

MOLEKULARNE ASPEKTY METABOLIZMU ŻELAZA W KANALIKACH PROKSYMALNYCH NERKI

MOLECULAR ASPECTS OF IRON METABOLISM IN THE KIDNEY PROXIMAL TUBULE

Jakub GBUREK

Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej Akademii Medycznej we Wrocławiu

Streszczenie: Do niedawna nerka nie była rozważana jako narząd istotny dla metabolizmu żelaza. Badania ostatniej dekady wykazały jednak, że nawet w warunkach fizjologicznych znaczące ilości osoczowych żelazo-protein, takich jak: transferyna czy hemoglobina, ulegają przesączaniu kłębkowemu, a następnie wchłanianiu w cewce proksymalnej. W przypadku schorzeń hemolitycznych ekspozycja nerki na żelazo jest zwiększona i zależna od poziomu osoczowej haptoglobiny. Wychwyt żelazoprotein w kanaliku proksymalnym następuje w drodze endocytozy za pośrednictwem tandemu receptorów – megaliny i kubiliny. Do właściwego funkcjonowania tego kompleksu niezbędne jest białko opiekuńcze – amnionles. Ponadto pokazano, że ważne dla transblonowego transportu żelaza białka, takie jak: DMT-1, hefajstyna i ferroportyna ulegają ekspresji w komórkach nabłonkowych kanalików proksymalnych. Artykuł naświetla główne osiągnięcia w tej dziedzinie oraz przedstawia schemat molekularnego mechanizmu metabolizmu żelaza w nerce.

Słowa kluczowe: żelazo, nerka, kanalik proksymalny.

Summary: Until recently the kidney has not been considered as an important organ in iron metabolism. However, the investigation of last decade showed that even under physiological conditions significant amounts of iron proteins undergo glomerular filtration and are reabsorbed in the proximal tubule. In the case of hemolytic diseases exposition of the kidney towards iron is increased and dependent on plasma haptoglobin level. Uptake of iron protein in the proximal tubule occurs via endocytosis mediated by a tandem of receptors – megalin and cubilin. A chaperon protein amnionless is essential for proper functioning of the complex. Moreover, it has been shown that proteins important in iron metabolism such as DMT-1, hephaestine and ferroportin are expressed in the epithelial cells of the proximal tubule. The article highlights main achievements in this field, and presents a scheme of molecular mechanism of kidney iron metabolism.

Key words: iron, kidney, proximal tubule.

WPROWADZENIE

Metabolizm żelaza jest przedmiotem intensywnych badań wielu dziedzin fizjologii i patofizjologii. Wynika to z rozmaitych funkcji tego pierwiastka w organizmie, między

innymi: jako składnika grup prostetycznych enzymów, hemu czy klastrów żelazowo-siarkowych. Zainteresowanie tą problematyką wynika również ze stosunkowo dużego rozpowszechnienia schorzeń związanych z jego niedoborem bądź nadmiernym wchłanianiem, takich jak różne postaci anemii czy hemochromatoz [6, 31].

Molekularne podstawy metabolizmu żelaza zostały nie do końca poznane. Wiadomo, że jony żelaza ulegają wchłanianiu z treści pokarmowej przez komórki nabłonka dwunastnicy z udziałem transportera jonów dwuwartościowych – DMT-1 (ang. *Divalent Metal Transporter-1*) zlokalizowanego w ich błonie szczytowej. Dodatkowo w tej części jelita żelazo jest reabsorbowane z pożywienia w postaci hemu poprzez jego specyficzny błonowy transporter – HCP-1 (ang. *Heme Carrier Protein-1*) [32]. Pewne ilości żelaza mogą być również wchłaniane w jelicie cienkim w postaci kompleksu z laktoferryną z udziałem specyficznego błonowego receptora laktoferryny [2]. Wydalanie żelaza z komórek nabłonka jelita do osocza odbywa się za pośrednictwem ferroportyny po uprzednim utlenieniu jonów żelaza (II) do jonów żelaza (III) przez oksydoreduktazę – hefajstynę (ang. *hephaestin*) [26]. W osoczu jony żelaza (III) wiążą się z transferyną – glikoproteina syntetyzowaną głównie w wątrobie, która może odwracalnie wiązać jony tego pierwiastka. W tej formie żelazo jest rozprawdane wraz z krążeniem do różnych narządów i tkanek [4]. Wiele rodzajów komórek ma w błonie receptor transferyny i pobiera żelazo za jego pośrednictwem. Obecność tego receptora stwierdzono między innymi na hepatocytach, komórkach mięśni i komórkach erytroidalnych, a przypuszcza się, że receptor ten ulega ekspresji również w innych komórkach [14]. Receptor transferyny łączy się z kompleksem transferyna-żelazo i ulega internalizacji. W powstającym endosomie pod wpływem zakwaszenia środowiska uwolnione zostają jony żelaza, a stabilny w kwaśnym pH kompleks transferyny z receptorem ulega recyrkulacji do błony komórkowej. Ostatecznie w neutralnym pH transferyna zostaje uwolniona do krwiobiegu, a receptor może służyć kolejnym cyklom pobierania żelaza [5]. W dalszym transporcie żelaza z endosomów do cytosolu uczestniczy wspomniany uprzednio DMT-1, który w większości komórek występuje w błonie endosomu, a nie jak w przypadku nabłonka jelita w błonie szczytowej [21].

Uniwersalnym magazynem żelaza w organizmie jest ferrytyna. Częsteczka ferrytyny może wiązać aż do 4500 atomów żelaza w postaci nieorganicznego rdzenia osłoniętego płaszczem białkowym. W zależności od zapotrzebowania komórek żelazo zostaje albo zatrzymane, albo uwolnione z ferrytyny. Przypuszcza się, że większość komórek zawiera to białko jako lokalny magazyn żelaza, a ferrytyna zlokalizowana w nabłonku jelita stanowi specyficzny bufor w procesie pobierania tego pierwiastka [22].

U człowieka około 1 mg żelaza dziennie ulega wchłanianiu i mniej więcej tyle samo dziennie jest wydalane z organizmu. Ilość ta stanowi zaledwie 1–3% żelaza dostarczanego do krwiobiegu w ciągu doby. Większość dziennego zapotrzebowania na żelazo jest zaspokajana przez reutilizację istniejącej puli żelaza [6].

Za międzynarodową regulację bilansu żelaza odpowiedzialna jest hepcydyna. Hormon ten jest syntetyzowany w wątrobie w warunkach osoczonego nadmiaru żelaza lub uogólnionych stanów zapalnych i oddziałuje z ferroportyną nabłonka jelitowego powodując

jej kierowanie do przedziału lizosomalnego, gdzie ulega ona degradacji, a tym samym zostaje zatrzymany wypływ żelaza od strony bazolateralnej [3,11].

Z całkowitej puli żelaza w organizmie, wynoszącej około 3–4 g, aż 70% zawarte jest w hemoglobinie. Stąd też metabolizm tego białka pełni kluczową rolę w homeostazie żelaza. Synteza hemoglobiny zachodzi w komórkach erytroidalnych, które pobierają żelazo drogą transferynową. Dojrzałe krwinki przesuwane są do krwiobiegu, gdzie ich okres życia wynosi średnio 120 dni. Większość starych erytrocytów jest rozpoznawana przez zmiany w ich błonie plazmatycznej i usuwana z krążenia przez układ jednojądrzastych komórek fagocytujących. Po degradacji części białkowej hemoglobiny uwolniony hem rozkładany jest przez oksygenazę hemową, a żelazo jest magazynowane w ferrytynie bądź zwracane do krwiobiegu, gdzie ponownie wiąże się z transferyną [32].

W warunkach fizjologicznych wewnątrznaczyniowa hemoliza zachodzi w ograniczonym stopniu, a stężenie wolnej hemoglobiny w osoczu wynosi 0,03 g/l. Hemoglobina uwolniona bezpośrednio do krwiobiegu po utlenowaniu w kapilarach płucnych dysocjuje na $\alpha\beta$ -dimery, które silnie wiążą się z osoczną α_2 -glikoproteina, haptoglobina. Uważa się, że powstający kompleks jest zbyt duży (Mr 164 kDa), aby swobodnie przesączał się przez kłębuszki nerkowe. Jednocześnie niezwiązane $\alpha\beta$ -dimery (Mr 32 kDa) ulegają swobodnej filtracji. Utrzymujący się w krwiobiegu kompleks jest sukcesywnie usuwany z krążenia przez komórki układu siateczkowo-śródbłonkowego z udziałem niedawno scharakteryzowanego receptora CD163 [25, 37, 42].

Drugim co do zawartości w organizmie białkiem hemowym jest mioglobina. Służy ona głównie jako przekaźnik tlenu w komórkach mięśniowych. W wyniku naturalnego rozpadu miocytów niewielkie ilości mioglobiny zostają uwolnione do krwiobiegu i ze względu na małą masę cząsteczkową (Mr 17 kDa) ulegają swobodnej filtracji kłębkowej [40].

METABOLIZM ŻELAZA W NABŁONKU NERKOWYM

Mechanizm zaopatrzenia komórek nabłonkowych cewek nerkowych w żelazo pozostawał niewyjaśniony przez długi czas. Z jednej strony, pomimo podejmowanych prób nie udawało się wykryć receptora transferyny w ich błonie bazolateralnej, czyli od strony kontaktu z krwiobiegiem. Z drugiej zaś strony, panowało powszechne przekonanie, że duża masa cząsteczkowa transferyny (78 kDa) w istotnym stopniu zapobiega jej sączeniu kłębkowemu, a przez to nie mogłaby ona zapewnić wystarczającego zaopatrzenia w żelazo od strony szczytowej nabłonka.

Nowe światło na ten problem rzuciły badania pacjentów z zespołem Fanconiego, u których stwierdza się poważne zaburzenia funkcji kanalików proksymalnych. Okazało się, że poziom transferyny w moczu tych pacjentów jest znacznie podwyższony. Sugerowało to, że w warunkach fizjologicznych znaczące ilości tego białka ulegają wchłanianiu zwrotnemu w tej części nefronu [28]. Jednocześnie wyniki prac Ohlson i wsp. [29] zmieniły spojrzenie na strukturę bariery kłębuszkowej. Na

podstawie starannych badań przesączania białek w eksperymentach z izolowaną perfundowaną nerką postulują oni tzw. model naładowanej membrany żelowej i stwierdzili występowanie dwóch populacji porów: jednej, przeważającej, o średnicy 45–50 Å i drugiej, mniej obfitej, o średnicy 75–115 Å. Transferyna więc pomimo dużej masy cząsteczkowej mogłaby ulegać przesączaniu przez większe pory nawet w warunkach fizjologicznych. Na znaczącą rolę nerki w metabolizmie żelaza wskazywały również badania Gunshina i wsp. [20] nad transporterem metali dwuwartościowych typu-1 (DMT-1), białka bardzo ważnego dla transportu żelaza przez błony. Metodą hybrydyzacji *in situ* stwierdzili oni zdumiewająco silny sygnał ekspresji mRNA DMT-1 w części korowej i zewnętrznego pasa miedniczki nerki szczura.

Wychwyt endogennej transferyny w kanalikule proksymalnym nerki udało się po raz pierwszy zademonstrować w badaniach z użyciem mikroskopii świetlnej i elektronowej oraz technik immunocytochemicznych na ultracienkich skrawkach mrożeniowych [23]. W badaniach tych wykazano również za pomocą chromatografii powinowactwa, że receptorem endogennej transferyny jest kubilina, a stała dysocjacji kompleksu wyznaczona metodą rezonansu powierzchniowego mieściła się w zakresie nanomolowym. W moczu psów z defektem kubiliny oprócz innych poznanych ligandów tego receptora znaleziono również znaczne ilości transferyny. Zależną od kubiliny endocytozę transferyny potwierdzono w badaniach przeprowadzonych na komórkach pęcherzyka żółtkowego, które są funkcjonalnie podobne do komórek nabłonkowych kanalikule proksymalnego nerki. Wychwyt radioaktywnie znakowanej transferyny lub radioaktywnego żelaza w kompleksie z „zimną” transferyną przez komórki BN16 był hamowany przez swoiste przeciwciała. Badanie reabsorpcji transferyny u myszy z knockoutem megaliny – drugiego wieloligandowego receptora zmiatającego występującego w błonie szczytowej nabłonka kanalikule proksymalnego wykazały, że endocytoza kubiliny jest zależna od megaliny. W komórkach pozbawionych megaliny następowało powierzchniowe wiązanie transferyny do obecnej w błonie kubiliny, jednak nie następowała internalizacja kompleksu.

Potencjalnym źródłem żelaza dla komórek nabłonkowych kanalikule proksymalnego wydają się być krążące białka hemowe, a więc wolna hemoglobina i mioglobina. Pomimo ich niewielkiego stężenia w osoczu ustawiczna filtracja kłębuszkowa może dostarczać znaczących ilości tych białek do światła kanalików. Już we wcześniejszych badaniach stwierdzono, że błony rąbka szczoteczkowego kanalikule proksymalnego zawierają miejsca wiążące dla hemoglobiny, a ich charakterystyka przypominała wiązanie się ligandów z megaliną [15]. Zmierzano więc do potwierdzenia tej obserwacji. W badaniach Gburka i wsp. [16] wykazano, że hemoglobina wiąże się nie tylko z kubiliną, ale także z megaliną. Zjawisko to wykazano *in vitro* za pomocą technik biochemicznych, takich jak chromatografia powinowactwa i powierzchniowy rezonans plazmonowy oraz w badaniach na komórkach BN16 z użyciem specyficznych przeciwciał. W badaniach *in vivo* po dożylnym podaniu hemoglobiny wykazano, iż ulega ona reabsorpcji kanalikowej u myszy typu dzikiego, podczas gdy wychwyt ten nie zachodzi u myszy z knockoutem genu megaliny. Stosując analogiczny zestaw badań stwierdzono, że za kanalikowy wychwyt mioglobiny odpowiedzialne są te same mechanizmy [17].

Znaczenie megaliny i kubiliny w reabsorpcji białek hemowych potwierdziły również badania z eksperymentalnymi modelami toksyczności hemoprotein u myszy z knockoutem megaliny. Miohemoglobinurię lub hemoglobinurię wywoływano odpowiednio przez podskórne podanie glicerolu lub dożylną iniekcję fenylohydrazyny. W obu przypadkach stwierdzono wzmożone formowanie się wałeczków hemoproteinowych w dystalnej części nefronu w porównaniu z myszami typu dzikiego, co odzwierciedlało zwiększoną podaż białek hemowych do tego segmentu w warunkach braku ich wchłaniania w kanalik proksymalnym [18, 19].

Kubilina została początkowo scharakteryzowana jako receptor pośredniczący w endocytozie kompleksu czynnika wewnętrznego i witaminy B12 w nabłonku jelita, a później wykazano, że jest ono również odpowiedzialne za kanalikową reabsorpcję niektórych białek przesącza kłębkowego między innymi: albuminy i apolipoproteiny A-1 [8, 9]. Mutacje w genie kubiliny są przyczyną rozwoju wrodzonej anemii megaloblastycznej typu I (zespół Imerslund-Gräsbecka) na skutek niedostatecznego wchłaniania witaminy B12, a u pacjentów z tym zespołem stwierdza się niskocząsteczkową proteinurię [7, 27]. W literaturze postulowano [13], że receptor ten tworzy funkcjonalny kompleks z białkiem opiekuńczym – amnionles (ang. *amnionless*), a oddziaływanie to jest niezbędne do prawidłowego kierowania i subkomórkowej lokalizacji obu białek. Przypuszczenie, że do prawidłowej funkcji kubiliny potrzebne jest białko pomocnicze wypłynęło z szerszej analizy pacjentów z zespołem Imerslund-Gräsbecka. Podczas gdy u wszystkich pacjentów fińskich z anemią megaloblastyczną typu-1 znaleziono mutacje w genie kubiliny, u pacjentów norweskich gen ten był funkcjonalnie aktywny. Genetyczne mapowanie wskazywało natomiast na inny gen kodujący białko amnionles. Wkrótce okazało się, że kubilina tworzy silny kompleks z tym białkiem, a brak któregośkolwiek komponentu powoduje ich błędną lokalizację subkomórkową [35].

Szczegółową rolę wzajemnych oddziaływań pomiędzy tymi białkami wyjaśniły badania z użyciem rekombinowanych, skróconych form kubiliny ulegających ekspresji osobno lub razem w komórkach nabłonkowych pochodzących z kanalika proksymalnego nerek [10]. Amnionles wiąże się z klastrem domen podobnych do naskórkowego czynnika wzrostu – EGF (ang. *Epidermal Growth Factor*) w cząsteczce kubiliny, a oddziaływanie to zapewnia błonową lokalizację kompleksu i jego uwalnianie z retikulum endoplazmatycznego, podczas gdy cukrowa komponenta kubiliny jest odpowiedzialna za kierowanie kompleksu do błony szczytowej. Inni autorzy [39] wykazali, że w psim modelu anemii megaloblastycznej typu-1 zaburzenia błonowej lokalizacji subkomórkowej kubiliny nie wynikają z mutacji w genie kubiliny, ale jej nieprawidłowego kierowania w obrębie komórki na skutek mutacji genu *amnionles*.

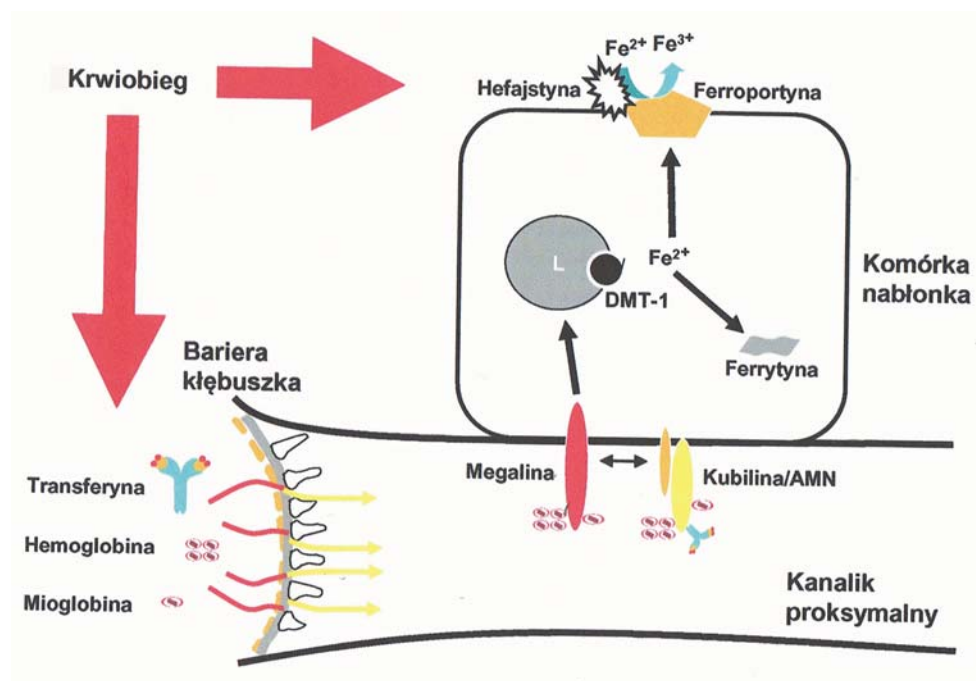
W ostatnich latach, po raz pierwszy wykazano w warunkach *in vivo*, że haptoglobina moduluje nerkową dostępność żelaza przez zdolność kierowania wolnej hemoglobiny do wątroby i śledziony oraz zapobieganie jej przesączeniu kłębkowemu w nerkach [24]. Nerkowa akumulacja podanej dożylnie znakowanej radioaktywnie hemoglobiny była znacznie większa u myszy z knockoutem haptoglobiny w porów-

naniu z myszami kontrolnymi. Jednocześnie brak haptoglobiny powodował zmniejszone wchłanianie hemoglobiny w wątrobie i śledzionie. Zmieniona między narządowa dystrybucja hemoglobiny u myszy z knockoutem haptoglobiny prowadziła wraz z wiekiem do powstawania złogów żelazowych w nabłonku kanalików proksymalnych nerki. Zwiększoną akumulację żelaza w nerce tych myszy obserwowano również w eksperymentalnym modelu zespołu zmiążdżenia, gdzie dochodzi do pojawienia się znacznych ilości białek hemowych w osoczu [12].

Pobierane w drodze endocytozy żelazo bądź w kompleksie z transferyną, bądź w postaci białek hemowych trafia do lizosomów jako końcowego przedziału aparatu endocytarno-lizosomalnego. Intrygującym problemem było wyjaśnienie, w jaki sposób odbywa się transport żelaza przez błonę lizosomalną do cytoplazmy, a w efekcie jego magazynowanie w złogach ferrytynowych bądź dalszy transport w kierunku bazolateralnym. Przesłanek do rozpoznania tego problemu dostarczyły badania nad tkankową ekspresją DMT-1. Wiadomo było, że białko to jest wydajnie syntetyzowane w komórkach nabłonka kanalik proksymalnego, jednak jego dokładna lokalizacja subkomórkowa była trudna do ustalenia [36]. Wyrafinowane techniki immunocytochemiczne w połączeniu z mikroskopią świetlną i elektronową pozwoliły ustalić, że DMT-1 jest zlokalizowany w błonie lizosomalnej komórek kanalik proksymalnego, co czyni go bardzo prawdopodobnym kandydatem na przenośnik odpowiedzialny za transport żelaza przez błonę lizosomalną [1].

PODSUMOWANIE

Badania ostatnich lat przyczyniły się do lepszego poznania molekularnych mechanizmów odpowiedzialnych za metabolizm żelaza w komórkach nabłonka kanalik proksymalnego nerki, które w skrócie zobrazowano na rycinie 1. Okazały się one odmienne niż te pierwotnie scharakteryzowane dla nabłonka jelitowego czy komórek erytroidalnych. Aktualnie uważa się, że główną drogą pobierania żelaza przez te komórki jest wchłanianie transferyny i białek hemowych w drodze endocytozy za pośrednictwem tandemu receptorów zmiatających: megaliny i kubiliny. Receptory te znajdują się w błonie szczytowej komórek nabłonka, a ich internalizacja zależna jest od klatryny. Prawidłowa lokalizacja kubiliny jest ściśle związana z koekspresją białka chaperonowego amnionles, a jej internalizacja jest zależna od megaliny. Dalszy transport żelaza przez błonę lizosomów do cytoplazmy odbywa się prawdopodobnie z udziałem DMT-1. Wiele aspektów obrotu żelaza w nabłonku kanalik proksymalnego pozostaje wciąż niewyjaśnionych. Na podstawie badań immunocytochemicznych Zang i wsp. [41] sugerowali obecność receptora transferyny w błonie apikalnej. Jednak obserwacja ta nie została dotychczas potwierdzona w innych baniach. Nie zostały także wykonane żadne badania czynnościowe w kierunku wyjaśnienia potencjalnego znaczenia tego receptora dla gospodarki żelaza w nerce. Również dane na temat bazolateralnego transportu żelaza są bardzo skąpe. Wiadomo, że ferroportyna i hefajstyna ulegają ekspresji w tych komórkach, a jej



RYCINA 1. Molekularny mechanizm metabolizmu żelaza w nerce: AMN – amnionless (ang. *amnionless*), DMT-1 – transporter metali dwuwartościowych typu 1 (ang. *Divalent Metal Transporter-1*), L – lizosom

FIGURE 1. Molecular mechanism of renal iron metabolism. AMN – amnionless, DMT-1 – Divalent Metal Transporter-1, L – lysosome

poziom jest zależny od hormonu regulującego metabolizm żelaza – hepcydyny. Procesy te jednak nie zostały dotychczas dobrze scharakteryzowane [33, 38].

Wyniki badań molekularnych podstaw metabolizmu żelaza w komórkach nąblonkowych nerki, oprócz znaczenia w nefrologii, mogą być również cenne dla charakterystyki omawianych procesów w innych nąblonkach oraz poznania patomechanizmu schorzeń związanych z zaburzeniem gospodarki żelaza. Umożliwiłoby to w perspektywie zaproponowanie nowych strategii leczenia tych chorób.

PIŚMIENNICTWO

- [1] ABOUHAMED M, GBUREK J, LIU W, TORCHALSKI B, WILHELMA, WOLFF NA, CHRISTENSEN EI, THEVENOD F, SMITH CP. Divalent metal transporter 1 in the kidney proximal tubule is expressed in late endosomes/lysosomal membranes: implications for renal handling of protein-metal complexes. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; **290**: F1525–F1533.
- [2] ARTYM J. Udział laktoferyny w gospodarce żelazem w organizmie. Część I. Wpływ laktoferyny na wchłanianie, transport i magazynowanie żelaza. *Post Hig Med Dośw* 2008; **62**: 599–612.
- [3] ANDERSON GJ, FRAZER DM, MCLAREN GD. Iron absorption and metabolism. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; **25**: 129–135.

- [4] ANDERSON GJ, VULPE CD. Mammalian iron transport. *Cell Mol Life Sci* 2009; **66**: 3241–3261.
- [5] AISEN P. Transferrin receptor-1. *Int J Biochem Cell Biol* 2004; **36**: 2137–2143.
- [6] ANDREWS NC, SCHMIDT PJ. Iron homeostasis. *Ann Rev Physiol* 2007; **69**: 69–85.
- [7] CHRISTENSEN EI, GBUREK J. Protein reabsorption in renal proximal tubule function and dysfunction in kidney pathophysiology. *Pediatr Nephrol* 2004; **19**: 714–721.
- [8] CHRISTENSEN EI, VERROUST PJ, NIELSEN R. Receptor-mediated endocytosis in renal proximal tubule. *Pflügers Arch - Eur J Physiol* 2009; **458**: 1039–1048.
- [9] CHRISTENSEN EI, NIELSEN R. Role of megalin and cubilin in renal physiology and pathophysiology. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 2007; **158**: 1–22.
- [10] COUDROY G, GBUREK J, KOZYRAKI R, MADSEN M, TRUGNAN G, MOESTRUP SK, VERROUST PJ, MAURICE M. Contribution of cubilin and amnionless to processing and membrane targeting of cubilin-amnionless complex. *J Am Soc Nephrol* 2005; **16**: 2330–2337.
- [11] DUNN LL, RAHMANTO YS, RICHARDSON DR. Iron uptake in the new millennium. *Trends Cell Biol* 2007; **17**: 93–100.
- [12] FAGOONEE S, GBUREK J, HIRSCH E, MARRO S, MOESTRUP SK, LAURBERG JM, CHRISTENSEN EI, SILENGO L, ALTRUDA F, TOLOSANO E. Plasma protein haptoglobin modulates renal iron loading. *Am J Pathol* 2005; **166**: 973–983.
- [13] FYFE JC, MADSEN M, HOJRUP P, CHRISTENSEN EI, TANNER SM, DE LA CHAPELLE A, HE Q, MOESTRUP SK. The functional cobalamin (vitamin B12)-intrinsic factor receptor is a novel complex of cubilin and amnionless. *Blood* 2004; **103**: 1573–1579.
- [14] GARRIC MD, GARRIC LM. Cellular iron transport. *Biochim Biophys Acta* 2009; **1790**: 309–325.
- [15] GBUREK J, OSADA J. Hemoglobin binding sites on renal brush-border membranes. *Biochimie* 2000; **82**: 1135–1142.
- [16] GBUREK J, VERROUST PJ, WILLNOW TE, FYFE J, NOWACKI W, JACOBSEN CH, SOREN K, MOESTRUP SK, ERIK I, CHRISTENSEN EI. Megalin and cubilin are endocytic receptors involved in renal clearance of hemoglobin. *J Am Soc Nephrol* 2002; **13**: 423–430.
- [17] GBUREK J, BIRN H, VERROUST PJ, GOJ B, JACOBSEN CH, MOESTRUP SK, WILLNOW TE, CHRISTENSEN EI. Renal uptake of myoglobin is mediated by the endocytic receptors megalin and cubilin. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; **285**: F451–F458.
- [18] GBUREK J, BIRN H, WILLNOW TE, CHRISTENSEN EI. Myohemoglobinuric acute renal failure in megalin knockout mice. *J Am Soc Nephrol* 2003; **14**: 567A–568A.
- [19] GBUREK J, BIRN H, WILLNOW TE, CHRISTENSEN EI. Hemoglobinuric renal injury in megalin knockout mice. *J Am Soc Nephrol* 2004; **15**: 717.
- [20] GUNSHIN H, MACKENZIE B, BERGER UV, GUNSHIN Y, ROMERO MF, BORON WF, NUSSBERGER S, GOLLAN JL, HEDIGER MA. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature* 1997; **388**: 482–488.
- [21] IOLASCON A, DE FALCO L. Mutations in the gene encoding DMT1: clinical presentation and treatment. *Semin Hematol* 2009; **46**: 358–370.
- [22] KIDANE TZ, SAUBLE E, LINDER MC. Release of iron from ferritin requires lysosomal activity. *Am J Physiol Cell Physiol* 2006; **291**: C445–C455.
- [23] KOZYRAKI R, FYFE J, VERROUST PJ, JACOBSEN CH, DAUTRY-VARSAT A, GBUREK J, WILLNOW TE, CHRISTENSEN EI, MOESTRUP SK. Megalin-dependent cubilin-mediated endocytosis is a major pathway for the apical uptake of transferrin in polarized epithelia. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; **98**: 12491–12496.
- [24] LIM YK, JENNER A, ALI AB, WANG Y, HSU SI, CHONG SM, BAUMMAN H, HALLIWELL B, LIM SK. Haptoglobin reduces renal oxidative DNA and tissue damage during phenylhydrazine-induced hemolysis. *Kidney Int* 2000; **58**: 1033–1044.
- [25] MOESTRUP SK, MOLLER HJ. CD163: a regulated hemoglobin scavenger receptor with a role in the anti-inflammatory response. *Ann Med* 2004; **36**: 347–354.
- [26] MUÑOZ M, VILLAR I, GARCIA-ERCE JA. An update on iron physiology. *World J Gastroenterol* 2009; **15**: 4617–4626.
- [27] NIELSEN R, CHRISTENSEN EI. Proteinuria and events beyond the slit. *Pediatric Nephrol* 2010; **25**: 813–822.
- [28] NORDEN AG, LAPSLEY M, LEE PJ, PUSEY CD, SHEINMAN SJ, TAM FW, THAKKER RV, UNWIN NJ, WRONG O. Glomerular protein sieving and implications for renal failure in Fanconi syndrome. *Kidney Int* 2001; **60**: 1885–1892.

- [29] OHLSON M, SÖRENSSON J, HARALDSSON B. A gel-membrane model of glomerular charge and size selectivity in series. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001; **280**: F396–F405
- [30] PONKA P. Cell biology of the heme. *Am J Med Sci* 1999; **318**: 241–156.
- [31] ROMANOWSKI T, SIKORSKA K, BIELAWSKI KP. Molekularne podstawy dziedzicznej hemochromatozy. *Post Hig Med Dośw* 2006; **60**: 217–226.
- [32] SHARP P, SRAI SK. Molecular mechanisms involved in intestinal iron absorption. *World J Gastroenterol* 2007; **13**: 4716–4724.
- [33] SMITH CP, THEVENOD F. Iron transport and the kidney. *Biochim Biophys Acta* 2008; **1790**: 724–730.
- [34] SOKOŁOWSKA E, KLIMEK J. Hepcydyna – hormon uczestniczący w regulacji metabolizmu żelaza w organizmie. *Post Biol Kom* 2007; **34**: 15–30.
- [35] TANNER SM, AMINOFF M, WRIGHT FA, LIYANARACHCHI S, KURONEN M, SAARINEN A, MASSIKA O, MANDEL H, BROCH H, DE LA CHAPELLE A. Amnionless, essential for mouse gastrulation, is mutated in recessive hereditary megaloblastic anemia. *Nat Genet* 2003; **33**: 426–429.
- [36] WAREING M, FERGUSON CJ, DELANNOY M, COXAG, MCMAHON RF, GREEK R, RICCARDI D, SMITH CP. Altered dietary iron uptake is a strong modulator of renal DMT-1 expression. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003; **285**: F1050–F1059.
- [37] VAN GORP H, BELPUTTE PL, NAUWYNCK HJ. Scavenger receptor CD163, a Jack-of-all-trades and potential target for cell-directed therapy. *Mol Immunol* 2010; **47**: 1650–1660.
- [38] VEUTHEY T, D'ANNA MC, ROQUE ME. Role of the kidney in iron homeostasis: renal expression of Prohepcidin, Ferroportin, and DMT1 in anemic mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; **295**: F1213–F1221.
- [39] XU D, KOZYRAKI R, NEWMAN TC, FYFE JC. Genetic evidence of an accessory activity required specifically for cubilin brush-border expression and intrinsic factor-cobalamin absorption. *Blood* 1999; **94**: 3604–3606.
- [40] ZAGER RA. Rhabdomyolysis and acute renal failure. *Kidney Int* 1996; **49**: 314–326.
- [41] ZHANG D, MEYRON-HOLTZ E, ROUAULT T. Renal iron metabolism: transferrin iron delivery and the role of iron regulatory transporter. *J Am Soc Nephrol* 2007; **18**: 401–406.
- [42] ZUWAŁA-JAGIEŁŁO J. Haemoglobin scavenger receptor: function in relation to disease. *Acta Biochim Pol* 2006; **53**: 257–268.

Redaktor prowadzący – M. Zabel

Otrzymano: 02.03. 2010 r.

Przyjęto: 11.06. 2010 r.

Dr hab. Jakub Gburek

Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Akademia Medyczna we Wrocławiu

ul. Szewska 38/39, 50-139 Wrocław

E-mail: jakubg@biochfarm.am.wroc.pl