وزیکول ها تخریب شود و آهن غیرهم (Fe^{2+}) و بیلی وردین آزاد شود. سپس آهن غیرهم از طریق DMT۱ به سیتوپلاسم منتقل می شود. هرچند ممکن اسب آهن هم بطور مستقیم بداخل سیتوپلاسم انتروسیت ها از طریق ناقل فولات (پروتئین حامل هم) نیز معرفی شود. این هم دست نخورده ممکن است بوسیله هم اکسیژناز ۱ واقع در شبکه اندوپلاسمی به آهن غیرهم و بیلی وردین کاتابولیزه شود. سرانجام یون های آهن آزاد شده از هم درون انتروسیت ها از طریق فروپورتین به جریان خون منتقل می شود شبیه آهن غیر هم. مقدار خیلی کمی از آهن (کمتر از ۰/۱ درصدِ کلّ آهنِ بدن) در گردش خون عمومی بدن یافت می شود.. آهن پلاسمایی عمدتاً آهن بازیافت شده از گلبول های قرمز پیری است که بوسیله ماکروفاژهای رتیکولوآندوتلیال فاگوسیتوز شده اند. روزانه مقدار کمی از آهن در حیوانات سالم از طریق تعریق، خون و ریزش سلول های شاخیِ پوست، روده و دستگاه ادراری، از بدن دفع می شود. بعلاوه ممکن است، پریمات ها در دوران قاعدگی و پرندگان تخم گذار تجربه ی از دست دادن مقدار بیشتری از آهن را در ارتباط با فرآیندهای تولید مثلی داشته باشند. اگرچه آهن به صورتِ فعال از بدن ترشح نمی شود، اما آهنِ تام بدن از طریق تنظیم جذب روده ای کنترل می شود. این موضوع از آنجایی مهم است، که بدن قادر نیست در مواردِ افزایش بیش از حدِ آهن، ترشح آن را افزایش دهد.

تنظیم مقدار آهن

تنظیم مقدار آهن بدن در مرحله ی جذب که توسط انتروسیت ها صورت می گیرد، انجام می شود، زیرا هیچ راه دفع شناخته شده ای به غیر از این مورد مدنظر نیست. مقدار آهنی که از طریق خوراکی جذب می شود، توسط هورمون هپسیدین که یک تنظیم کننده ی منفیِ مقدارِ آهن است کنترل می شود. اخیراً نشان داده شده است که اثرحاد افزایش غلظت هپسیدین یک واسطه برای کاهشِ کانال انتقال دهنده فلزات دوظرفیتی ۱ (DMT۱)، که یک حامل اختصاصی است و به آهن معدنی اجازه می دهد از طریق لومن روده وارد انتروسیت شود، می باشد. بنابراین وقتی غلظت هپسیدین بالا می رود، آهن کمتری قادر است داخل انتروسیت ها شود، زیرا فقط در غلظتِ پایینِ هپسیدین، DMT۱ برای حمل و نقل آهن در دسترس خواهد بود. پس از جذبِ آهن از روده توسط انتروسیت ها، این آهن نمی تواند مستقیما به سیستم گردش خون منتقل شود و برای این کار نیازمند پروتئین حامل در غشای جانبی -پایینی انتروسیت است، که به نام فروپروتئین خوانده می شود (شکل ۱). مقدار فروپروتئین در دسترس برای حمل آهن به غلظت هپسیدین نیز وابسته است، هر چه فروپروتئین در دسترس بیشتر باشد غلظت هپسیدین کم تر است، و هر چه فروپروتئین کمتری در دسترس باشد، هپسیدین بیشتر است. هفاستین یک فرواکسیداز است که در غشای جانبی-پایینی انتروسیت های دئودنوم بیان می شود و با فروپروتئین همکاری می کند (شکل ۱ را ببینید). تنها کاربرد شناخته شده ی آن به عنوان واسطه در اکسیداسیون به بصورت آهنی که انتروسیت ها را ترک می کند، می باشد. آهنِ خارج شده به سرعت با ترانسفرین باند می شود و به سیستم گردش خون حمل می شود. ترانسفرین یک گلیکوپروتئین با میل ترکیبی با یک یا دو یون می باشد. مکانیسم کلی که بواسطه آن هپسیدین باعث کاهش تعداد فروپورتین می شود، اتصال به فروپورتین می باشد، که منجر به برگرداندن پروتئین انتقال دهنده غشا به سمت داخل و تخریب آن می شود، اگرچه داده های جدید پیشنهاد داده اند که هپسیدین ممکن است روی بیانِ فروپروتئین در انتروسیت-ها توسط یک مسیر جایگزین اثر بگذارد، همچنین ممکن است تا حدی روی ترجمه اثر بگذارد.



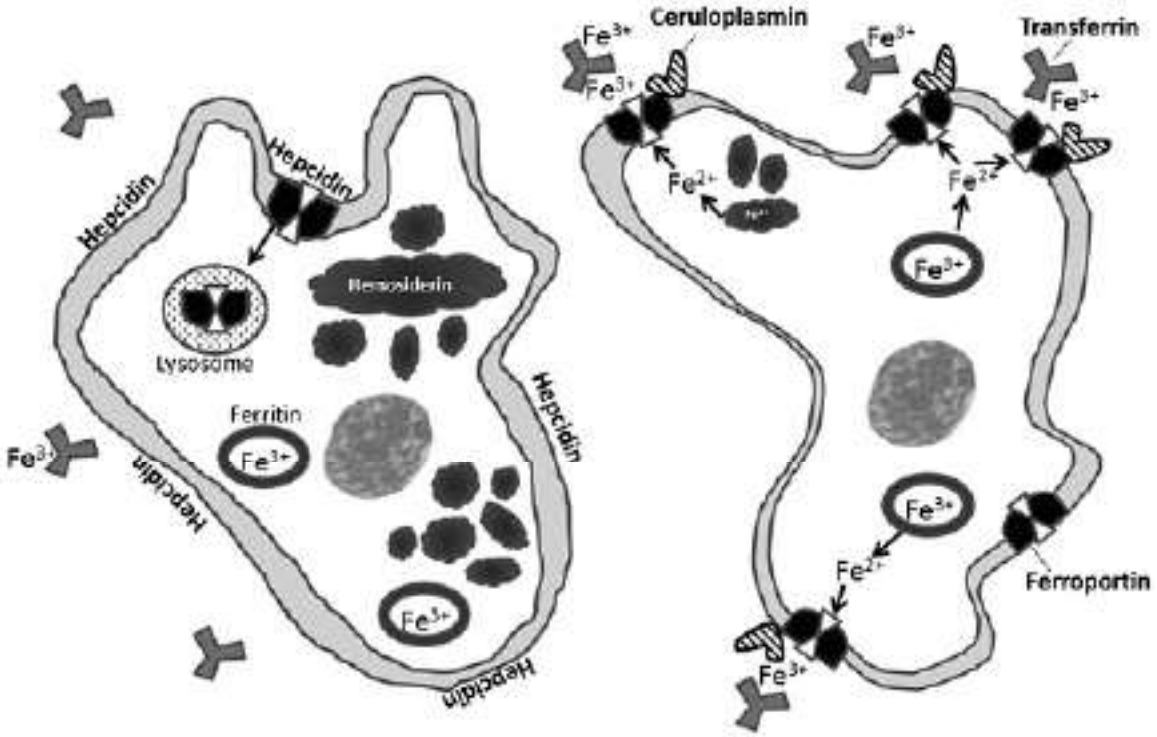
شکل ۱ . در روده ی کوچک، آهن از راهِ حامل های غشایی در راس سلول، به نام DMT-۱، جذب می شود (در شکل بالا). آهن سه ظرفیتی (فریک) به آهن دو ظرفیتی (فروس) احیاء می شود و سپس منتقل می شود. آهن از طریق یک پروتئین متفاوت در غشای جانبی –پایینیِ انتروسیت ها به نامِ فروپروتئین، از سلول به سیستم گردشِ خون منتقل می شود.. سپس آهن دو ظرفیتی (فروس) توسط هفاستین که یک فرواکسیداز غنی از مس است، به سرعت به فریک اکسید می شود و سپس به ترانسفرین متصل می شود. در حضور هپسیدین، تجزیه و کاهش بیان DMT-۱ و فروپورتین باعث کاهش توانایی ورود آهن به انتروسیت ها و سیستم گردش خون می شود (در شکل پائین). بهبودِ آهن جذب شده توسط انتروسیت یک مکانیسم اولیه برای تنظیم محتویِ آهنِ بدن است زیرا هیچ راه ترشحی در این زمینه شناخته نشده است.

(زیرا در کبد بسیار بیان می شود و فعالیت ضد میکروبی ضعیفی در شرایط آزمایشگاهی دارد). این مولکول اولین بار بعنوان عضوی از پپتیدهای ضد میکروبی خانواده دیفنسین به رسمیت شناخته شد و تنها بعدها بعنوان هورمون کلیدی تنظیم کننده ی آهن شناسایی شد. هپسیدین در انسان توسط mRNA ی ۰/۴ کیلو بازی کد می شود که از یک ژن ۲/۵ کیلو بازی سه اگزونی تشکیل شده است و بر روی کروموزوم ۱۹ قرار دارد. شکل فعال زیستی هپسیدین به صورتِ یک پپتید ۲۵ آمینو اسیدی است. هپسیدین بصورت یک پیش سازِ مولکولی بزرگتر (پرپروهپسیدین ۸۴ آمینواسیدی) سنتز می شود و متعاقباً با برش آنزیمی در قسمت C انتهایی، به شکل پروهپسیدین ۶۴ آمینواسیدی در می آید و سپس با از دست دادن ۳۹ آمینو اسید به شکل فعال هپسیدین

علاوه بر انتروسیت، فروپروتئین را می توان در غشای هپاتوسیت ها و ماکروفاژها هم یافت. فروپروتئین تنها پروتئین شناخته شده ی غشا است که آهن غیرآلی را از سلول های پستانداران خارج می کند و هپسیدین یک فاکتور اصلی در تعیین تعداد فروپروتئین هاست. بنابراین، هپسیدین نه تنها به خاطرِ اثر روی انتروسیت ها، روی غلظتِ آهنِ سرم اثر می–کند، بلکه با مخفی کردن آهن درون ماکروفاژها و هپاتوسیت ها، از ورود آهن به پلاسما جلوگیری می کند (شکل ۲).

ساختمان، سنتز و ترشح

در سال ۲۰۰۰ و ۲۰۰۱ چندین گروه تحقیقاتی مستقل، کشف پپتیدی نوین را گزارش کردند، اولین بار پپتید ۱ ضد میکروبی بیان شده توسط کبد نامیده شد و متعاقباً آن را هپسیدین نامگذاری کردند

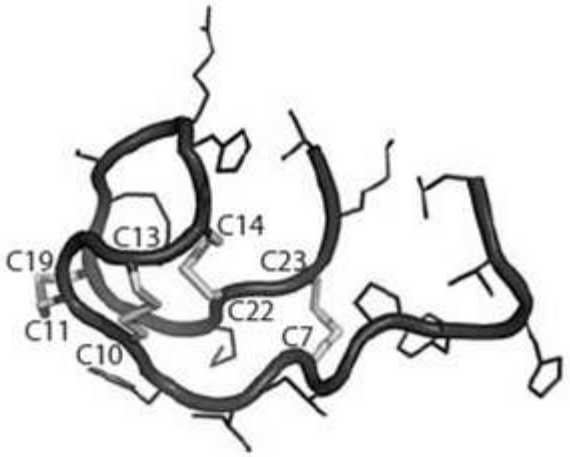


شکل۲. تأثیر هپسیدین بر انتقال آهن از ماکروفاژها. در حضور هپسیدین (سمت چپ)، فروپورتین بدرون ماکروفاژ منتقل می شود و بوسیله لیزوزوم ها تخریب می شود، در نتیجه آهن ذخیره شده درون سلول می ماند. در غلظت های کم هپسیدین، فروپورتین در غشاء سلول حضور یافته، اجازه ی خروج آهن را می دهد (سمت راست). پس از ترک کردن سلول، به سرعت آهن فروس (دو ظرفیتی) توسط سرولوپلاسمین که یک فرواکسیداز غنی از مس است، اکسید می شود و به آهن فریک (سه ظرفیتی) تبدیل می شود و سپس به ترانسفرین متصل می گردد.

تبدیل می شود و ساختار سنجاق سر را تشکیل می دهد (صفحات بتا آمفی پاتیک) که با ۴ پیوند دی سولفیدی به شدت محافظت می شود. هپسیدین به شدت در بین گونه ها حفظ شده است (شکل ۳). هپاتوسیت ها جایگاه های اولیه سنتز هپسیدین هستند و در شرایط فیزیولوژی بیان هپسیدین کبدی، توسط گروهی از پروتئین ها (پروتئین هموکروماتوز ارثی، رسپتور ترانسفرین۲، هموجوولین، پروتئین مورفوژنتیک استخوانی ۶ و سایر پروتئین ها) تنظیم می شود. همانطور که بعداً بررسی می شود، تنظیم بیانِ زیاد یا کم هپسیدین بوسیله این پروتئین ها بستگی به غلظت داخل و خارج سلولی آهن، فاکتورهای اریتروئیدی و سیتوکین های التهابی دارد. هپسیدین در پلاسما به آلفا ۲- ماکروگلوبین متصل می شود. شواهد حاکی از آنست که ممکن است سایر سلول ها، mRNA ی هپسیدین را در سطح بسیار پائین تری از هپاتوسیت ها بیان کنند، اهمیت زیستیِ تولیدِ خارج کبدی هپسیدین نامشخص باقی مانده است. هپسیدین پلاسمایی آزادانه از طریق گلومرول ها تصفیه می شود و در حیوانات با فعالیت طبیعی کلیه به سرعت از طریق ادرار دفع می شود. همچنین بخشی از هپسیدین از طریق تخریب همزمان با فروپورتین پاکسازی می شود

فعالیت زیستی

نقش اولیه (شناخته شده) هپسیدین، کاهش میزان آهن در پلاسما است. بیان هپسیدین بوسیله ذخائر داخل و خارج سلولی آهن، تقاضا برای خونسازی و التهاب تنظیم می شود. هپسیدین جریان آهن را بداخل پلاسما از طریق محدود کردن جذب رود ه ای آهن و آزاد سازی آهن ذخیره شده درونِ ماکروفاژها و هپاتوسیت ها کاهش می دهد. هپسیدین این اثرات را از طریق واکنش با پروتئین برداشت کننده ی آهن (فروپورتین) که در ابتدا به عنوان لیگاند هپسیدین شناخته می شد، به انجام می رساند. فروپورتین مهمترین مولکول در تنظیم انتقال آهن از سلول ها بداخل پلاسما است، در حقیقت، در داخل بدن انتقال آهن از سلول ها به داخل پلاسما بطور کامل بستگی به فروپورتین دارد. فروپورتین یک پروتئینِ غشایی سطحی موجود در ماکروفاژها، هپاتوسیت ها و سطح بازولترال انتروسیت های دوازدهه جائیکه مجرایی برای خروج آهن وجود دارد، می باشد. هپسیدینِ در گردش به فروپورتین غشاء متصل می شود و باعث ورودِ فروپورتین و متعاقباً تخریب آن می شود بنابراین آهن درون سلول ها به دام می افتد و از خروجِ آن بداخل پلاسما جلوگیری می شود.



شکل۳. ساختمان هپسیدین با اتصالات اصلاح شده دی سولفیدی هپاتوسیت ها جایگاه های اولیه سنتز هپسیدین هستند و در شرایط فیزیولوژی بیان هپسیدین کبدی، توسط گروهی از پروتئین ها (پروتئین هموکروماتوز ارثی، رسپتور ترانسفرین ۲، هموجوولین، پروتئین مورفوژنتیک استخوانی ۶ و سایر پروتئین ها) تنظیم می شود. همانطور که بعداً بررسی می شود، تنظیم بیانِ زیاد یا کم هپسیدین بوسیله این پروتئین ها بستگی به غلظت داخل و خارج سلولی آهن، فاکتورهای اریتروئیدی و سیتوکین های التهابی دارد. هپسیدین در پلاسما به آلفا -۲ ماکروگلوبین متصل می شود. شواهد حاکی از آنست که ممکن است سایر سلول ها، mRNA ی هپسیدین را در سطح بسیار پائین تری از هپاتوسیت ها بیان کنند، اهمیت زیستیِ تولیدِ خارج کبدی هپسیدین نامشخص باقی مانده است. هپسیدین پلاسمایی آزادانه از طریق گلومرول ها تصفیه می شود و در حیوانات با فعالیت طبیعی کلیه به سرعت از طریق ادرار دفع می شود. همچنین بخشی از هپسیدین از طریق تخریب همزمان با فروپورتین پاکسازی می شود

تنظیم بیان و غلظت سرمی هپسیدین

غلظت سیستمیک و غلظت داخل سلولی آهن

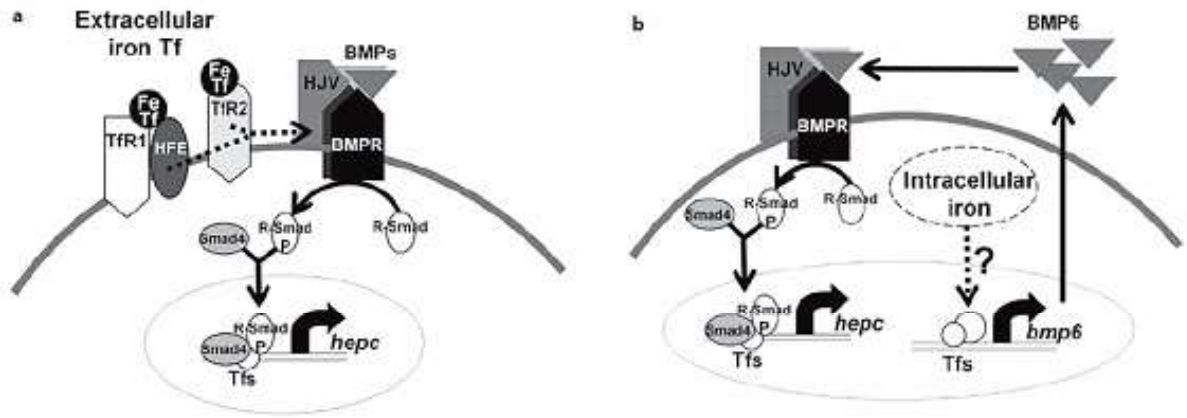
تولید هپسیدین از نظر رونویسی، در هپاتوسیت ها تنظیم می شود. آهن سرم (متصل به ترانسفرین) و ذخائر آهن داخل سلولی، مولکول های پیام رسان داخل سلولی را که رونویسی هپسیدین را کنترل می کنند، متأثر می سازند. آبشار سیگنالی پروتئین مورفوژنتیک استخوانی ۶ حساس ترین قسمت این فرآیندها می باشد. تنظیم زیاد مسیر سیگنالی پروتئین مورفوژنتیک استخوانی ۶ منجر به افزایش بیان هپسیدین می شود. رسپتورهای ترانسفرین (۱ و ۲) در سطح غشایی هپاتوسیت ها بعنوان حسگرهای فیزیولوژیکِ تغییرات خارج سلولی (بعنوان مثال در سرم) عمل می کنند. افزایش غلظت سرمی آهن منجر به افزایش اتصال ترانسفرین به گیرنده ی ۱ و ۲ می شود و متعاقب آن مسیر سیگنالی پروتئین مورفوژنتیک استخوانی ۶ بیش از حد تنظیم شده و در نتیجه بیان هپسیدین افزایش می یابد. بطور مشابه، ذخائر داخل کبدی آهن باعث افزایش تولید پروتئین مورفوژنتیک استخوانی ۶ (مولکولی که رسپتور پروتئین مورفوژنتیک استخوانی ۶ را فعال می کند) و تنظیم بیش از حدِ مسیر سیگنالی پروتئین مورفوژنتیک استخوانی ۶ می شوند (شکل ۴).

سیگنال های خونسازی

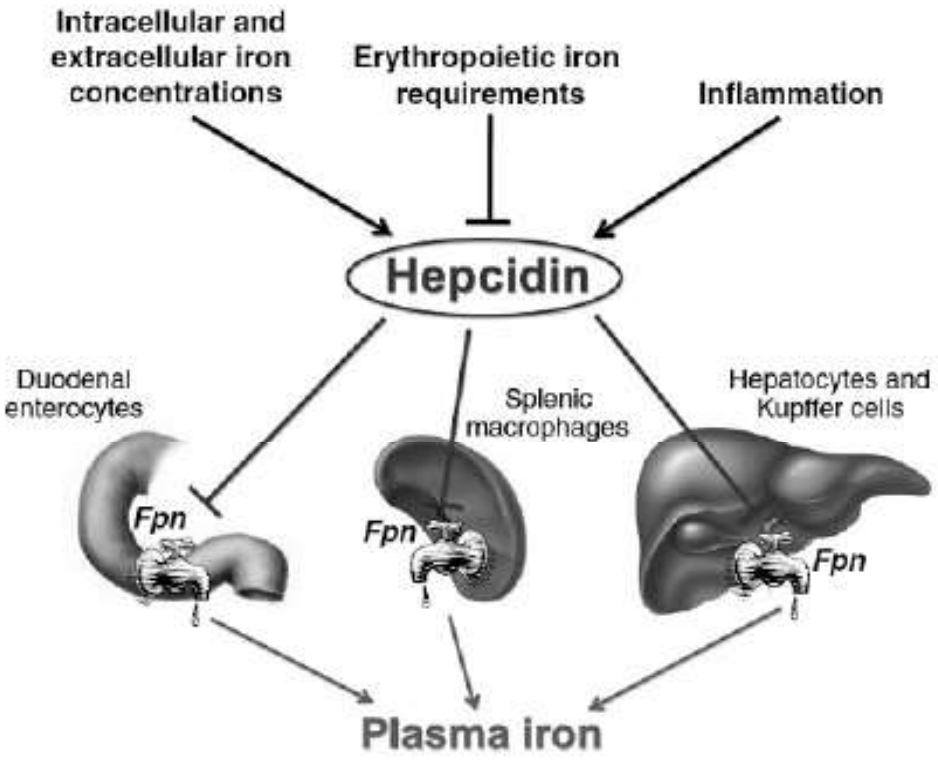
گسترش پیش رس های خونسازی با کاهش تولید هپسیدین مرتبط است زیرا پیش رس های اریتروئیدی جایگاه اولیه استفاده از آهن در بدن می باشند. بنابراین فعالیت مؤثر خونسازی به در دسترس بودن آهنِ کافی متکی است. گرچه مکانیسم دقیق کاهش سنتز هپسیدین مرتبط با خونسازی تابحال شناخته نشده است، اما بنظر می رسد بطور مستقیم بیشتر با خونسازی (بعنوان مثال فعالیت مغز استخوان)، نسبت به فاکتورهای القاء کننده ی خونسازی مثل هایپوکسی یا اریتروپوئتین ارتباط دارد.

التهاب

مدت ها قبل از کشف هپسیدین، توقیفِ آهن (در سلول ها) در شرایط التهابی بعنوان تطابق در مسیرِ تکامل، جهت محدود کردن میکروب ها به دسترسی به آهن به رسمیت شناخته می شد. اخیراً مطالعه ی هپسیدین منجر به پیشرفت در درک مکانیسم آنمی ناشی از التهاب شده است. هپسیدین یک پروتئین فاز حاد است و اختلالات التهابی سیستمیک حاد و مزمن با افزایش غلظت سرمی هپسیدین ارتباط دارد. اینترلوکین ۱ و ۶ سیتوکین های التهابی هستند که باعث افزایش تنظیم رونویسی از هپسیدین می شود. به همین ترتیب لیپوپلی ساکاریدها تولید هپسیدین را القاء می سازند و همچنین سایر سیتوکین-های التهابی و مولکول ها ممکن است اثرات مشابهی داشته باشند. تنظیم بیش از حد هپسیدین در اثرِ التهاب، بطور بالقوه باعث کاهش فریتین، کاهشِ آهن در دسترس برای خون سازی و آنمی می شود. این ارتباط بین بیماری التهابی، بیان هپسیدین و آنمی بطور گسترده در جای دیگری بحث شده است و با جزئیات بیشتر در این فصل بحث می شود (شکل ۵).



شکل -۴ مدلی از تنظیم هپسیدین بوسیله آهن ترانسفرین (a) و آهن داخل سلولی (a) .(b) افزایش غلظت آهن ترانسفرین، رسپتور ترانسفرین ۲ را تثبیت می سازد، پروتئین هموکروماتوز انسانی (HFE) (پروتئینی MHC کلاس ۱ آتیپیکی است که مستقیماً به آهن متصل نمی شود) از رسپتور ترانسفرین ۱ جدا می شود و به رسپتور ترانسفرین ۲ متصل می شود. به احتمال خیلی زیاد مجموعه ی HFE- رسپتور ترانسفرین ۲ با رسپتور مجموعه هموجوولین- پروتئین مورفوژنتیک استخوانی واکنش می دهد، سیگنال پروتئین مورفوژنتیک استخوانی بارور می شود و رونویسی هپسیدین افزایش می یابد. (b) بالا رفتن میزان آهن داخل سلولی تولید پروتئین مورفوژنتیک استخوانی ۶ را افزایش می دهد. پروتئین مورفوژنتیک استخوانی ۶ به مجموعه ی هموجوولین- پروتئین مورفوژنتیک استخوانی متصل می شود، سیگنال Smad (small 'mothers against' decapentaplegic) (پروتئین های داخل سلولی هستند که سیگنال های خارج سلولی را از گیرنده های فاکتور رشد بتا به هسته سلول منتقل می سازند) را تحریک می سازد و رونویس هپسیدین را افزایش می دهد.



شکل -۵ هپسیدین نقش محوری در حفظ هوموستاز آهن دارد.

سنتز هپسیدین در سطح رونوشت برداری بوسیله محرکهای متعددی تنظیم می شود. غلظت آهن داخل و خارج سلولی رونویسی از هپسیدین را افزایش می دهند، همانگونه که التهاب این کار را انجام می دهد. درحالیکه افزایش فعالیت خونسازی تولید هپسیدین را کاهش می دهد. در عوض هپسیدین غلظت آهن پلاسمایی را از طریق کنترل غلظت فروپورتین بر روی سلول های صادرکننده آهن ازجمله انتروسیت های دئودنوم، ماکروفاژهای بازیافت کننده طحال و کبد و هپاتوسیت ها، تنظیم می کند.

تصفیه ی ناقص کلیوی

به علتِ اندازه ی کوچک هپسیدین، این هورمون در حیوانات با عملکردِ کلیویِ طبیعی، به طورِ آزادانه از گلومرول ها وارد تصفیه ی ادراری می شود. مانندِ دیگر مواد موجود در تصفیه ی ادراری، غلظتِ سرمی هپسیدین تحت تاثیر میزان فیلتراسیون گلومرولی قرار می گیرد. بیشترِ هپسیدین در سیستم ادراری از طریق سلول های پوششیِ توبولِ پروگزیمال بازجذب می شود و مقدار کمی از آن به صورت دست نخورده از طریق ادرار از بدن خارج می شود.

نقش هپسیدین در اختلالات مختلف

اختلالات مرتبط با کاهش فعالیت هپسیدین

هموکروماتوز ارثی

زیاد شدن بیش از حد آهن می تواند ذخایرِ آهن را بالا ببرد. هموسیدروزیس یک افزایش در ذخایر آهن بدن بدون هیچ آسیب بافتی است، ولی در هموکروماتوزیس آسیب بافتی و اختلال در عملکرد را به علت ذخیره شدن هموسیدرین در سلول های پارانشیم شاهد هستیم. هموکروماتوزیس بیماری است که از طریق جذب مستمر آهن جیره غذایی علی رغم ذخائر کافی یا افزایش ذخائر آهن، بهمراه تجمع بعدی آهن در کبد و سایر بافت های بدن (پانکراس) شناخته می شود. پروتئین هموکروماتوزیس (HFE) یک پروتیئن آتیپیک MHC کلاس ۱ است که بر روی کروموزوم ۶ واقع است. هموکروماتوز ارثی وضعیتی است که معمولاً از جهش در ژن HFE نتیجه می شود. در اکثر اشکال بیماری، جهش در ژن هموجوولین یا هپسیدین منجر به نقص هپاتوسیت ها در تولید کافی هپسیدین می شود. بنابراین در بیماران کاهش غلظت سرمی هپسیدین و افزایش آهن در گردش و ذخائر آهن بافتی دیده می شود. هموکروماتوز ارثی در حیوانات اهلی نادر است هرچند مدل های موش سوری وجود دارد. هموکروماتوز در ۶ گاو شناسایی شده است که بنظر می رسد ارثی باشد. بعلاوه، پرندگان مینا ویژگی هایی از هموکروماتوز را نشان می دهند که مشابه هموکروماتوز ارثی در انسان است.

کمخونی ناشی از خونسازی غیر مؤثر

افزایش پیش رس های اریتروئیدی تحریک شده بوسیله اریتروپوئتین در مغز استخوان با کاهش سطح سرمی هپسیدین مرتبط است. در انسان بیماران مبتلا به بتا تالاسمی و بعضی از اشکال دیس اریتروپوئز مادرزادی که با کمخونی علی رغم هیپرپلازی مشخص رده اریتروئیدی متمایز می شوند، غلظت سرمی هپسیدین کمی دارند که منجر به افزایش جذب روده ای آهن و بطور بالقوه افزایش بیش از حدِ آهنِ پارانشیمی و افزایش فریتین سرمی می گردد. بتا تلاسمی در حیوانات اهلی گزارش نشده است. جالب اینکه بعضی از اشکال دیس اریتروپوئز مادرزادی تشخیص داده شده در حیوانات با افزایش فریتین ارتباط داشته اند، و با توجه به دانش نویسندگان نقش هپسیدین در آن موارد بررسی نشده است.

کاهش غلظت سرمی ترانسفرین

انسان و مدل های موش مبتلا به کاهش غلظت سرمی ترانسفرین کمخونی میکروسیتیک- هایپوکرومیک (فقر آهن) را با افزایش بیش از حد آهن پارانشیمی و کاهش غلظت سرمی هپسیدین، نشان می دهند. مکانیسم محتمل برای این نارسایی شامل کاهش اثرات ترانسفرین بر بیان هپسیدین و کاهش بیان هپسیدین مرتبط با تحریک مغز استخوان بواسطه اریتروپوئتین

می باشد. شکل نادری از هموکروماتوز ارثی در انسان، ناشی از جهش اتوزومی مغلوب در ژن رسپتور ترانسفرین ۲

می باشد. این جهش در ژن رسپتور ترانسفرین ۲ مانع اتصال آهن متصل به ترانسفرین به سلول ها می شود که در نتیجه تنظیم بیان هپسیدین کاهش یافته و متعاقباً باعث افزایش بیش از حد آهن می گردد.

کمخونی فقر آهن

فقر آهن، ممکن است بصورت خونریزی مزمن یا سوء تغذیه رخ دهد، کاهش دسترسی به آهن (بصورت کاهش آهن متصل به ترانسفرین و کاهش ذخائر آهن تشخیص داده می شود) بطور مؤثری آبشار سیگنالی پروتئین مورفوژنتیک استخوانی را تضعیف ساخته و بیان هپسیدین را کاهش می دهد.

بیماری مزمن کبدی

بعضی از اشکال بیماری مزمن کبدی در انسان (بخصوص بیماری کبد الکلی و هپاتیت C) با کاهش تولید هپسیدین در ارتباط هستند. این فرآیند احتمالاً به چند دلیل رخ می دهد. گونه های فعال اکسیژن حاصل از الکل و هپاتیت C به همراه عوامل دیگر بطور مستقیم رونویسی از هپسیدین را کاهش می-دهند. همچنین محتمل است نارسایی هپاتوسیت ها در سنتز هپسیدین که در مرحله ی انتهایی بیماری کبدی رخ می دهد، سببِ کاهش غلظت هپسیدین در این بیماران می شود.

اختلالات مرتبط با مقاوت علیه هپسیدین

جهش در ژن فروپورتین

یک اختلال نادرِ مرتبط با مقاومت هپسیدین ناشی از جهش اتوزومی غالب ژن فروپورتین در انسان ها مشاهده شده که این اختلال با فعالیت فروپورتین مداخله می کند. چنین جهشی با توانایی فروپورتین برای اتصال به هپسیدین مداخله

می کند، بنابراین از داخلی شدنِ فروپورتین القا شده توسط هپسیدین جلوگیری می شود. بیماران مبتلا به این جهش علی رغم بالا بودن غلظت سرمی هپسیدین (یا حداکثر نرمال)، تجمع آهن پارانشیمی

صورت می پذیرد. سایر جهش ها ممکن است با داخلی ساختن و تخریب فروپورتین مداخله کنند.

اختلالات مرتبط با افزایش فعالیت هپسیدین

آنمی ناشی از بیماری التهابی

همانطور که قبلاً بحث شد، سیتوکین های التهابی (بخصوص، اینترلوکین ۱ و ۶) و سایر مولکول ها (مثل لیپوپلی ساکاریدها) باعث افزایش رونویسی هپسیدین می شوند. این منجر به افزایش غلظت سرمی هپسیدین و متعاقباً کاهش فریتین سرم در اختلالات التهابی می شود. همچنین شواهدی وجود دارد که نشان می دهد اینترلوکین ۱، ۶، ۱۰ و فاکتور نکروز کننده تومور آلفا باعث افزایش بیان گیرنده ی ترانسفرین (باعث افزایش دریافت سلولی آهن) می شود هرچند ترانسفرین یک پروتئین منفی فاز حاد است و ممکن است در التهاب کاهش یابد. برآیندِ اثرات این فرآیندها منجر به افزایش احتباس آهن و کاهش آهن در دسترس (کاهش فریتین سرم) می شود که باعث فقر آهن فانکشنال می گردد (بعنوان مثال حالت محدودیت آهن نه تخلیه آهن) که در این حالت آهن برای خونسازی موجود نیست. به نظر می رسید که این حالت بعنوان یک مکانیسم دفاعی است و بدین وسیله آهن، کمتر در دسترسِ میکروب های بیماریزا قرار می گیرد (بطور جالبی، همچنین اثبات شده است که هپسیدین در شرایط آزمایشگاهی فعالیت ضد میکروبی متوسطی را نشان می دهد اما تنها در غلظت های خیلی بالا، اما تصمیم گیری در مورد اهمیت این توانایی در شرایط بدن نامشخص است).

آنمی جبران ناپذیر و کاهش سطح فروپروتین در نتیجه ی توقیفِ آهنِ ناشی از القای سیتوکاینی گاهی به عنوانِ بیماریِ آنمی مزمن شناخته می شود. باید متذکر شد که این تغییراتِ پاتوفیزیولوژیک می توانند به خودیِ خود همراه با اختلالاتِ حاد و یا مزمن باشند و این دلیلی بر نتایج غیرمعمولِ آزمایشگاهی است و لزوما به عنوان مشخصه ی بیماری های مزمن در نظر گرفته نمی شود. بنابراین، برخی افراد آنمی التهابی را لفظ دقیق تر و مناسب تری می دانند.

آنمی فقر آهن مقاوم به درمان

متری پتاز ۲ پروتئیاز غشایی است (که ابتدا در کبد بیان شده است) که هموجوولین غشاء را می شکند و بنابراین بعنوان تنظیم کننده ی منفی هپسیدین عمل می کند. یک اختلال اتوزومی مغلوب در انسان وجود دارد که بوسیله جهش در ژن متری پتاز ۲ رخ می دهد (آنمی فقر آهن مقاوم به درمان خانوادگی) بنابراین باعث افزایش بیش از حد هپسیدین سرمی و کاهش شدید فریتین و درنتیجه آنمی می شود که به درمان با مکمل های آهن مقاوم می باشد. همچنین نوعی از آدنومای کبدی در انسان تشخیص داده شده که سببِ بیان بیش از حد هپسیدین می شود و نارسایی های خون شناسی و بالینی مشابهی را به همراه دارد. با توجه به دانش نویسندگان بیماری های مشابهی تاکنون در گونه های دامی گزارش نشده است.

بیماری کلیوی

در گذشته، نقص تولید اریتروپوئتین بعنوان عامل کمخونی مرتبط با بیماری مزمن کلیوی در نظر گرفته می شد. گرچه، افزایش غلظت سرمی ریتروپوئتین و افزایش همزمان غلظت سرمی هپسیدین در بعضی از بیماران انسانی مبتلا به بیماری مزمن کلیوی بدلیل عوامل دیگری صورت می پذیرد. هپسیدین به راحتی در سطح گلومرولی فیلتر و بسرعت از پلاسما پاکسازی می شود. بنابراین، غلظت سرمی هپسیدین در کاهش تصفیه گلومرولی افزایش می-یابد. بنابراین ظاهراً غلظت سرمیِ بالای هپسیدین عامل مهمی در کم خونی جبران ناپذیرِ بیماران مبتلا به بیماری مزمن کلیوی می باشد. به علاوه افزایش سیتوکاین های مرتبط با روند بیماری مذکور ممکن است سببِ افزایش غلظت هپسیدین در برخی موارد شود.

مطالعات صورت گرفته در مورد هپسیدین در حیوانات

تحقیقات اخیر و شناسایی هپسیدین منجر به توجه دوباره به پژوهش های مربوط به آهن و توسعه و استفاده از مدل های حیوانی در این زمینه شد. اکثر تحقیقاتِ (حیوانی) مربوط به هپسیدین، تحقیقات متداولِ صورت گرفته بر روی حیوانات، بخصوص موش بوده است. پس از شناسایی ژنِ کدکننده ء یک پروتئینِ مشابه هپسیدین انسانی در موش، هپسیدین در رت، سایر موش ها، ماهی های مختلف، سگ ها، خوک، کبوتر، گاو، گربه، بوفالو، پریماتها، اسب ها و گوسفند.شناسایی و توالی یابی شد.

آنالیز فیلوژنی نشان می دهد که هپسیدین در میان حیوانات و انسان ها در توالی DNA و ساختمان دوم آن، به شدت حفظ شده است. هپسیدین سگ سانان شباهت بیشتری با هپسیدین انسانی نسبت به هپسیدین موش و رت دارد. براین اساس، سگ به عنوان یک مدل امید بخش حیوانی جهت تحقیق بر روی هپسیدین انسانی در شرایط سلامتی و بیماری پیشنهاد شده است.

گزارشات بالینی مربوط به هپسیدین بر روی حیواناتی غیر از جوندگان یا پریماتها، شامل سگ ها، گاوها و گوسفند متمرکز شده است. سگ هایی با القاء آزمایشگاهیِ کم خونیِ فقرآهن، بطور مشخص کاهش بیان ژن هپسیدین کبدی و افزایش بیان ژن گیرنده ی ترانسفرین کبدی داشته اند. گاوهای تغذیه شده با مکمل آهن افزایش بیان ژن هپسیدین کبدی و کاهش بیان پروتئین فروپورتین در دوازدهه داشته اند. گوسفندان با القاء آزمایشگاهیِ التهاب، افزایش بیانِ mRNA کبدی و هایپوفرمی پیشرفته را نشان داده اند. این دستاوردها با بیولوژیِ

شناخته شده هپسیدین در انسان و حیوانات آزمایشگاهی مطابقت دارد، و بیان می دارد که احتمالاً دستاوردهای بدست آمده از این آزمایشات در ارتباط با هپسیدین در آن گونه ها قابل استفاده در گونه حیوانات اهلی می باشد. به کارگیریِ نتایجِ تحقیقاتِ مقدماتی برای تشخیص و درمان در انسان شروع شده است، و احتمالا یک الگوی مشابه در دامپزشکی نیز مشاهده می شود.

ارزیابی آزمایشگاهی هپسیدین

ارزیابی وضعیت آهن بطور معمول به تست های در دسترس خون شناسی متکی می باشد تست هایی که اغلب مورد استفاده قرار می گیرند شامل اندیس های متداول (میانگین حجم گلبول های قرمز (MCV)، میانگین غلظت هموگلوبین گلبول های قرمز (MCHC) که بخشی از آزمایشات کامل خون شناسی هستند و تست های سرمی (غلظت سرمی آهن، توانایی آهن اتصالی تام، درصد اشباع ترانسفرین و غلظت فریتین) که اغلب بعنوان یک بخش مجزا در بعضی از آزمایشگاه های مرجع مورد استفاده قرار می گیرد. اندیس های رتیکولوسیتی (محتوای هموگلوبین رتیکولوسیت (CHr)، میانگین حجم رتیکولوسیت ها (MCVr) و غیره) که به منظور نشان دادنِ میزان آهنِ دردسترس برای خون سازی، شاخص های بهتری از MCV و MCHC هستند، امروزه در خیلی از آزمایشگاه های رفرانس دامپزشکی اندازه گیری می شوند. خیلی از نشانگرهای سرمی وضعیت آهن که استفاده ی انسانی دارند، مانندِ غلظت روی محلول پورتوپورفیرین گلبول قرمز، غلظت رسپتور ترانسفرینی محلول و غیره برای استفاده در حیوانات اهلی موجود نمی باشند. توضیحِ اضافی پیرامونِ عملکرد، کاربرد و محدودیت های تست های ارزیابیِ آزمایشگاهیِ آهن خارج از حوصله ی این مبحث می-باشد و احتمالا در مراجع دیگر موجود می باشند. اگرچه در اغلبِ موارد، تست های در دسترس، اطلاعاتِ کافی را برای تشخیص اختلالاتِ متابولیسمیِ مربوط به آهن فراهم نمی کنند. به این منظور اندازه گیری غلظت هپسیدینِ سرم کاملا مفید بوده، و در تحقیقاتِ در حالِ اجرا کاربرد دارد. در حال حاضر هیچ اتفاق نظری بین بهترین روش های تست مربوط به هپسیدین نمی باشد. معمولا تست های تشخیصی در انسان ها به طور معمول کاربرد ندارد، اما چندین تستِ ایمنی برای اندازه گیری غلظت هپسیدین توسعه یافته و موردِ ارزیابی قرار گرفته است. به نظر می رسد یک یا تعدادی از این تست ها به عنوان روشِ اصلی در امورِ آزمایشگاهی موردِ استفاده قرار می گیرند. خاصیت آنتی ژنی ضعیف هپسیدین بخاطرِ اندازه کوچک این پروتئین و تشابه زیاد بین گونه ای که تولید آنتی بادی های مفید علیه آن را مشکل ساخته است و نیز غلظت کم آن و پاکسازی سریع آن از پلاسما و اختلاف بیولوژیکی طبیعی (روزانه) چالش های مربوط به ارزیابی آزمایشگاهی هپسیدین می باشند. برخی از تحقیقات بر روی اندازه گیری غلظت هپسیدین در ادرار متمرکز شده است. اما نیازمند روش های آزمایشگاهیِ وقت گیر و پیچیده ای می-باشد و بطور کلی تست های ادرار نسبت به تست های سرمی برای آزمایشاتِ معمولِ تشخیصی مناسب نیستند. سایر مطالعات از روش های الایزا استفاده می کنند که غلظت سرمی پروهپسیدین را که پیش ساز بزرگترِ زنجیره ی فعال پپتیدیِ ۲۵ آمینواسیدی است را اندازه گیری می کنند. از آنجایی که بنظر می رسد پروهپسیدین یک ماده ی شناسایی شده ی ناپایدار در سرم می باشد و مقدارش با هپسیدین ادراری و سرمی هم بستگی ندارد، ارتباط میانِ این داده ها بحث برانگیز است.

روش های اندازه گیری غلظت هپسیدین در سرم شامل سنجش بر اساس طیف سنجی جرمی و ایمنی سنجی می باشد. سابقاً قادر بودند بین شکلِ زیستیِ فعال هپسیدن و سایر ایزوفرمهای آن (هپسیدین ۲۲ و ۲۰) که فعالیت زیستیشان شناخته نشده است اما برای تست های معمولِ تشخیصی کاربردی نیستند، تمییز قائل شوند. همانگونه که ذکر شد، روش های الایزای رقابتی مختلفی برای اندازه گیری غلظت هپسیدین در سرم انسان شرح داده شده است. یکی از این الایزاهای رقابتی به عنوان اساس در مطالعه ی گسترده ای که اخیراً صورت گرفته بود، تعیینِ مقدار مرجعِ غلظت هپسیدین در انسان براساسِ سن و جنس را سبب شد.

هپسیدین: کاربردهای بالینی

کاربردهای تشخیصی

گرچه تست های اندازه گیری هپسیدین بطور مرسوم در پزشکی استفاده نمی شود اما کاربرد این تست ها امیدبخش است. سنجش هپسیدین ممکن است اثبات کند که مکمل یا جایگزین مفیدی برای فریتین و سایر تست ها در تشخیص اختلالات مربوط به آهن می باشد. بعلاوه مطالعات ارزیابی کننده غلظت هپسیدین در موقعیت های مختلف بالینی نشان می دهد که این تست ها ممکن است به تصمیمات درمانی مطمئن و پاسخ به بعضی از سؤالات پیش آگهی دهنده کمک کند.

اگرچه فریتین و هپسیدین پاسخ های مشابهی در برابرِ التهاب و میزانِ آهنِ در دسترس دارند، افزودن تست های هپسیدین به مجموعه ی تست های تشخیصی مورد استفاده در ارزیابی وضعیت آهن، ممکن است سودمند باشد. اولاً، چون هپسیدین پروتئین فاز حاد است و تغییر غلظت هپسیدین در عرض چند ساعت اتفاق می افتد، درحالیکه تغییر در فریتین آهسته تر انجام می پذیرد، با توجه به این امر هپسیدین شاخصِ دقیق تری برای ارزیابی وضعیت آهن می باشد. این امر ممکن است اطلاعات مفیدی را درباره فقر آهن قبل از تشخیص سایر نارسایی های آزمایشگاهی، فراهم سازد.

ثانیاً، با وجود اینکه غلظت فریتین در تشخیص اکثر اختلالات مربوط به آهن سودمند است، تغییر غلظت هپسیدین ممکن است باعث برخی از این اختلالات گردد و الگوهای غیر منتظره از تغییر نسبت فریتین به هپسیدین ممکن است مشخصه اختلالات خاص باشد (به بحث قبلی در مورد نقش هپسیدین در اختلالات مختلف مراجعه نمائید).

ثالثاً، ارزیابی هپسیدین ممکن است در تفریق میان عوامل کمخونی کمک کند. با توجه به اهمیت ویژه، غلظت هپسیدین ممکن است در تفریق بین آنمی التهابی و آنمی فقر آهن (دو تا از شایعترین عوامل کمخونی در انسان) کمک کند. آنمی ایجاد شده بوسیله فقر آهن حقیقی احتمالاً با کاهش غلظت هپسیدین و کاهش ذخائر آهن (مثل فریتین) مرتبط است، درحالیکه آنمی التهابی (که بعنوان فقر آهن فانکشنال مدنظر قرار گرفته است)، علی-رغم ذخائر مناسب آهن بافتی، با افزایش میزان هپسیدین همراه می باشد بعلاوه، سطح هپسیدین ممکن است در تعیین علت آنمی مرتبط با بیماری مزمن کلیوی در بعضی از بیماران سودمند باشد.

در نهایت، ارزیابی هپسیدین راهکاری را برای هدایت تصمیماتِ درمانی در ارتباط با درمان آنمی با مکمل آهن، اریتروپوئتین، درمان های ضد سیتوکینی و همودیالیز ارائه می دهد. بطور خاص، ممکن است آگاهی از غلظت هپسیدین به کلینسین در پیشگویی اینکه آیا بیماران مبتلا به آنمی و فقر آهن به مکمل آهن پاسخ خواهند داد یا خیر... و همچنین به تصمیم گیری درمانی در بیماران مبتلا به بیماری مزمن کلیوی کمک کند.

کاربردهای درمانی

آگونیست های هپسیدین برای استفاده بالقوه در درمان و پیشگیری از افزایش بیش از حد آهن در بیماری های مرتبط با کمبود هپسیدین مورد تحقیق قرار گرفتند. بیان بیش از حد ژن Hamp[1] (یک ژن کد کننده ی هپسیدین) از تجمع آهن در مدل های موشی مبتلا به هموکروماتوز ارثی و تالاسمی بتا جلوگیری می کند. بعلاوه، مولکول های کوچکی برای تقویت سنتز هپسیدین یا تقلید اثراتش بر روی فروپورتین در درمان اختلالات مختلف افزایش بیش از حدِ آهن مورد توجه قرار گرفته است.

در مقابل، عواملی که تولید هپسیدین را کاهش می دهند ، بازدارنده یا خنثی کننده هپسیدین هستند که با اتصال هپسیدین به فروپورتین مداخله می کنند یا از درونی شدن فروپورتین ممانعت می کنند، ممکن است در درمان آنمی های آهن محدود (بعنوان مثال آنمی التهابی، آنمی فقرآهن پاسخ دهنده به درمان) مفید باشند. از موارد مورد توجه، نقش بالقوه ی آنتاگونیست هپسیدین در درمان آنمی التهابی می باشد، آنتی بادی های خنثی کننده هپسیدین و RNA های کوچک مداخله کننده با هپسیدین، روندِ درمان با اریتروپوئتین در مدل های موشی مبتلا به آنمی التهابی را به صورت چشمگیری افزایش می دهند. همچنین توقف تولید اینترلوکین ۶ (با آنتی بادی های ضد اینترلوکین ۶) در میمون های مبتلا به آنمی التهابی باعث کاهش بیان هپسیدین و بهبود آنمی می شود. هرچند این درمان ها و سایر درمان های بالقوه بسیار امیدوار کننده هستند، اما آنها الزاماً بدون خطر نمی باشند. اختلال در نقش فیزیولوژیک هپسیدین می تواند باعث پیشرفت عفونت ها و سایر عوارض جانبی گردد. چنین جنبه هایی از درمان با واسطه هپسیدین حوزه فعالی از تحقیقات را در حال حاضر تشکیل داده است.

نتیجه گیری

در این اواخر، کشف هپسیدین سببِ از سرگیری مجددِ تحقیقات مربوط به متابولیسم آهن و اختلالاتِ مربوط به آهن، با تاکید بر اهمیت این هورمون در بسیاری از روندهای نرمال و پاتولوژیک شده است. پرسش های مهم هنوز بی پاسخ مانده اند؛ اگرچه تحقیقات تا به امروز دلالت بر تشخیص ها و درمان-های امیدوارکننده ای را برای هر دو گونه ی انسانی و حیوانی دارند.

منابع

Bohn A. A (2015). Diagnosis of disorders of iron metabolism in dogs and cats. Clin Lab Med, **35**: 579–590.

Franchini M., Montagnana M., Lippi G (2010). Hepcidin and iron metabolism: From laboratory to clinical implications. Clinica Chimica Acta **411**:1565–1569.

Grimes C. N., Giori L., Fry M. M (2012). Role of hepcidin in iron metabolism and potential clinical applications. Vt Clin Small Anim, **42**: 85–96.

Nemeth E., Ganz T (2009). The role of hepcidin in iron metabolism. Acta Haematol **122**:78–86.

Singh B., Arora S., Agrawal P., Gupta S.K (2011). Hepcidin: A novel peptide hormone regulating iron metabolism. Clinica Chimica Acta **412**:823–830.