

Adelina Beatriz Arteiro Ramos

Metabolismo do Ferro, Infecção e Imunidade

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2017

Adelina Beatriz Arteiro Ramos

Metabolismo do Ferro, Infecção e Imunidade

Universidade Fernando Pessoa

Porto, 2017

© 2017
Adelina Beatriz Arteiro Ramos
TODOS OS DIREITOS RESERVADOS

Adelina Beatriz Arteiro Ramos

Metabolismo do Ferro, Infecção e Imunidade

Adelina Beatriz Arteiro Ramos

Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas, sob a orientação da Prof. Doutora Amélia Maria Marques da Silva Rodrigues Sarmiento Assunção.

Resumo

O ferro é o quarto elemento mais abundante à superfície terrestre e tem um papel fundamental na proliferação e sobrevivência celular. A homeostasia do ferro é fundamental já que um déficit deste leva a uma deficiência no crescimento celular e apoptose, podendo resultar numa anemia. Um excesso de ferro provoca a formação de espécies reativas de oxigênio, agravando a inflamação. Algumas patologias estão associadas a desequilíbrios no metabolismo do ferro tais como a hemocromatose, a aceruloplasminemia e a atransferrinemia.

A absorção do ferro ocorre no duodeno proximal, sendo a quantidade de ferro absorvida dependente da quantidade armazenada e da capacidade de armazenamento do organismo. Após a sua libertação no citoplasma, o ferro é conduzido para a membrana basolateral do enterócito, ou armazenado em ferritina. A ferritina desempenha um papel crucial na absorção de ferro. Outras proteínas desempenham um importante papel no metabolismo do ferro, tais como a transferrina (intervém no transporte de ferro) e a hepcidina que faz a regulação das concentrações plasmáticas de ferro.

O armazenamento de ferro previne a presença de ferro livre sempre que os níveis de ferro no organismo aumentam, o qual poderia ser utilizado para maior crescimento e virulência de muitos patogénicos microbianos.

O sistema imunitário também desenvolveu formas de realizar privação de ferro durante a infeção por microrganismos patogénicos, nomeadamente pela produção de proteínas que competem diretamente com os microrganismos para o ferro.

Palavras-chave: ferro; metabolismo do ferro; ferro infeção; ferro imunidade; hepcidina; absorção do ferro; transporte do ferro; déficit de ferro; excesso de ferro

Abstract

Iron is the fourth major element on earth and has an important role in proliferation and cellular survival. Iron homeostasis is vital since a deficiency leads to an absence of cell growth and apoptosis, which can result in anemia. An excess of iron causes the formation of oxygen reactive species, aggravating inflammation and is also associated to pathologies such as haemochromatosis, aceruloplasminemia and atransferrinemia.

The absorption of iron takes place in the proximal duodenum, being the amount of iron absorbed dependent of the stored quantity and of the storage capacity of the organism. After iron release in the cytoplasm, it is conducted to the basolateral membrane of the enterocyte, or stored in ferritin. Ferritin performs a crucial role in iron absorption. Other proteins have an important role on iron metabolism, such as transferrin (intervenes in his transport) and hepcidin that makes the regulation of iron plasma concentrations.

The storage of iron prevents the presence of free iron when it's levels increase, since iron is essential for the growth and virulence of the majority of the pathogenic microbials.

The immune system has developed ways to deprive pathogenic microorganisms of access to iron, namely through production of proteins that compete directly with the microorganisms for the iron.

Keywords: iron; iron metabolism; iron in infection; iron in immunity; hepcidin; iron absorption; iron transport; iron deficiency; iron overload

Agradecimentos

Primeiramente gostaria de agradecer à minha orientadora, a Professora Doutora Amélia Assunção, por todo o tempo disponibilizado para me ajudar ao longo desta monografia. Por todas as sugestões e conhecimentos transmitidos, motivação e simpatia.

De seguida, gostaria de agradecer a todos os meus amigos e familiares que me apoiaram ao longo deste percurso académico de 5 anos. Aos meus pais que foram o maior apoio e que sempre me incentivaram a persistir e nunca desistir dos meus objetivos.

Obrigada!

ÍNDICE GERAL

<i>Resumo</i>	V
<i>Abstract</i>	VI
<i>Agradecimentos</i>	VII
<i>Índice de Figuras</i>	VIII
<i>Lista de Abreviaturas</i>	XI
1. Introdução	1
2. Metabolismo do Ferro	4
2.1. Absorção	4
2.2. Hepcidina	9
2.3. Tráfego e Armazenamento Celular	12
2.4. Reciclagem pelos Macrófagos	15
2.5. Déficit de Ferro	16
2.6. Excesso de Ferro	17
3. Imunidade e Infecção	19
3.1. O ferro e a resposta imunitária	19
3.2. O Ferro e os microrganismos	22
3.2.1. <i>M. tuberculosis</i>	26
3.2.2. <i>Plasmodium falciparum</i>	28
3.2.3. HIV-1 (Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1)	31
4. Patologias Influenciadas pelo status do Ferro	32
4.1. Patologias relacionadas com o excesso de ferro	32
4.1.1. Excesso de ferro como fator de risco em outras patologias	33
4.1.1.1. Ferro e Cancro	34
4.1.1.2. Ferro e a Cardiotoxicidade	35
4.1.1.3. Ferro, Envelhecimento e Neurodegeneração	36
4.2. Patologias relacionadas com o déficit de ferro	37
5. Conclusão	38
6. Bibliografia	41

Índice de Figuras

Figura 1 – Reação de Fenton. Na primeira reação, o ião férrico converte um anião superóxido em oxigénio, e fica reduzido no processo. Na segunda reação, o ião ferroso converte o radical peróxido de hidrogénio em radical hidroxilo e anião hidroxilo. O radical hidroxilo e anião hidroxilo. O radical hidroxilo é altamente reativo e pode reagir com as principais moléculas biológicas. Retirado de, (Ong *et al.*, 2006).....2

Figura 2 – Metabolismo do ferro. (A) Antes do transporte para os enterócitos duodenais, o ferro na dieta é reduzido pelas redutases férricas presentes na borda apical. O ião ferroso é transportado para a célula pelo DMT1, podendo vir a ser usado para processos celulares, armazenado em ferritina, ou sair da célula via ferroportina (FPN). O ferro extracelular é ligado, com alta afinidade, pela transferrina (Tf), convertendo-o em Holo-Tf. (B) Percursos eritroides adquirem ferro pelo recetor da transferrina (TFR); o ferro é então transportado para o citoplasma pelo DMT1. O ferro citoplasmático pode ser subsequentemente transportado para a mitocôndria para ser usado na síntese do heme. (C) Os macrófagos adquirem ferro por endocitose mediada pelo TFR da Holo-Tf ou reciclando os eritrócitos senescentes. A HO-1 catalisa a degradação do ferro a heme, monóxido de carbono e biliverdina, depois do qual o ferro é transportado para o citoplasma pelo DMT1. O ferro citoplasmático pode ser usado para processos celulares, armazenado em ferritina, ou transportado para fora do macrófago pela FPN. (D) A hemoglobina ou heme libertado após a lise de eritrócitos é avidamente retirada pela haptoglobina (HPT) ou hemopexina (HPX), respetivamente. Adaptado de, (Cassat e Skaar, 2013).....7

Figura 1 - Homeostasia de ferro e regulação pela hepcidina. O ferro da dieta é conduzido pelos enterócitos intestinais através uma rede de transporte que envolve o importador apical DMT1 e o exportador basolateral ferroportina. O ferro circula ligado à transferrina e é entregue às células por endocitose dos recetores da transferrina. O ferro em excesso é capturado pelo fígado e armazenado em ferritina (ferro não-heme) enquanto que a maioria do ferro é utilizado para a produção de hemoglobina (ferro heme). As células vermelhas senescentes são fagocitadas por macrófagos no baço e sistema reticuloendotelial e o ferro é reciclado para o sangue via ferroportina. A entrada de ferro na circulação é controlada pela hepcidina que é a hormona reguladora secretada pelo fígado. A hepcidina liga-se à ferroportina, causando a sua internalização e degradação. Adaptado de, (Johnson e Wessling-Resnick, 2012).....11

Figura 4 – Modelo genérico do tráfico de ferro dentro de uma célula. Após entrar na célula o ferro pode ser armazenado na ferritina ou, quando está em elevadas concentrações, em hemossiderina. O ferro também é regulador do sistema IRP/IRE que controla o tráfico do metal dentro da célula. Maior parte do ferro move-se para a

mitocôndria onde origina os grupos Fe-S e os grupos heme que são utilizados para sintetizar várias proteínas celulares. Retirado de, (Nelson, 2017).....13

Figura 5 – Ciclo de Krebs. O ferro é necessário para o correto funcionamento da citrato sintetase (converte acetyl-coa em citrato) afeta também a conversão do citrato em isocitrato pela aconitase, influencia a conversão do isocitrato em alfa-cetoglutarato pela isocitrato desidrogenase e a conversão do succinato em fumarato pela succinato desidrogenase. Indiretamente devido aos efeitos na cadeia transportadora de elétrons há menos NADH que vai também afetar as enzimas que requerem este composto. Devido a isto o organismo requer a obtenção de energia pela via anaeróbica, com formação de lactato. Retirado de, (Nelson, 2017).....15

FIGURA 2 – Controlo do ferro durante uma infeção e inflamação. **A** - O fígado é estimulado a produzir hepcidina (a laranja com o h); **B** – nas células do intestino o TNF- α vai inibir o DMT1 um canal que permite a passagem do ferro para dentro das células do intestino. O TNF- α , a IL-1 e a IL-6 vão potenciar a ação da ferritina de forma a que esta acumule mais ferro. O INF- γ vai inibir o canal responsável pela passagem do ferro para a corrente sanguínea sendo que a hepcidina vai promover a destruição destes canais; **C** – dentro dos macrófagos a IL-4, IL-10 e a IL-13 ativam o recetor da transferrina de forma a fazer o uptake desta no local da infeção, e o IFN- γ tem como função inibir o recetor da transferrina. A ferroportina também existe nestas células é inibida pelo INF- γ e pela hepcidina. Dentro do macrófago existe também o fagossoma onde pode residem microrganismos antes de serem destruídos, para eliminar o ferro dentro do fagossoma existe a ferroportina que bombeia algum ferro para o citoplasma do macrófago, existe também o canal nramp1 que é estimulado pelo INF- γ , o TNF- α e a IL-1, este canal bombeia também ferro do fagossoma para o citoplasma dos macrófagos; **D** – Os neutrófilos além de produzir hepcidina, eles desgranulam e libertam lactoferrina que capta ferro livre no local da infeção (a azul na figura) e também libertam sideracolina (a beje na imagem) a sideracolina é altamente importante pois possui a capacidade de capturar sideróforos (moléculas orgânicas com alta afinidade para o ferro, a amarelo na imagem). Todos estes mecanismos têm como função fazer com que o ferro não seja absorvido e limita o acesso do ferro aos microrganismos (Cassat e Skaar, 2013).....21

FIGURA 3 - Organismos Gram-positivo obtém o ferro através dos recetores de grupos heme ou hemoglobina, ou com hemóforos, os grupos heme são então enviados pela parede celular e um transportador abc encarrega-se de enviar os grupos heme para o citoplasma, aqui heme oxigenases degradam o grupo e libertam o ferro. Em alternativa o ferro pode ser obtido através de sideróforos previamente libertados estes, tem recetores específicos que permite a reentrada dos sideróforos na bactéria. Adaptado de (Cassat e Skaar, 2013).....24

FIGURA 4 – Organismos Gram-negativo possuem também sideróforos assim como os recetores de heme e compostos associados ao ferro. Alguns organismos Gram- negativo possuem recetores(TBP/LBP) da transferrina(TF) e da lactoferrina(Mckie *et al.*) que permite à bactéria obter ferro por esta maneira. A passagem pela parede celular requer energia que é fornecida pelo Tonb/ExbB/ExbD e depois é utilizado um transportador ATP que se encarrega de enviar os compostos com ferro para o citoplasma. Adaptado de (Cassat e Skaar, 2013).....25

Figura 9 – Bactérias intracelulares obrigatórias produzem também sideróforos que no caso da *M. tuberculosis* (a vermelho na imagem) saem do fagossoma e ligam-se a ferro citoplasmático. Além disso, a *M. tuberculosis* e outras bactérias intracelulares ontêm ferro através da holo-transferrina (holo-Tf) à medida que esta entra por endocitose. Outras bactérias intracelulares (a verde na imagem) conseguem escapar do fagossoma, que permite não só o uso de ferro citoplasmático como também o uso de ferro associado à ferritina. Os patogénios intracelulares manipulam a homeostasia do ferro de forma a aumentar a disponibilidade deste, o *M. tuberculosis* inibe a expressão de FPN, que aumenta eficazmente o ferro dentro do fagossoma, outras bactérias aumentam a expressão do TFR. Adaptado de, (Cassat e Skaar, 2013).....27

Figura 10 - Figura 10 - A importância do ferro em distúrbios fisiopatológicos. Alguns destes incluem anemia e distúrbios relacionados com o excesso de ferro. Retirado de, (Gozzelino e Arosio, 2016).....34

Lista de Abreviaturas

AP – Complexo Proteico Adaptador (do inglês, *AP Adaptor Complex*)

Cp – Ceruloplasmina (do inglês, *Ceruloplasmin*)

DcyB – Citocromo B Duodenal (do inglês, *Duodenal Cytochrome B*)

Dcytb - Citocromo B Ferriredutase (do inglês, *Cytochrome B-like Ferrireductase*)

DIC – Coagulopatia Intravascular Disseminada (do inglês, *Disseminated Intravascular Coagulopathy*)

DMT – Transportador Metálico Divalente (do inglês, *Divalent Metal Transporter*)

DtxR – Repressor da toxina Diftérica (do inglês, *Difteric toxin Repressor*)

FPN - Ferroportina (do inglês, *ferroportin*)

HCP – Proteína Transportadora de Heme (do inglês, *Heme-Carrier Protein*)

Heph – Hephaestina (do inglês, *Hephaestin*)

HPT – Haptoglobina (do inglês, *Haptoglobin*)

HPX – Hemopexina (do inglês, *Hemopexin*)

HO1 – Heme Oxigenase (do inglês, *Heme Oxygenase*)

IFN – Interferão (do inglês, *Interferon*)

IL – Interleucina (do inglês, *Interleukin*)

IRE – Elementos que respondem ao ferro (do inglês, *Iron Responsive Elements*)

IRP – Proteínas Reguladoras do Ferro (do inglês, *Iron Regulatory Proteins*)

LIT – Transportador de ferro da *Leishmania* (do inglês, *Leishmania Iron Transporter 1*)

Myd88 – Gene 88 de Resposta de Diferenciação Primária Mielóide (do inglês, *Myeloid differentiation primary response gene 88*)

NTBI – Ferro Não Ligado à Transferrina (do inglês, *Non-Transferrin Bound Iron*)

Nramp – Proteína de resistência natural associada (do inglês, *Natural resistance-associated protein*)

PCBT – Proteína de ligação Poli r(C) (do inglês, *Poli r(C)-Binding Protein*)

PCFT – Transportador Folato conjugado com Protão (do inglês, *Proton Coupled Folate Transporter*)

RIP – Proteína que Interage com o Recetor (do inglês, *Receptor-Interacting Protein*)

RNA – Ácido Ribonucleico (do inglês, *Ribonucleic Acid*)

ROS – Espécies Reativas do Oxigénio (do inglês, *Reactive Oxygen Species*)

Steap – Antígenos Transmembranares da Próstata (do inglês, *Transmembrane Epithelial Antigen of the Prostate*)

TBI – Ferro Ligado à Transferrina (do inglês, *Transferrin-Bound Iron*)

Tf – Transferrina circundante (do inglês, *Circulatory Transferrin*)

TFR – Recetor da Transferrina (do inglês, *Transferrin Receptor*)

TLR – Recetor Tipo Ferramenta (do inglês, *toll-like Receptor*)

TNF – Fator de Necrose Tumoral (do Inglês, *Tumoral Necrosis Factor*)

TTP – Púrpura Trombocitopénica Trombótica (do inglês, *Thrombotic Thrombocytopenic Purpura*)

Zip – Transportadores de Zinco (do inglês, *Zrt-Irt-like proteins*)

1. Introdução

O ferro é o quarto metal mais abundante à superfície terrestre (Ong *et al.*, 2006). Este desempenha um papel fundamental na proliferação e sobrevivência celular pela sua atividade na regulação enzimática e reações oxidação-redução. Assim sendo, um défice de ferro pode levar a uma privação do crescimento celular ou morte celular. Um excesso de ferro também tem consequências negativas tais como gerar substâncias reativas, que podem agravar a inflamação (Andrews, 2000). Posto isto, o metabolismo do ferro deve ser altamente regulado para prevenir os efeitos adversos tanto do défice como do excesso de ferro (Yun e Vincelette, 2015).

Este elemento é considerado um metal de transição. Metais de transição são elementos que conseguem facilmente alterar o seu estado de oxidação. Devido a esta propriedade as proteínas começaram a incluir metais de transição já que desta forma ganham potencial catalítico e uma maior estabilidade proteica. Na altura dos pré-bióticos havia uma predominância do ferro já que o ião ferroso é solúvel em água na ausência de oxigénio. Mais tarde, a fotossíntese levou a um aumento dos níveis atmosféricos de oxigénio, resultando na precipitação de ferro (III) insolúvel (Silva-Gomes *et al.*, 2013). De facto, o Fe^{2+} é solúvel em condições anóxicas, mas torna-se insolúvel na presença de oxigénio, sendo oxidado a Fe^{3+} , o qual pode ser solubilizado por acidificação (Silva e Faustino, 2015).

Praticamente todas as espécies dos 6 reinos de vida necessitam de ferro (Emerson *et al.*, 2010). Algumas bactérias e *Archaea* têm a habilidade extrair energia de fontes que são inacessíveis para outros organismos. Por exemplo, em vez de adquirirem eletrões da água, algumas bactérias fotossintéticas oxidam o Fe^{2+} para promover a fixação de CO_2 (fotossíntese anioxigénica) enquanto outras transferem eletrões do carbono orgânico para o Fe^{3+} (respiração heterotrófica) ou obtêm energia pela oxidação do Fe^{2+} e reduzindo O_2 ou NO_3 (respiração litotrófica) (Bretschger *et al.*, 2007).

Os estados de oxidação mais comuns do ferro são Fe^{2+} (a forma reduzida, ião ferroso) e Fe^{3+} (a sua forma oxidada, ião férrico). Dependendo do ambiente do ligando ambas as formas podem adotar diferentes estados de transição. Assim sendo, este elemento tem um componente prostético extremamente atrativo para incorporação em proteínas como um biocatalisador ou transportador de eletrões durante os primórdios da evolução da vida (Ong *et al.*, 2006).

Existem dois mecanismos que permitem aos organismos adquirirem ferro. Um deles é pela acidificação do Fe^{3+} o qual é transportado, após este processo, através da membrana plasmática. O segundo é a síntese e secreção de sideróforos (pequenas moléculas orgânicas com afinidade para o Fe^{3+}) (Silva e Faustino, 2015).

O ferro desempenha um papel fundamental em vários processos fisiológicos tais como a fotossíntese, fixação de azoto, produção e consumo de hidrogénio e respiração. Ao incorporarem o ferro, as proteínas vão ter maior versatilidade, adotando o potencial redox, geometria e estado de transição mais apropriados para as suas funções (Andrews *et al.*, 2003).

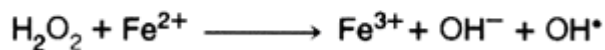


FIGURA 5 - Reação de Fenton. Na primeira reação, o ião férrico converte um anião superóxido em oxigénio, e fica reduzido no processo. Na segunda reação, o ião ferroso converte o radical peróxido de hidrogénio em radical hidroxilo e anião hidroxilo. O radical hidroxilo é altamente reativo e pode reagir com as principais moléculas biológicas. Retirado de, (Ong *et al.*, 2006).

A presença de ferro no organismo também acarreta inconvenientes tais como a produção de espécies tóxicas de oxigénio. Na sua forma reduzida, o ferro potencia a toxicidade do oxigénio já que converte o peróxido de hidrogénio em formas mais reativas como o radical hidroxilo,

pela reação de Fenton (Figura 1). Por outro lado, o superóxido favorece a reação de Fenton ao libertar ferro de moléculas que contêm ferro. A entrada de ferro nas células tem de ser rigorosamente controlada de forma a impedir um excesso de ferro intracelular, o que levaria a um aumento do *stress* oxidativo (Ong *et al.*, 2006).

O controlo da homeostasia do ferro é decisivo na interação hospedeiro-patógeno. Isto deve-se ao facto do ferro ser central em processos metabólicos tanto para células procarióticas como eucarióticas. Assim, o ferro afeta a proliferação microbiana e a patogenicidade impactando ainda significativamente a plasticidade celular imunitária e a resposta imunitária inata (Nairz *et al.*, 2014).

As bactérias patogénicas têm a capacidade de se propagar *in vivo* para estabelecer uma infeção, mesmo na ausência de ferro livre. A observação de que todas as bactérias patogénicas necessitam de ferro para se propagarem sugere que se devem adaptar a um ambiente extracelular sem ferro livre e desenvolver mecanismos para adquirir ferro ligado a proteínas. Alguns patógenos conseguem, ainda, migrar para dentro de células onde o ferro está mais disponível. Os seus genes de virulência podem ser induzidos pelo ambiente com baixo índice de ferro e (Ong *et al.*, 2006), o que tem sido extensivamente demonstrado com o patógeno humano oportunista, *Pseudomonas aeruginosa*, o qual emprega uma proteína da pele como um sensor de ferro para induzir a exotoxina citotóxica A e proteases extracelulares, sob condições de privação de ferro (Bullen *et al.*, 1978).

2. Metabolismo do Ferro

O metabolismo do ferro no humano é extremamente eficiente, já que só 0,5-1mg dos 4-5g de ferro total no organismo de adultos é perdido diariamente (Cassat e Skaar, 2013) devido a descamação e pequenos sangramentos (Recalcati *et al.*, 2012).

Como descrito pela reação de Fenton, o íão ferroso converte o radical peróxido de hidrogénio em radical hidroxilo e anião hidróxido. O radical hidroxilo, um dos oxidantes mais potentes encontrados no organismo, é responsável pelo ataque a proteínas, ácidos nucleicos e hidratos de carbono, podendo desencadear a apoptose celular (Park *et al.*, 1987). Assim sendo, o organismo desenvolveu mecanismos para prevenir a toxicidade do ferro na forma livre. Estes mecanismos são a ligação do ferro a proteínas/estruturas desde os processos de absorção de ferro proveniente da alimentação pelo duodeno, transporte na circulação, *uptake* celular e consumo, reciclagem pelos macrófagos e armazenamento no fígado (Silva e Faustino, 2015).

A homeostasia do ferro no organismo é regulada para garantir uma porção de ferro suficiente para as inúmeras funções essenciais em que o ferro está envolvido, mas evitando o seu excesso, o que levaria à formação de espécies reativas de oxigénio (ROS) e dano tecidual mediado pelo stress oxidativo (Recalcati *et al.*, 2012).

2.1. Absorção

A absorção de ferro ocorre do duodeno proximal, sendo a quantidade de ferro absorvida dependente da quantidade de ferro armazenado e da capacidade de armazenamento do organismo (Cassat e Skaar, 2013).

O ferro na dieta é classificado como ferro heme ou não-heme. O ferro heme é abundante na carne, como um componente das hemoproteínas, hemoglobina e mioglobina. O baixo pH do estômago na presença de enzimas proteolíticas é responsável pela libertação do

heme das hemoproteínas (Silva e Faustino, 2015). O ferro que está associado ao heme representa a maioria do ferro no nosso organismo e é necessário para o transporte de oxigénio na hemoglobina, armazenamento de oxigénio na mioglobina e transporte de eletrões nos citocromos durante a respiração anaeróbia (Johnson e Wessling-Resnick, 2012).

A maioria do ferro não-heme da dieta encontra-se na forma livre insolúvel Fe^{3+} ou como ião ferroso não ligado a proteínas. O Fe^{2+} pode ser diretamente absorvido pelos enterócitos duodenais. Assim, parte do Fe^{3+} é reduzido a Fe^{2+} pelo baixo pH do estômago na presença de ácido ascórbico (Sharp, 2010). O Fe^{3+} restante é reduzido em Fe^{2+} pela enzima *duodenal cytochrome B* (Dcytb) residente na superfície luminal do enterócito duodenal, e depois transferido para o citosol pelo *divalente metal transporter 1* (DMT1) (Kristiansen *et al.*, 2001).

O mecanismo responsável pelo *uptake* do heme ainda não é bem entendido, no entanto sabe-se que ocorre por endocitose mediada por recetores. A *heme-carrier protein 1* (HCP1) em conjunto com o *proton coupled folate transporter* (PCFT), tem sido identificada como importante neste processo. No entanto, tem uma baixa afinidade para o heme e está mais envolvida na absorção do folato (Laftah *et al.*, 2009). Uma vez no enterócito, o heme é quebrado pela enzima heme oxigenase 1 (HO1) e o ferro é libertado no estado férrico (Mckie *et al.*, 2001). A ferritina da dieta é também absorvida pelos enterócitos por endocitose mediada pelo *adaptor complex 2* (AP2) (San Martin *et al.*, 2008).

Uma vez libertado no citoplasma, o ferro é conduzido para a membrana basolateral do enterócito, ou armazenado em ferritina. A ferritina desempenha um papel crucial na absorção de ferro. De facto, em ratinhos foi demonstrado que, quando os níveis de ferritina são aumentados pela ausência do sistema IRE/IRP (sistema responsável pela ligação de proteínas a elementos sensíveis ao ferro), o ferro é essencialmente armazenado no enterócito em vez de ser entregue na circulação, independentemente do estado de ferro no organismo (Silva e Faustino, 2015).

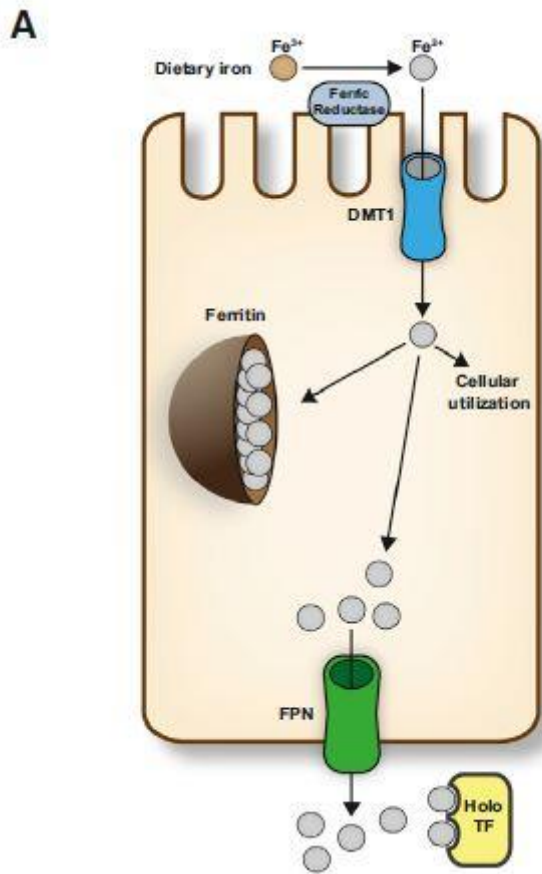
A exportação de ferro do enterócito para a circulação é crucial para a entrada de ferro no organismo. Os enterócitos expressam na sua membrana basolateral a proteína ferroportina (FPN1), o único exportador de ferro conhecido nos mamíferos. A FPN1 transporta Fe^{2+} para o lado extracelular da membrana basolateral, onde é oxidado pelas ferroxidases, hephaestina (Heph) e ceruloplasmina (Cp) para ser associada à transferrina (Tf) (Galy *et al.*, 2013).

A Tf é uma das maiores proteínas de ligação do ferro, sendo uma glicoproteína composta por 679 aminoácidos que circula no plasma (Gomme *et al.*, 2005). A Tf liga dois íons Fe^{3+} com alta afinidade de forma reversível e o *uptake* intracelular da Tf ligada ao ferro (Holo-Tf) é regulado pelo *transferrin receptor 1* (TFR1).

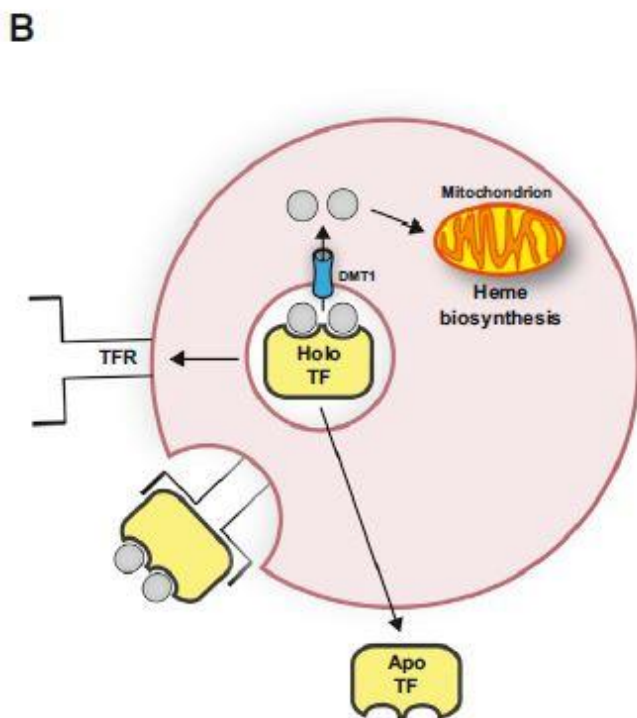
Após a ligação da Holo-Tf ao TFR1 na superfície da célula, a membrana plasmática é invaginada e forma um endossoma inicial. As bombas de prótons mantêm um ambiente ácido dentro do endossoma para induzir mudanças conformacionais da transferrina e dos TFR1, o que facilita a dissociação do ferro da transferrina (Cheng *et al.*, 2004). O Fe^{3+} livre no endossoma é reduzido a Fe^{2+} , e transferido de volta ao citosol via DMT1 (Fleming *et al.*, 1997).

O TFR1 é expresso por uma grande diversidade de células incluindo enterócitos e precursores eritroides que consomem a maioria do ferro para a síntese de hemoglobina (Kristiansen *et al.*, 2001).

A figura seguinte (Fig. 2) representa várias fases do metabolismo do ferro.

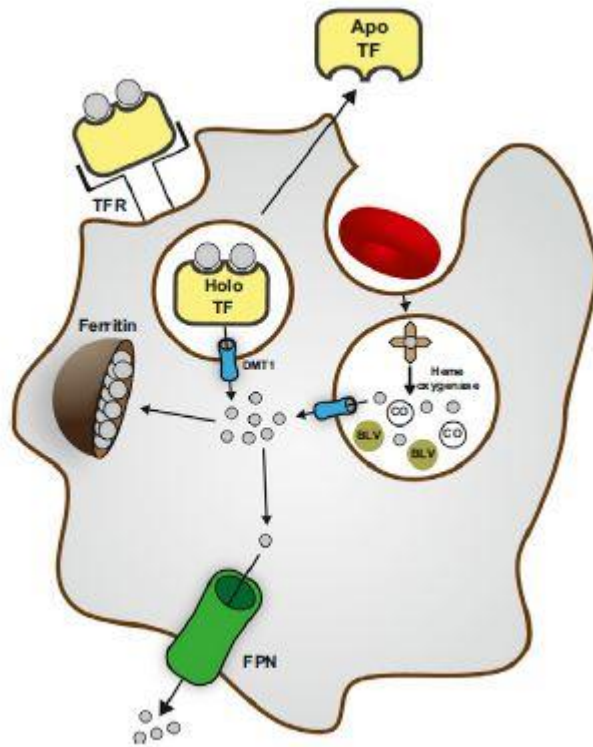


(A) Antes do transporte para os enterócitos duodenais, o ferro na dieta é reduzido pelas redutases férricas presentes na borda apical. O ião ferroso é transportado para a célula pelo DMT1, podendo vir a ser usado para processos celulares, armazenado em ferritina, ou sair da célula via ferroportina (FPN). O ferro extracelular é ligado, com alta afinidade, pela transferrina (Tf), convertendo-o em Holo-Tf.



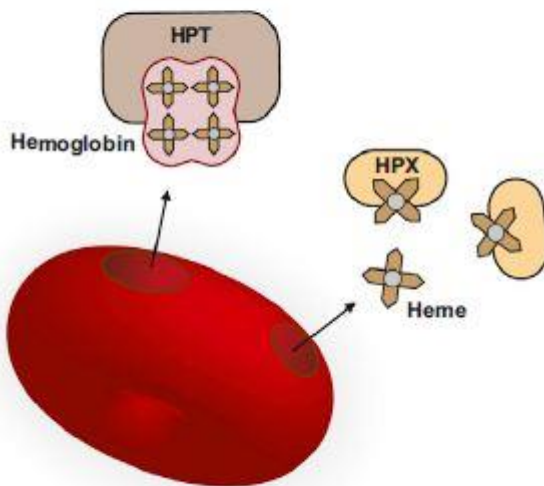
(B) Percursos eritroides adquirem ferro pelo recetor da transferrina (TFR); o ferro é então transportado para o citoplasma pelo DMT1. O ferro citoplasmático pode ser subsequentemente transportado para a mitocôndria para ser usado na síntese do heme.

C



(C) Os macrófagos adquirem ferro por endocitose mediada pelo TFR da Holo-Tf ou reciclando os eritrócitos senescentes. A HO-1 catalisa a degradação do ferro a heme, monóxido de carbono e biliverdina, depois do qual o ferro é transportado para o citoplasma pelo DMT1. O ferro citoplasmático pode ser usado para processos celulares, armazenado em ferritina, ou transportado para fora do macrófago pela FPN.

D



(D) A hemoglobina ou heme libertado após a lise de eritrócitos é avidamente retirada pela haptoglobina (HPT) ou hemopexina (HPX), respetivamente.

Figura 2 – Metabolismo do ferro. Adaptado de, (Cassat e Skaar, 2013).

O ferro não-heme está maioritariamente presente no organismo na sua forma oxidada Fe^{3+} . A segunda maior porção de ferro no organismo está na forma não-heme armazenado em ferritina. Quando é necessário, pode ser libertado na forma de ferritina para preencher as necessidades de transporte de oxigénio e metabolismo energético. Este mecanismo limita o excesso de ferro livre que de outra forma ia gerar espécies reativas de oxigénio (Theil, 2011).

Também podem ser encontradas no plasma algum ferro não ligado à Tf (*non-transferrin bound iron*) (NTBI). Tem sido sugerido que a maior forma de NTBI é constituída por Fe^{3+} ligado ao citrato. No entanto outros transportadores têm sido descritos, nomeadamente o acetato (Grootveld *et al.*, 1989). Os transportadores envolvidos no *uptake* celular do NTBI incluem os transportadores de zinco *Zrt-Irt-like proteins* (Zip), nomeadamente o Zip 8 e 14 (Liuzzi *et al.*, 2006), (Ji e Kosman, 2015).

2.2. Hepcidina

A hepcidina é uma proteína maioritariamente de origem hepática, com 25 aminoácidos e é considerada uma proteína de fase aguda (proteínas cuja concentração aumenta em resposta à inflamação). Esta proteína regula as concentrações plasmáticas de ferro tendo, assim, um papel fundamental no metabolismo de ferro e também na inflamação e resposta imune à infeção (Kali *et al.*, 2015). O alvo molecular da hepcidina é o exportador celular de ferro, a ferroportina (Nemeth *et al.*, 2004).

A ligação da hepcidina à ferroportina apresenta duas consequências imediatas: a internalização e degradação lisossomal do transportador ferroportina e a diminuição da saída de ferro dos enterócitos duodenais e macrófagos, resultando em hipoferremia (Johnson e Wessling-Resnick, 2012). Esta retenção de ferro sistémico permite a diminuição do ferro circulante que de outra forma estaria disponível a patogénios extracelulares (De Domenico *et al.*, 2010). A fig. 3 representa o mecanismo de homeostasia do ferro e sua regulação pela hepcidina.

A deficiência na ligação hepcidina/ferroportina é responsável pelo impacto da suscetibilidade a várias bactérias e patógenos virais. Doenças hereditárias de excesso de ferro como a hemocromatose do tipo I-III, são caracterizadas por baixos níveis de hepcidina, uma expressão exagerada de ferroportina, depleção de ferro nos macrófagos e hiperferremia (Pietrangelo, 2006). O tipo IV, ou doença da ferroportina, tem algumas características comuns com os tipos I-III e resulta de mutações da ferroportina. Tem sido postulado que um excesso de ferro circulante em doentes com hemocromatose resulta numa maior suscetibilidade a infeções por *Vibrio vulnificus*, *Yersinia enterocolitica* e *Escherichia coli* (Khan et al., 2007); no entanto, a hemocromatose parece conferir alguma resistência a infeção por patógenos intracelulares, possivelmente devido a deficiência de ferro no interior de macrófagos. Por exemplo, níveis aumentados de ferroportina levam a um menor crescimento de *Salmonella enterica* intracelular, *Chlamydia trachomatis*, e *Legionella pneumophila* (Paradkar et al., 2008).

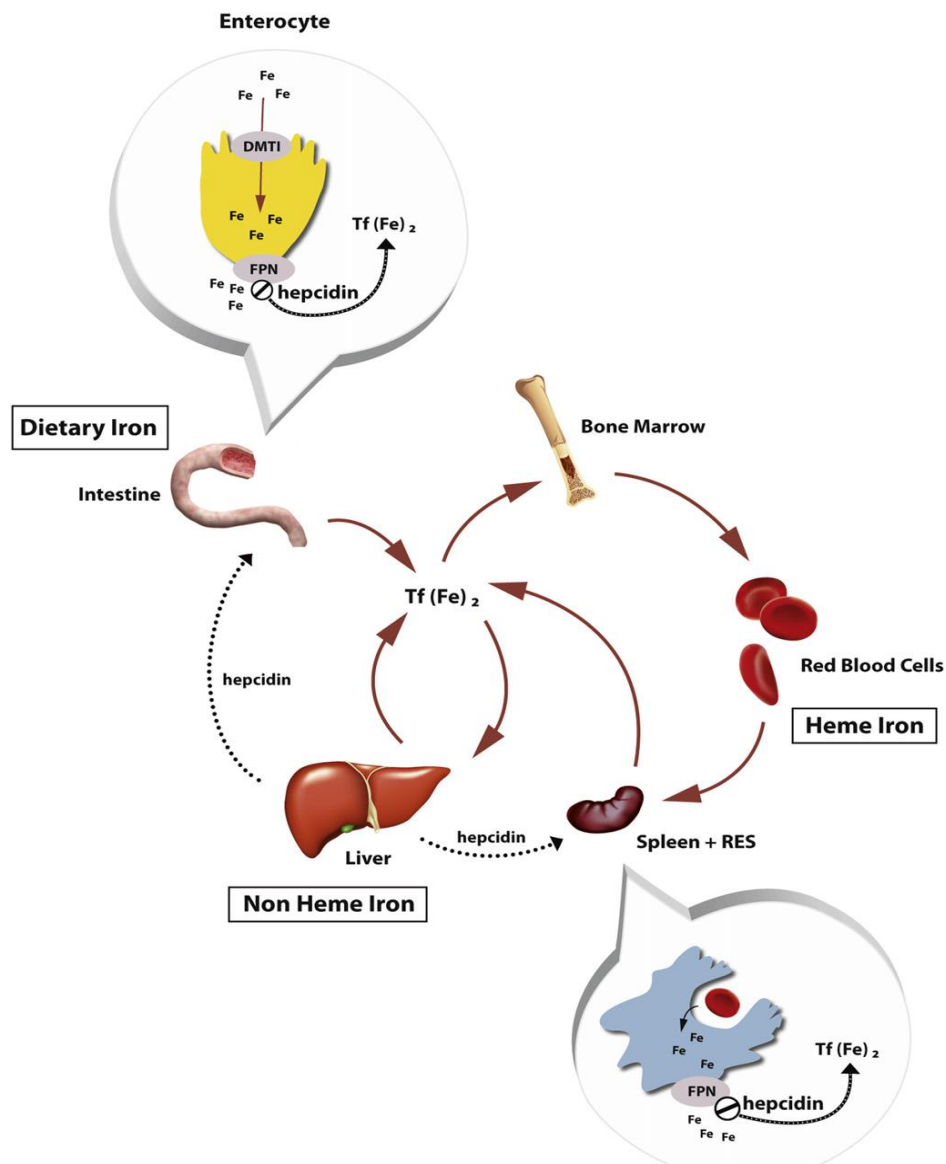


Figura 6 - Homeostasia de ferro e regulação pela hepcidina. O ferro da dieta é conduzido pelos enterócitos intestinais através uma rede de transporte que envolve o importador apical DMT1 e o exportador basolateral ferroportina. O ferro circula ligado à transferrina e é entregue às células por endocitose dos recetores da transferrina. O ferro em excesso é capturado pelo fígado e armazenado em ferritina (ferro não-heme) enquanto que a maioria do ferro é utilizado para a produção de hemoglobina (ferro heme). As células vermelhas senescentes são fagocitadas por macrófagos no baço e sistema reticuloendotelial e o ferro é reciclado para o sangue via ferroportina. A entrada de ferro na circulação é controlada pela hepcidina que é a hormona reguladora secretada pelo fígado. A hepcidina liga-se à ferroportina, causando a sua internalização e degradação. Adaptado de, (Johnson e Wessling-Resnick, 2012).

2.3. Tráfico e Armazenamento Celular

A maioria do ferro é utilizada pelos eritroblastos na síntese de hemoglobina. De facto, cerca de 70% da percentagem de ferro no organismo é encontrado como ferro heme em eritrócitos (Andrews, 2000).

O ferro pode ser armazenado em proteínas como a ferritina, como já foi referido, e em hemossiderina (ferritina degradada) quando aquele se encontra em concentrações elevadas. Em concentrações elevadas o ferro citoplasmático ativa o sistema IRP/IRE, que é um sistema que regula a tradução das diferentes proteínas ligadas ao metabolismo do ferro, como a ferritina e a transferrina entre outros. A regulação por este sistema funciona da seguinte forma: em baixas concentrações intracelulares de ferro o IRP 1 e 2 encontram-se livres e ligam-se ao IRE (estrutura em forma de “gancho de cabelo” que se encontra ligada ao RNA mensageiro). Ao se ligarem a este, a tradução do RNA é inibida e as enzimas responsáveis pelo armazenamento do ferro não são produzidas. Por outro lado, a ligação IRP/IRE estabiliza RNA mensageiro que codifica o recetor da transferrina, o que resulta numa maior expressão deste, o que aumenta o ferro livre no citoplasma. Em concentrações de ferro elevado este degrada a IRP2 e liga-se, sob a forma de agrupamento de ferro-enxofre (Fe-S) à IRP1 convertendo-a em aconitase (enzima essencial no ciclo de krebs). Assim, o IRE permite a tradução da ferritina (Wang *et al.*, 2008).

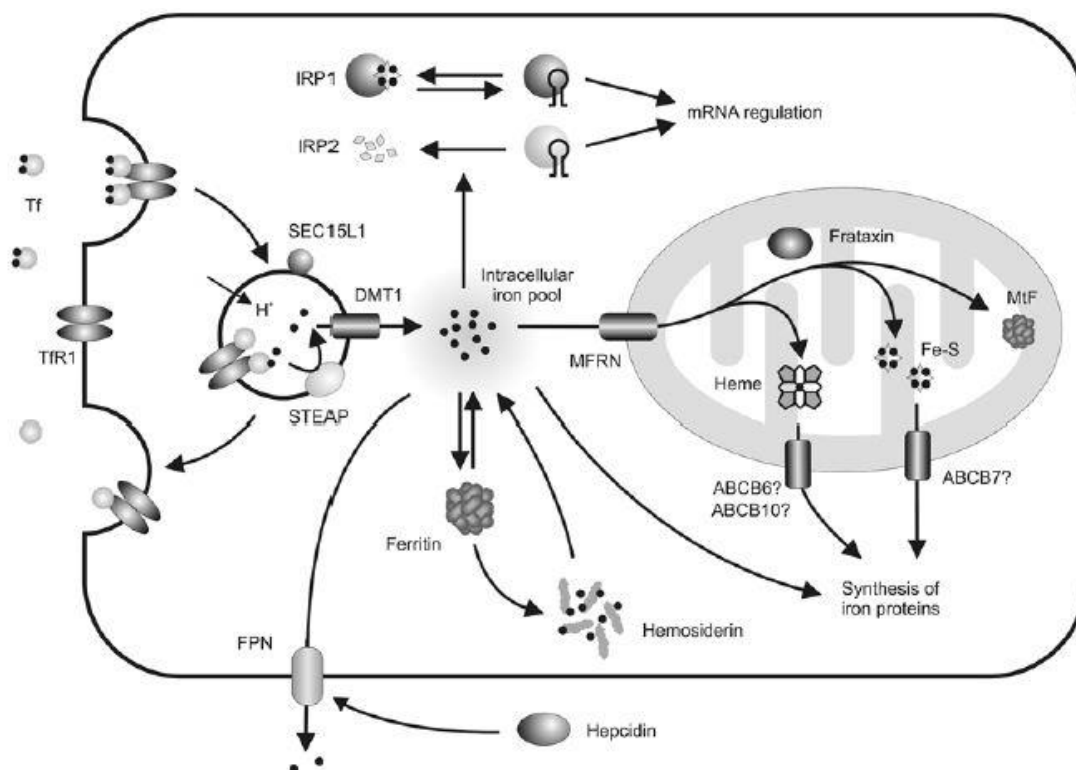


FIGURA 4 - Modelo genérico do tráfego de ferro dentro de uma célula. Após entrar na célula o ferro pode ser armazenado na ferritina ou, quando está em elevadas concentrações, em hemosiderina. O ferro também é regulador do sistema IRP/IRE que controla o tráfego do metal dentro da célula. Maior parte do ferro move-se para a mitocôndria onde origina os grupos Fe-S e os grupos heme que são utilizados para sintetizar várias proteínas celulares. Retirado de, (Nelson, 2017).

A mitocôndria é o principal organelo humano responsável por manter a homeostasia de ferro celular. Depois de ser libertado nos endossomas, o ferro é transportado para este organelo. A mitocôndria pode adquirir ferro diretamente na *pool* de Fe²⁺ no citosol ou pelo mecanismo ‘*kiss and run*’ (fusão e fissão). O último foi observado em eritoblastos, células com maior exigência de ferro para a síntese de hemoglobina (Sheftel *et al.*, 2007). O transporte do ferro através da membrana interna mitocondrial é mediado pelas mitoferrinas 1 e 2 (Shaw *et al.*, 2006). Uma vez na mitocôndria, ocorre a biossíntese dos agrupamentos de Fe-S, que ocorre por um processo complexo envolvendo um conjunto diverso de enzimas (Francisco *et al.*, 2008). Os agrupamentos Fe-S são co-fatores de diversas enzimas, como ferredoxinas, a aconitase e os complexos I, II e III da fosforilação

oxidativa complexos mitocondriais necessários para a obtenção de adenosina trifosfato (a energia da célula) (Levi e Rovida, 2009).

O ferro interfere também no ciclo de Krebs. Em baixas concentrações de ferro não existe tanta aconitase ativa disponível e, a atividade das enzimas citrato sintetase, isocitrato desidrogenase e succinato desidrogenase também se encontra diminuída. A baixa disponibilidade de NADH também afeta o ciclo. Para combater isto o organismo procura a produção de energia pela via anaeróbica com a formação de lactato (Fig. 5).

Os grupos heme são formados também na mitocôndria e provêm do ácido aminolevulínico que origina a porfirina. Aqui a enzima ferroquelatase junta o ferro e origina o grupo heme. É importante referir que o grupo heme não servem apenas para a formação de hemoglobina e mioglobina para o transporte de oxigênio, mas também participam na constituição dos citocromos, que têm como função o transporte de elétrons, e da catálise, que catalisa a dismutação do peróxido de hidrogênio. Devido à sua importância todas as células produzem grupos heme (Liu e Theil, 2005).

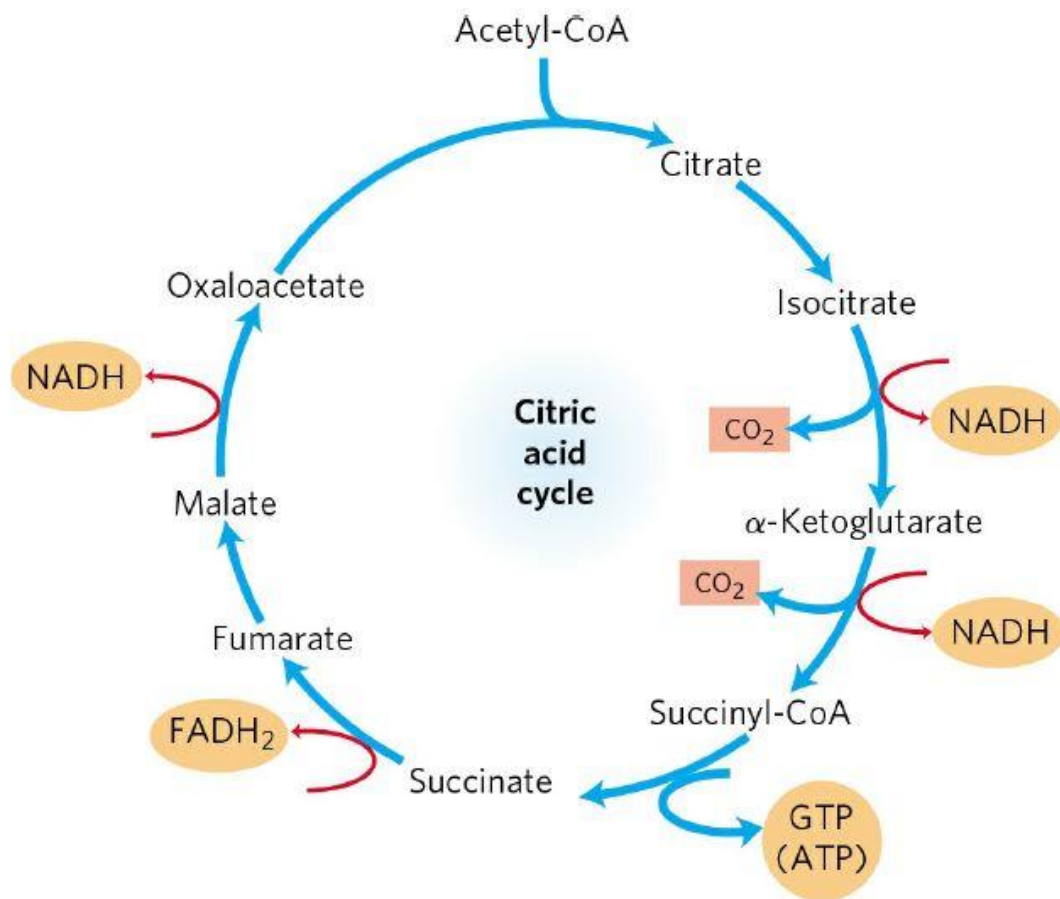


FIGURA 7 - Ciclo de Krebs. O ferro é necessário para o correto funcionamento da citrato sintetase (converte a acetyl-coa em citrato) afeta também a conversão do citrato em isocitrato pela aconitase, influencia a conversão do isocitrato em α -cetoglutarato pela isocitrato-desidrogenase e a conversão do succinato em fumarato pela succinato desidrogenase. Indiretamente devido aos efeitos na cadeia transportadora de elétrons há menos NADH que vai também afetar a as enzimas que requerem este composto. Devido a isto o organismo requer a obtenção de energia pela via anaeróbica, com a formação de lactato. Retirado de, (Nelson, 2017).

2.4. Reciclagem pelos macrófagos

Os macrófagos desempenham um papel central no estabelecimento de um equilíbrio entre um excesso e um déficit de ferro.

Os eritrócitos senescentes são fagocitados pelos macrófagos no baço. Uma vez no fagolisossoma, o eritrócito é sujeito às ROS e enzimas hidrolíticas que promovem a libertação do heme para o fluido vacuolar. Depois, a HO1 juntamente com o O_2 quebra o

heme em ferro, monóxido de carbono e biliverdina (Fig.2) (Poss e Tonegawa, 1997). Os macrófagos também capturam a hemoglobina libertada para o plasma pela ruptura de eritrócitos. A hemoglobina plasmática forma um complexo com a haptoglobina, que é reconhecida pelo recetor membranar CD163 do do macrófago (Kristiansen *et al.*, 2001).

O transporte de ferro dentro do macrófago envolve (i) o transporte de ferro para o citoplasma através da membrana do fagossoma pelos transportadores DMT1 e a Natural resistance-associated protein 1 (Nramp1) (Soe-Lin *et al.*, 2009); (Friis *et al.*) o transporte através do citoplasma mediado pela *chaperone polir(C)-binding protein* (PCBP) (Shi *et al.*, 2008); e (iii) a entrega do Fe²⁺ à FPN1 para a exportação celular, seguido pela redução pelo glicosilfosfatidinositol ligado Gpi-Cp e consequente ligação à Tf no plasma (Harris *et al.*, 1999). O ferro pode ainda ser armazenado no macrófago na forma de ferritina (Chung e Wessling-Resnick, 2003).

Apesar da existência de uma rede altamente organizada de proteínas que mantêm a homeostasia do ferro no organismo, vários fatores genéticos, fisiológicos ou ambientais podem levar ao desenvolvimento de estados de défice ou excesso de ferro.

2.5. Défice de Ferro

O défice de ferro pode resultar de diversas causas, incluindo perda de sangue, deficiência nutricional devido à inadequada entrada de ferro, e inibição da absorção de ferro por certos alimentos e/ou componentes tais como cálcio, fitatos, taninos e inibidores da bomba de prótons. Doenças que afetam o revestimento intestinal (por exemplo a doença de Crohn) também podem afetar a absorção de ferro, levando a um défice de ferro (Camaschella, 2015a). Um défice de ferro afeta inicialmente o ferro armazenado no organismo; uma diminuição do ferro armazenado pode resultar em sintomas não específicos tais como: tonturas, fraqueza e fadiga. Ainda, um défice de ferro pode ter sérias consequências obstétricas tanto para a mãe como para o feto. De facto, anemia em bebés e crianças foi associada a atraso no desenvolvimento psicomotor e a défice cognitivo devido a um neurodesenvolvimento anormal (Tsai *et al.*, 2014). Durante uma

infecção e/ou inflamação, o organismo tende a absorver menos ferro de forma a privar as bactérias invasoras do ferro que elas necessitam para prosperar. O *stress* oxidativo não resulta necessariamente em deficiência de ferro, mas aparece muitas vezes como um cofator, já que muitas vezes as condições que levam a um déficit de ferro são as mesmas que levam ao *stress* oxidativo (Allen, 2000).

O *stress* oxidativo é uma característica comum em várias doenças crônicas associados a um déficit de ferro a longo prazo (Schmidt, 2015). Adicionalmente, as condições hipóxicas induzidas pela anemia podem piorar o *stress* oxidativo via mudanças pro-oxidantes, incluindo alterações no metabolismo celular, aumento do metabolismo da catecolamina e ativação leucocitária, levando a um aumento da produção de radicais livres (Cassat e Skaar, 2013). Para gerir um déficit de ferro, suplementação de ferro deve ser sugerida de modo a construir uma reserva de ferro para a produção de hemoglobina; no entanto, é muito importante gerir as condições subjacentes que podem negar os benefícios da terapia da suplementação de ferro (Grune *et al.*, 2000).

2.6. Excesso de Ferro

Durante um excesso de ferro é observada uma deposição deste metal no fígado, coração, e também noutros tecidos (Andrews, 2000). Quando o excesso de ferro é desencadeado pela absorção nutricional, o ferro acumula-se nas células parenquimais do fígado. Se a origem do excesso de ferro é associada com uma libertação descontrolada dos macrófagos, o ferro acumula-se no nível mesenquimal. Aqui, é observada uma deposição pontual do ferro nos hepatócitos que rodeiam os macrófagos (Clark, 2008).

O excesso de ferro também está associado às ROS já que uma abundância de ferro num ambiente rico em oxigénio apresenta condições favoráveis à ocorrência da reação de Fenton, levando à formação de ROS por essa via. No entanto, também pode ocorrer morte por peroxidação lipídica motivada por excesso de ferro (ferroptose) (Xie *et al.*, 2016).

O ferro e as ROS são mediadores importantes da morte celular em muitos organismos e em muitos processos patológicos que envolvem uma alteração na homeostasia do ferro. Estudos têm demonstrado que um excesso de ferro está associado a um aumento da apoptose, necrose e autofagia, embora por diferentes mecanismos (Dixon e Stockwell, 2014). As ROS mitocondriais são um importante fator desencadeador da apoptose não induzida, que resulta na peroxidação de cardiolipinas e na liberação do citocromo c para ativar a caspase-3/7 (Fortes *et al.*, 2012). Por outro lado, o heme induz a necrose programada em macrófagos via dois mecanismos sinérgicos: (1) o heme induz a expressão de TNF-alfa (*tumor necrosis factor-alpha*); via ligação ao TLR4 (*toll-like receptor 4*)/Myd88 (Myeloid differentiation primary response gene 88); e (2) o TNF ativa o RIP (*receptor-interacting protein*) das kinases 1 e 3, iniciando assim a necrose (Lunova *et al.*, 2014). Ratinhos hepcidina-*knockout* alimentados com uma dieta rica em ferro, desenvolvem um excesso de ferro lisossomal nos hepatócitos, levando à autofagia (Dixon e Stockwell, 2014).

3. Imunidade e infecção

3.1. O ferro e a resposta imunitária

O ferro é essencial para a proliferação da maior parte dos patogênicos microbianos, daí o sistema imunitário desenvolveu formas de privar os diferentes microrganismos deste. Aquando uma infecção o fígado, assim como os macrófagos e neutrófilos, são estimulados a produzir hepcidina (Drakesmith e Prentice, 2012), (Peyssonnaud *et al.*, 2006), impedindo a passagem de ferro para a circulação, por inibição da FPN. Também o TNF- α e o interferão γ (IFN- γ) impedem um aumento de ferro circulante: o TNF- α inibe a ação do DMT1 responsável pela absorção do ferro nas células epiteliais do intestino, e em conjunto com a Interleucina (IL) 1 e 6 estimula a produção de ferritina. O IFN- γ inibe a FPN (Nairz *et al.*, 2010), (Weiss, 2005). Nos macrófagos existe a proteína Nramp1, situada na membrana do fagossoma e tem como função remover o ferro do interior deste, o que causa que microrganismos intracelulares, como o *M. tuberculosis* não se consigam reproduzir com tanta facilidade (Cellier *et al.*, 2007).

Em situação de infecção o organismo produz proteínas que competem diretamente com os microrganismos para o ferro. Uma delas é a lactoferrina que é expressa nas secreções mucosas dos epitélios respiratório e gastrointestinal (Legrand e Mazurier, 2010) bem como nas granulações dos neutrófilos os quais ao chegar ao local da infecção desgranulam libertando a lactoferrina (Cherayil, 2011).

A Siderocalina, também chamada de lipocalina-2 ou 24p3, é uma proteína excretada que tem comprovado efeitos antimicrobianos baseados na privação do ferro (Clifton *et al.*, 2009). É produzida por macrófagos, neutrófilos e diferentes células epiteliais e é regulada por estímulos infecciosos e inflamatórios. A siderocalina atua sequestrando enterobactina, uma proteína bacteriana que funciona como sideróforo (proteínas orgânicas com a capacidade de captar ferro). Foi demonstrada inibição do crescimento bacteriano *in vitro* pela siderocalina e modelos de ratinhos *knock-out* que não exprimem siderocalina apresentam maior suscetibilidade à infecção por *E. coli* e *Klebsiella pneumoniae* (Goetz *et*

al., 2002),(Chan *et al.*, 2009). A siderocalina consegue também reagir com a carboximicobactina produzida pelo *M. tuberculosis* e outras micobactérias estando assim envolvida na inibição da replicação do *M. tuberculosis in vitro* e *in vivo* (Holmes *et al.*, 2005),(Saiga *et al.*, 2008).

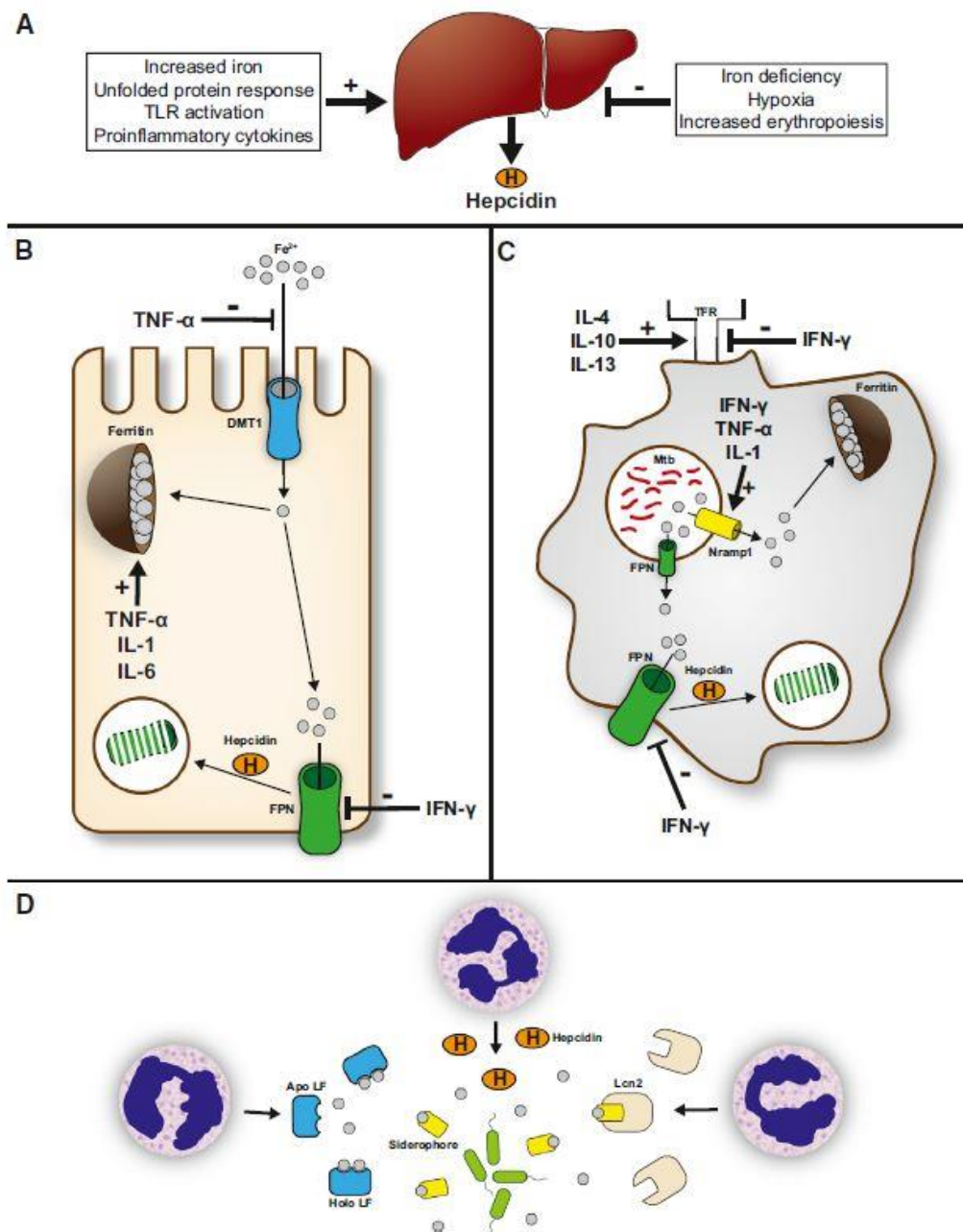


FIGURA 8 – Controlo do ferro durante uma infeção e inflamação. **A** - O fígado é estimulado a produzir hepcidina (a laranja com o h); **B** – nas células do intestino o TNF- α vai inibir o Dmt1 um canal que permite a absorção do ferro pelos enterócitos. O TNF- α , a IL-1 e a IL-6 vão potenciar a ação da ferritina de forma a que esta acumule mais ferro. O INF- γ a ferroportina (FPN), vai inibir o canal responsável pela passagem do ferro para a corrente sanguínea e a hepcidina vai promover a destruição destes canais; **C** – dentro dos macrófagos a IL-4, IL-10 e a IL-13 ativam o recetor da transferrina de forma a aumentar o uptake desta no local da infeção, e o IFN- γ tem como função inibir o recetor da transferrina. A FPN nestas células é inibida pelo IFN- γ e pela hepcidina. Para limitar os níveis de ferro do fagossoma, onde pode residir microrganismos intracelulares, é necessária a ação da FPN e do canal NRAMP1 o qual que é estimulado pelo IFN- γ , o TNF- α e a IL-1. Estes canais bombeiam ferro do fagossoma para o citoplasma dos macrófagos; **D** – Para além de produzirem hepcidina, os neutrófilos desgranulam e libertam lactoferrina que capta ferro livre no local da infeção (a azul na figura) e também libertam siderocalina (a bege na imagem) a siderocalina é altamente importante pois possui a capacidade de capturar sideróforos (moléculas orgânicas com alta afinidade para o ferro, a amarelo na imagem). Todos estes mecanismos têm como função fazer com que o ferro não seja absorvido e limita o acesso do ferro aos microrganismos (Cassat e Skaar, 2013)

3.2. O Ferro e os microrganismos

Devido aos complexos mecanismos do sistema imune que dificultam o resgate do ferro pelos microrganismos, estes desenvolveram formas de contrariar estes mecanismos, com vista ao estabelecimento de infecção. Estas formas dependem se o microrganismo adota um estilo de vida intra- ou extracelular. Os microrganismos usam a combinação de vários sistemas diferentes para satisfazer as suas necessidades nutritivas de ferro. Um dos sistemas é utilizado pelo *Borrelia burgdorferi* e consiste no uso do manganês em vez do ferro, para as suas metaloenzimas evitando assim a aquisição de ferro (Posey e Gherardini, 2000). Os outros métodos também utilizados são os sideróforos que são produzidos e segregados para o meio extracelular e ligam-se com bastante afinidade ao ferro férrico. Uma vez dentro do microrganismo o sideróforo é separado do ferro por dois métodos: o sideróforo é degradado por um processo de degradação enzimática ou pela redução do ião férrico a ião ferroso o que destabiliza o complexo ferro-sideróforo. Uma das vantagens do método dos sideróforos é que os microrganismos podem usar xenosideróforos, ou seja, sideróforos não produzidos pelo microrganismo, como é o caso do *Vibrio vulnificus*, o *Staphylococcus aureus* e *Yersinia enterocolitica*. Estes são capazes de utilizar a desferoxamina (um sideróforo humano) como fonte de ferro, e já foi provado que tratamentos de hemocromatose com desferoxamina aumentam a suscetibilidade do doente à infecção (Kim *et al.*, 2007).

A regulação da produção de sideróforos ocorre pelo regulador do *uptake* férrico – Fur e repressor da toxina diftérica (DtxR). Estes dois reprimem a transcrição de sideróforos em ambientes com muito ferro, mas em ambientes com baixo teor de ferro a repressão dos genes é aliviada e os sideróforos são produzidos como forma de resgatar o pouco ferro que existe no meio extracelular. Os sideróforos são fatores de virulência de vários patogénios como *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Legionella pneumophila*, *Bacillus anthracis*, entre outros (Cassat e Skaar, 2012). Devido à capacidade dos sideróforos em manipular a homeostasia do ferro no hospedeiro o sistema imune desenvolveu sistemas para os neutralizar como a siderocolina, descrita acima. Para impedir a ação da siderocalina certos microrganismos recorrem à produção de sideróforos

stealth, ou seja, com alterações estruturais que não possuem afinidade para a siderocalina. *Bacillus anthracis* e *Salmonella typhimurium* são exemplos de microorganismos capazes de produção de macrófagos *stealth* (Abergel et al., 2006),(Raffatellu et al., 2009).

Devido ao facto da maioria do ferro no Homem se encontrar associado à hemoglobina, os patogénicos desenvolveram também métodos para libertar a hemoglobina dos eritrócitos e utilizar os grupos heme como nutriente. Contudo a degradação do grupo heme pode induzir morte celular e devido a isso os microorganismos têm de equilibrar a absorção do heme com a sua destoxificação, sendo que os requisitos da heme são satisfeitos pela produção de heme endógeno ou pela aquisição de heme exógeno ou uma combinação destes dois métodos. Alguns microorganismos como o *Haemophilus influenzae*, são incapazes de produzir grupos heme e devido a isso conseguem heme exógena (Cassat e Skaar, 2013). No que toca à absorção de grupos heme existem dois grandes métodos: sistemas de *uptake* diretos do grupo heme e sistemas dependentes do hemofóricos, ou seja, de proteínas microbianas com afinidade para o grupo heme. Ambos estes sistemas incluem transportadores de membrana e componentes citoplasmáticos específicos permitindo o aproveitamento de ferro (Anzaldi e Skaar, 2010).

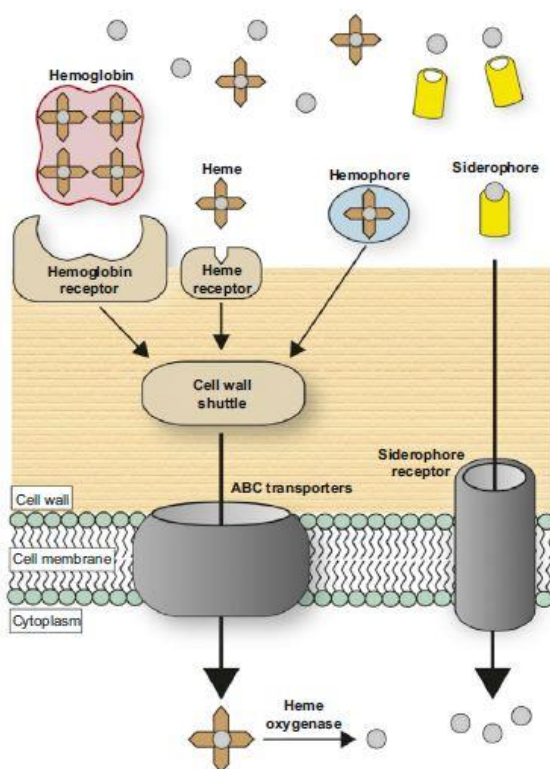


FIGURA 9 - Organismos de Gram positivo obtêm o ferro através dos recetores de grupos heme ou hemoglobina, ou com hemóforos. Os grupos heme são então enviados pela parede celular e um transportador ABC encarrega-se de enviar os grupos heme para o citoplasma, aqui as hemoxigenases degradam o grupo heme e libertam o ferro. Em alternativa o ferro pode ser obtido através de sideróforos previamente libertados, utilizando recetores específicos que permitem a reentrada dos sideróforos na bactéria. Adaptado de, (Cassat e Skaar, 2013).

descrito é o que é utilizado pelo *S. aureus*, sendo que outras bactérias Gram-positivas possuem homólogos a este sistema (Cassat e Skaar, 2013),(Skaar *et al.*, 2006),(Zapotoczna *et al.*, 2012).

Bactérias Gram-positivo – tipicamente estes microrganismos fazem a absorção dos grupos heme diretamente, embora no *Bacillus anthracis* foi descrito um sistema dependente de hemofóricos (Maresso *et al.*, 2008). As bactérias de Gram-positivo codificam um sistema próprio para a absorção do ferro (proteínas Isd). Este sistema é codificado por dez genes em cinco operões diferentes. IsdB e IsdH são recetores na membrana que têm afinidade para a hemoglobina respetivamente (Dryla *et al.*, 2003). O IsdA e IsdC transportam o heme pela parede celular até chegar a um transportador ABC (cassete ligante de ATP sendo dependente deste) composto pelos IsdD, IsdE e IsdF (Grigg *et al.*, 2007). Este transportador é responsável pela passagem dos grupos heme para dentro do citoplasma, e aqui, o IsdI e o IsdG que como são heme oxigenases, encarregam-se de libertar o ferro do grupo heme (Figura 8) (Reniere e Skaar, 2008),(Skaar *et al.*, 2004). O sistema

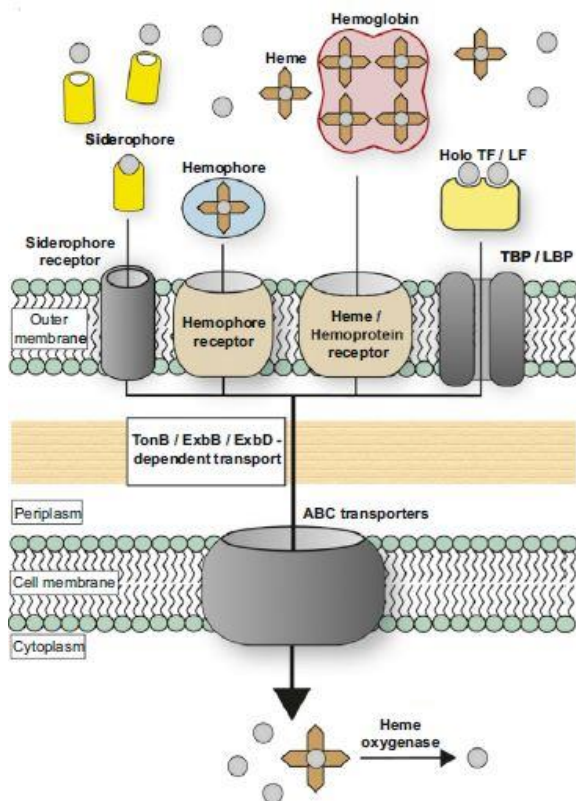


FIGURA 10 – Organismos Gram- possuem também sideróforos assim como os recetores de heme e compostos associados ao ferro. Alguns organismos Gram- possuem recetores(TBP/LBP) da transferrina(TF) e da lactoferrina(Mckie *et al.*) que permite à bactéria obter ferro por esta maneira. A passagem pela parede celular requer energia que é fornecida pelo Tonb/ExbB/ExbD e depois é utilizado um transportador ATP que se encarrega de enviar os compostos com ferro para o citoplasma. Adaptado de, (Cassat e Skaar, 2013).

Bactérias de Gram-negativo – as bactérias Gram-negativas podem também obter ferro pela absorção do grupo heme diretamente ou por sistemas dependentes de hemofóricos ou por ambas como acontece na *Pseudomonas aeruginosa*. Nas bactérias de Gram-negativo o sistema de *uptake* do grupo heme é codificado pelo operão Fur, onde o *phurR* codifica o recetor do heme na membrana externa e o *phurT* codifica o transportador periplásmico. Para o transporte da membrana é utilizado um transportador ABC composto por *phuU*,

phuV e *phuW* que transportam o grupo heme para o citoplasma, após isso o *phuS* é responsável pela obtenção do ferro (Tong e Guo, 2009). O processo de transporte é dependente de energia e para isso estes microrganismos usam o sistema TonB/ExbB/ExbD (sistema localizado na membrana plasmática. O ExB e ExbD utilizam o potencial eletroquímico da membrana para produzir uma mudança conformacional no recetor de membrana externa quando o sideróforo se liga a este. Isto leva à translocação do sideróforo contendo ferro para o periplasma.) que também é responsável pelo transporte dos complexos sideróforo-ferro pela parede celular. Outras bactérias de Gram-negativo possuem sistemas similares de transporte (Figura 8) (Anzaldi e Skaar, 2010).

O uso de sideróforos permite às bactérias competir com glicoproteínas como a transferrina e a lactoferrina. Contudo, alguns microrganismos desenvolveram mecanismos que conseguem diretamente obter transferrina e lactoferrina que estejam ligadas a ferro. *Neisseria meningitidis* é o exemplo de um microrganismo capaz de fazer a absorção de transferrina e de lactoferrina. Sendo um patógeno específico do Homem, tem mais afinidade para a transferrina e lactoferrina humana (Schryvers e Morris, 1988). Os recetores da transferrina consistem em duas proteínas TbpA e TbpB que apenas são expressas em ambientes com pouco ferro e são controladas pelo sistema Fur. Os transportadores da lactoferrina são LbpA e LbpB. No transporte de lactoferrina e transferrina é um processo que necessita de energia e daí ser também utilizado o sistema TonB/ExbB/ExbD. O TonB facilita a alteração da conformação da TbpA que permite a libertação de ferro da transferrina e o seu transporte através do periplasma (Noinaj *et al.*, 2012).

São apresentados de seguida alguns mecanismos de obtenção de ferro por microrganismos particulares.

3.2.1. *M. tuberculosis*

As bactérias intracelulares necessitam de se introduzir dentro de uma célula do hospedeiro para se conseguir então reproduzir. Uma das células alvo mais utilizadas é o macrófago porque assim os patogénicos conseguem escapar ao sistema imune. Para além disso, como também são células essenciais para a reciclagem do ferro, poderão aí com maior facilidade obter ferro (Nairz *et al.*, 2010). Uma das bactérias intracelulares mais conhecidas é o *M. tuberculosis* a qual utiliza diferentes estratégias para capturar ferro (Figura 10) similar às presentes nas bactérias extracelulares. As micobactérias produzem sideróforos chamados micobactinas que representam um passo importante na replicação da *M. tuberculosis* visto que problemas na síntese das micobactinas impedem o crescimento de *M. tuberculosis* (De Voss *et al.*, 2000). A *M. tuberculosis* pode também obter ferro endocitando Tf ou obter ferro disperso no citoplasma (Olahanmi *et al.*, 2002). A aquisição do ferro citoplasmático é facilitada através da habilidade das micobactinas

se difundirem do fagossoma, quelatar o ferro e depois voltar ao fagossoma através de gotas lipídicas (Luo *et al.*, 2005). Para contrabalançar estes sistemas o sistema imune produz IFN- γ que estimula os macrófagos a reduzir a expressão dos recetores da transferrina o que reduz a concentração de ferro de futuros endossomas (Olahanmi *et al.*, 2002). Além disso a FPN rapidamente se localiza nos fagossomas contendo a *M. tuberculosis*, o que resulta da saída do ferro destas estruturas. As micobactérias contrariam esta última defesa modulando diretamente a expressão da FPN (Van Zandt *et al.*, 2008).

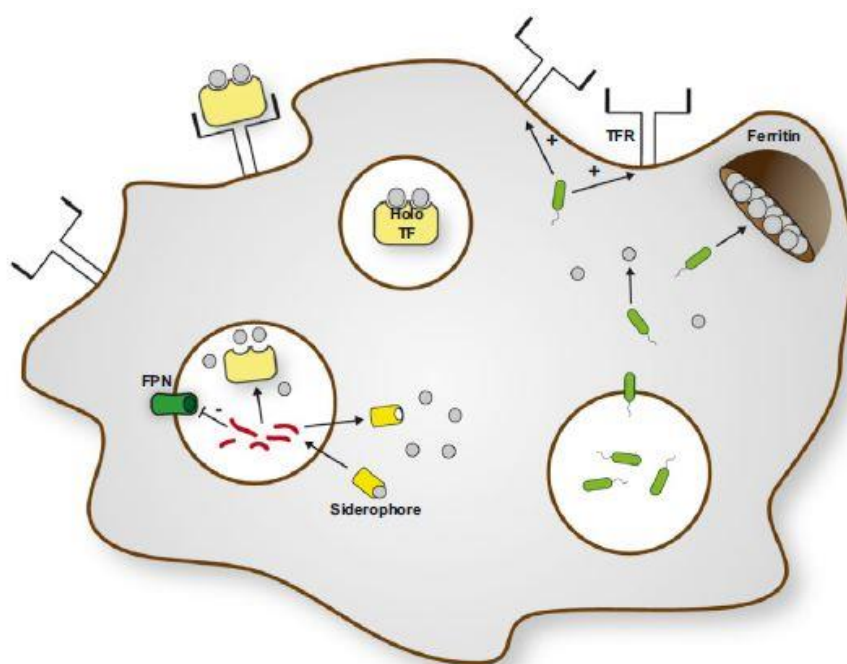


FIGURA 11 - Bactérias intracelulares obrigatórias produzem também sideróforos que no caso da *M. tuberculosis* (a vermelho na imagem) saem do fagossoma e ligam-se a ferro citoplasmático. Além disso, *M. tuberculosis* e outras bactérias intracelulares obtêm ferro através da Holo-transferrina (Holo-Tf) à medida que esta entra por endocitose. Outras bactérias intracelulares (a verde na imagem) conseguem escapar do fagossoma, que permite não só o uso de ferro citoplasmático como também o uso de ferro associado à ferritina. Patógenos intracelulares manipulam a homeostasia do ferro de forma a aumentar a disponibilidade deste, o *M. tuberculosis* inibe a expressão de FPN, que aumenta eficazmente o ferro dentro do fagossoma, outras bactérias aumentam a expressão do recetor da transferrina (TFR). Adaptado de, (Cassat e Skaar, 2013).

3.2.2. *Plasmodium falciparum*

Apesar de vários esforços bem sucedidos em muitos países sub-tropicais, a *P. falciparum* ainda causa mais de 200 milhões de infecções, e perto de 1 milhão de mortes por ano, das quais a maioria são crianças (Hafalla *et al.*, 2011). Este parasita eucariota transmitido por vetores demonstra um ciclo de vida complexo e de múltiplos estados, envolvendo hepatócitos hospedeiros e eritrócitos. A aquisição de ferro pela replicação de trofozoítos de *P. falciparum* envolvem a proteólise da hemoglobina dentro dos glóbulos vermelhos que eventualmente lisam. A hemoglobina é digerida pelos plasmócitos e é encaminhada para um organelo que se chama vacúolo alimentar e degradada a aminoácidos através de reações proteolíticas.

De forma a limitar a toxicidade do grupo heme do *Plasmodium* liga os grupos heme a um pigmento chamado hemozoína que se acumula nos órgãos doentes. Quando as células lisam a hemozoína é libertada e este composto tem efeitos imunomoduladores muito acentuados (Shio *et al.*, 2010).

A ativação do sistema imunitário resulta em destruição adicional de glóbulos vermelhos parasitados e ausentes de infeção, levando a anemia severa (Nweneka *et al.*, 2010). Evidências recentes sugerem que esta anemia pode ser exarcebada pela libertação mediada pela IL-6 da hepcidina que reduz a circulação de ferro que poderia de outra forma estar disponível para eritropoiese (De Mast *et al.*, 2009).

Porque a anemia severa relacionada com a malária é associada com um aumento da mortalidade e morbidade, a suplementação com ferro foi considerada uma intervenção lógica. No entanto, estudos clínicos e experimentais relataram resultados contraditórios na relação entre o *status* de ferro e o seu efeito no hospedeiro da malária (Murray *et al.*, 1978).

Os estudos mais recentes obtidos a partir de um estudo em Pemba, com mais de 24000 crianças, demonstrou que a suplementação com ferro de sujeitos repletos de ferro

aumenta grandemente o risco de efeitos adversos relacionados com a malária, incluindo a morte. No entanto, sujeitos que apresentam um défice de ferro no início do estudo foram protegidos dos eventos adversos. Isso fornece alguns esclarecimentos para os relatórios conflituantes em que se achava que o simples facto da suplementação de ferro contribuía significativamente para a malária. Por conta disto, os investigadores do estudo em Pemba sugeriram uma reavaliação da cobertura fornecida na suplementação de ferro às crianças em áreas com altos índices de malária. É claro que uma maior consciencialização do papel que a sequestração de ferro desempenha durante a resposta imunitária podem impactar significativamente o fardo desta doença (Sazawal *et al.*, 2006).

3.2.3. *Tripanossoma e Leishmania*

Doenças tripanossomíacas transmitidas por vetores incluindo a doença humana africana do sono, doença de Chagas, e leishmaniose são responsáveis por cerca de 30 milhões de infeções e 150000 mortes por ano (Nussbaum *et al.*, 2010). O ferro é essencial para o crescimento tripanossomíaco e a sua aquisição é dependente de espécie e ciclo de vida (Taylor e Kelly, 2010).

O *Trypanosoma brucei gambiense* e *T. rhodesiense* são os agentes causadores da tripanossomíase africana, com *T. b. gambiense* contando com aproximadamente 90% dos casos da doença do sono (Nussbaum *et al.*, 2010). Estes parasitas exibem um ciclo de vida exclusivamente extracelular, replicando no sangue e fluidos teciduais. O *T. brucei* obtém ferro da Tf do recetor através de endocitose mediada por recetor (Taylor e Kelly, 2010).

A doença de Chagas resulta da infeção com *Trypanosoma cruzi*. Esta doença também é conhecida por tripanossomíase americana como é endémica na América do Sul e Central (Nussbaum *et al.*, 2010). O *T. cruzi* replica primariamente no citoplasma das células musculares esqueléticas e cardíacas (Junqueira *et al.*, 2010). Ao contrário do *T. brucei*, pouco é conhecido sobre os mecanismos da aquisição de ferro do *T. cruzi*. Estudos *in vitro* demonstraram o *uptake* da Tf por endocitose mediada por recetor (Lima e Villalta, 1990). Isto pode ser um mecanismo para a aquisição de ferro na corrente sanguínea; no entanto, os mecanismos que governam o *uptake* citoplasmático de ferro permanecem desconhecidos. Evidências iniciais de um modelo murino de infeção de *T. cruzi*

demonstrou um aumento na parasitemia e mortalidade associada com níveis elevados de ferro armazenado que podem ser revertidos com quelatação (Lalonde e Holbein, 1984), já que o *T. cruzi* reproduz-se intracelularmente. Culturas celulares subsequentes e modelos animais tem confirmado esta relação (Pedrosa *et al.*, 1990). Além disso, um estado recente demonstrou uma eficácia aumentada do benznidazol (um fármaco de escolha no tratamento da doença de Chagas) na presença do quelatador de ferro desferroxiamina (Francisco *et al.*, 2008).

A leishmaniose pode-se apresentar como uma infecção cutânea localizada ou uma infecção sistêmica visceral. A leishmaniose visceral é a forma mais mortal e pode ser causada por *Leishmania donovani*, *Leishmania infantum* e *Leishmania chagasi*, dependendo da localização geográfica (Nussbaum *et al.*, 2010). As *Leishmania spp.* são parasitas intracelulares que residem nos fagolisossomas dos macrófagos. A infecção dos macrófagos murinos com *L. donovani* diminui a quantidade de ferro livre no citoplasma, resultando numa estabilidade melhorada do mRNA do recetor da transferrina e aumentando a sua transcrição. (Das *et al.*, 2009). Isto permite que mais ferro seja entregue no fagolisossoma. O ferro libertado da Tf neste compartimento pode ser importado a partir do *Leishmania iron transporter 1* (LIT-1) localizado membrana plasmática (Huynh *et al.*, 2006). Estes parasitas são capazes de adquirir tanto ferro heme como não-heme para satisfazer as suas necessidades metabólicas. Uma manipulação do *status* do ferro hospedeiro através do uso de quelantes ou ferro suplementado produziu resultados conflitantes. Por exemplo, tratamento de ratos com desferroxamina por 2 semanas resultou numa diminuição da infecção por *L. chagasi* tanto no fígado como no baço (Malafaia *et al.*, 2011). Em contraste, a suplementação de ferro parenteral protegeu os ratos contra a *L. major*, no entanto este desfecho poderá ter sido resultado de uma resposta imunitária melhorada (Bisti *et al.*, 2006).

A doença do sono africana e a doença de Chagas estão entre as doenças mais negligenciadas no mundo. Assim sendo, não existem vacinas e o tratamento depende unicamente em quimioterapia antiquada e por vezes tóxica. Os avanços antes mencionados na compreensão do metabolismo do ferro tripanossomíaco pode fornecer conhecimento para novas terapêuticas (Nussbaum *et al.*, 2010).

3.2.4.HIV-1 (Vírus da Imunodeficiência Humana tipo 1)

Desde a descoberta do retrovírus HIV-1 no início de 1980, a elucidação dos mecanismos moleculares que governam o ciclo de vida viral têm demonstrado uma necessidade do vírus para o ferro celular do hospedeiro, durante a replicação (Greene e Peterlin, 2002).

A anemia tem sido descrita como uma sequela da infecção por HIV-1 que impacta negativamente a sobrevivência (Lundgren e Mocroft, 2003); no entanto, vários estudos recentes têm demonstrado que um nível de ferro elevado está associado positivamente a uma maior carga viral (Friis *et al.*, 2003) e mortalidade (Mcdermid *et al.*, 2007). O facto de polimorfismos genéticos separadamente em dois genes relacionados com o metabolismo do ferro (Nramp1 e gene da haptoglobina) e serem também fortes previsores da mortalidade fornecem apoio adicional para o papel de metabolismo do ferro na infecção HIV-1 (Mcdermid *et al.*, 2009).

4. Patologias Influenciadas pelo *status* do Ferro

4.1. Patologias relacionadas com o excesso de ferro

Os distúrbios de excesso de ferro são classificados como genéticos ou adquiridos. Dentro dos distúrbios genéticos podemos encontrar os quatro tipos de hemocromatose, aceruloplasminemia, atransferrinemia e outros. Os distúrbios de excesso de ferro adquiridos não são originados diretamente por mutações de genes do metabolismo do ferro (Weiss e Goodnough, 2005).

A hemocromatose é caracterizada por excesso de ferritina e uma alta saturação de transferrina (Bardou-Jacquet *et al.*, 2015). Nesta patologia o excesso de ferro é maioritariamente armazenado no fígado, coração e pâncreas. A hemocromatose é causada por um déficit de hepcidina associado a um aumento da saída de ferro das células. Ainda, um aumento da saturação de transferrina ocorre normalmente com aumento do NTBI que é transportado para o fígado, coração e pâncreas. (Finkenstedt *et al.*, 2010). Existem quatro tipos de hemocromatose.

O tipo de hemocromatose mais comum é o tipo I. Mais de 80 por cento dos indivíduos com esta patologia expressam hemocromatose do tipo I, sendo a sua maioria caucasianos. É causada por mutações na proteína da hemocromatose hereditária (HFE) e a substituição mais comum é da cisteína 282 pela tirosina. Isto leva a uma inabilidade da hemocromatose de pressentir níveis elevados de ferro (Vujic, 2014), que causa uma diminuição da expressão de hepcidina, excesso de ferro, e possivelmente uma disfunção hepática.

O tipo II é uma patologia mais grave que afeta indivíduos mais jovens e causa uma rápida acumulação de ferro no fígado e parênquima. Se não for tratada, esta patologia pode causar uma disfunção em múltiplos órgãos. Está associada a mutações na hemojuvelina ou na hepcidina e com níveis extremamente baixos de hepcidina sérica.

O tipo III de hemocromatose tem um fenótipo semelhante ao tipo I mas causado por mutações no gene Tfr2 que elimina a capacidade de sentir os níveis de ferro.

O tipo IV de hemocromatose, também designado de doença da FPN, é causada por mutações no gene SLC40A, que codifica a FPN, o alvo da hepcidina (Donovan *et al.*, 2005). É caracterizado por excesso de ferritina, e macrófagos carregados de ferro (Pietrangelo, 2004).

A aceruloplasminemia deve-se a uma falta de atividade da ceruloplasmina ferroxidase por mutações no gene da ceruloplasmina. Esta é caracterizada por uma neurodegeneração progressiva e acumulação de ferro no cérebro (Miyajima, 2015).

A atransferrinemia é uma patologia rara. A atransferrinemia congénita é caracterizada por um défice de transferrina resultando em anemia hipocrômica microcítica e hemossiderose (Shamsian *et al.*, 2009). A atransferrinemia hereditária é caracterizada por anemia microcítica e excesso de ferro (Aslan *et al.*, 2007).

4.1.1. Excesso de ferro como fator de risco em outras patologias

A acumulação de ferro pode estar relacionada com patologias diversas como cancro, doença cardiovascular e doenças neurodegenerativas (Gozzelino e Arosio, 2016).

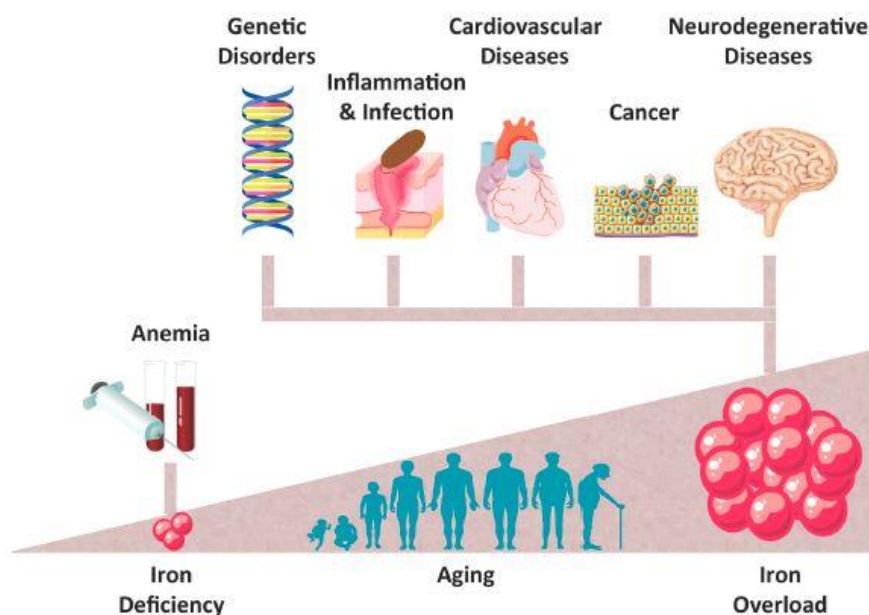


Figura 10 - A importância do ferro em distúrbios fisiopatológicos. Alguns destes incluem anemia e distúrbios relacionados com o excesso de ferro. Retirado de, (Gozzelino e Arosio, 2016).

4.1.1.1. Ferro e Cancro

A importância do ferro no desenvolvimento do tumor foi demonstrada em tumores sólidos e tumores sanguíneos, como linfoma, e mieloma (Caro *et al.*, 2001), (Torti e Torti, 2013), onde o prognóstico adverso relaciona-se com a quantidade de ferro no tecido afetado. A diferenciação em células tumorais está associada à produção de ROS, que promovem modificações no DNA, quebra de filamentos e são potencialmente mutagênicos (Dizdaroglu e Jaruga, 2012), (Toyokuni, 2008). Os efeitos do *stress* oxidativo que resultam da acumulação de ferro incluem a ativação de vias de transdução de sinal essenciais para o crescimento do tumor (Zhang e Zhang, 2015).

Estudos recentes também indicam que as ROS produzidas em consequência de aumento dos níveis de ferro têm a capacidade de induzir mudanças epigenéticas que favorecem a metástase do tumor, já que ativam mutações em pontos-chave e a supressão e/ou ativação

de genes de supressão tumoral e/ou proto-oncogenes, respetivamente (Zhang, 2014), (Paul e Lill, 2015), (Zhang e Zhang, 2015), (Toyokuni, 2008).

A homeostasia de ferro é alterada na maioria dos pacientes de cancro sendo estes afetados por anemia em 40% dos casos (Knight *et al.*, 2004) e 90% em casos de pacientes que estão a fazer quimioterapia (Dicato *et al.*, 2010). A baixa disponibilidade do ferro sistémico é parcialmente promovida pelo próprio tumor que captura o metal para assegurar o seu crescimento adequado já que o ferro é fundamental para a proliferação celular (Torti e Torti, 2011).

4.1.1.2. Ferro e a Cardiotoxicidade

Existe uma correlação positiva entre a acumulação de ferro e doenças cardiovasculares. De facto, ocorre de uma baixa incidência de doença cardíaca isquémica em indivíduos com défice de ferro. Esta associação foi inicialmente postulada por Sullivan na década de 80, que concluiu que um aumento de ferro aumenta também o risco de doenças cardiovasculares. Isto pode também explicar o facto do aumento da suscetibilidade para doenças cardiovasculares em mulheres numa fase pós-menopáusica, quando comparado a mulheres em fase pré-menopáusica (Sullivan, 1981), (Sullivan, 1989). Níveis reduzidos de hepcidina nessas mulheres diminuíram mais de 50% o risco de doenças cardiovasculares quando comparadas com homens da mesma idade (Vinchi *et al.*, 2014).

A importância do ferro na função cardíaca tem sido demonstrada também em estudos usando ratinhos geneticamente modificados, não possuindo o TfR1 ou a FPN em cardiomiócitos, desenvolvendo posteriormente cardiomiopatia e insuficiência cardíaca (Xu *et al.*, 2015), (Lakhal-Littleton *et al.*, 2015).

4.1.1.3. Ferro, Envelhecimento e Neurodegeneração

A importância da homeostasia de ferro é também importante a uma regulação das capacidades cognitivas as quais são prejudicadas por um déficit de ferro e, embora excesso de ferro leve a degeneração axonal e morte neuronal (Zhang *et al.*, 2014).

A acumulação de ferro no cérebro tem um papel no envelhecimento cerebral por um mecanismo que ainda não é bem conhecido mas que é acompanhado por uma redução na expressão de proteínas antioxidantes e mecanismos reparadores, que contribuem para o stress oxidativo mediado por ferro (Gozzelino, 2016), (Arruda *et al.*, 2013).

Estudos indicam uma correlação positiva entre um consumo elevado de ferro e uma maior incidência de patologias relacionadas com a idade (Torti e Torti, 2013).

Está estabelecido o envolvimento deste metal na ataxia de Friedrich, uma doença caracterizada por uma progressiva degeneração nos neurónios sensoriais dos gânglios da raiz dorsal, causados por uma mutação no gene frataxina. A frataxina é uma proteína mitocondrial essencial para a biogénese do *iron-sulfur cluster*, e quando esta apresenta níveis muito reduzidos o ferro acumula-se na mitocôndria (Paul e Lill, 2015). Em consequência formam-se ROS mediadas por ferro, que demonstraram ter uma correlação positiva com a ataxia de Friedrich. Defeitos mitocondriais estão também associados à doença de Parkinson (Martelli e Puccio, 2014), em que um transporte comprometido de ferro para este organelo leva à sua acumulação e contribui para a formação de agregados de alfa-sinucleína que é uma característica desta patologia. Uma interrupção na homeostasia de ferro também é observada em pacientes que sofrem de Alzheimer de início precoce, onde o cérebro e a acumulação de fluido cerebrospinal promovem a agregação de beta-amiloide e tau fosforilado, duas características típicas de Alzheimer (Wong e Duce, 2014).

4.2. Patologias relacionadas com o défice de ferro

O défice de ferro no organismo resulta no desenvolvimento de vários tipos de anemia. O défice de ferro também pode ser classificado como adquirido ou genético. Os exemplos mais comuns de patologias de défice de ferro são a anemia de défice de ferro (Levi e Rovida), a anemia de doenças crónicas (ACD) e a anemia refratária de ferro (IRIDA) (Beutler, 2007).

O défice de ferro é a doença mais comum e afeta maioritariamente crianças, mulheres e idosos. Níveis diminuídos de ferro podem ser associados a anemia moderada ou severa, estados que se desenvolvem quando os níveis de ferro armazenado são reduzidos e o fornecimento de ferro aos órgãos é comprometido. Estados anémicos são maioritariamente causados quando há um aumento das necessidades do ferro e não há um fornecimento adequado a estas necessidades e ocorrem maioritariamente em crianças e mulheres grávidas. Ainda, um aumento da perda de ferro afeta na sua maioria os idosos e é o resultado do uso de fármacos que provocam hemorragias gastrointestinais (Busti *et al.*, 2014).

A anemia de défice de ferro é caracterizada como sendo fisiológica e nutricional. A ACD é normalmente resultado de uma doença gastrointestinal associada com uma perda de sangue anormal ou uma má absorção (Hershko e Camaschella, 2014). A IRIDA é devida uma mutação no gene Tmprss6 (Heeney e Finberg, 2014)

O tratamento de patologias relacionadas com o défice de ferro assenta na suplementação oral de ferro (tratamento mais comum) ou via intravenosa (quando a absorção intestinal é deficiente ou se requer um rápido aumento de hemoglobina) (Camaschella, 2015b). No caso da IRIDA a única alternativa é a via intravenosa já que por via oral o ferro não é absorvido (Heeney e Finberg, 2014).

5. Conclusão

O Ferro é um composto essencial para o funcionamento normal do corpo humano e para a existência da vida, participando em processos como a fotossíntese, fixação de azoto, produção e consumo de hidrogénio e respiração. Este metal de transição pode existir no ambiente em dois estados distintos o Fe^{2+} e o Fe^{3+} cada um com as suas características específicas.

O metabolismo do ferro é um processo complexo, podendo originar ROS que são possíveis de causar degradação dos tecidos. Por isso o organismo desenvolveu formas de controlar a homeostasia do ferro. No trato digestivo o Fe^{2+} é diretamente absorvido, enquanto que o Fe^{3+} é convertido a Fe^{2+} no estômago, pela ação de enzimas e pH ácido. Após absorção e passagem para o citoplasma dos enterócitos o ferro é armazenado na proteína ferritina. Quando necessário a ferritina liberta o ferro que passa por transportadores específicos para a circulação sanguínea onde posteriormente é ligado à Tf ou outros transportadores. O ferro ligado na circulação sanguínea até ser absorvido pelas células, as quais possuem recetores da Tf que permitem a entrada desta na célula por endocitose. No endossoma o ambiente é alterado e o ferro é libertado permitindo o seu uso pelas células, sendo a Tf livre recirculada para o exterior. Na célula a maior parte do ferro é armazenado em proteínas como a ferritina ou então é transportado para as mitocôndrias e lá tem uma função essencial de auxiliar da respiração celular com a formação de grupos Fe-S e grupos heme que possuem diversas funções nas enzimas e no transporte de oxigénio.

Toda a homeostasia do ferro é controlada pela hepcidina, uma proteína hepática que controla a expressão da FPN e a saída do ferro dos enterócitos intestinais, assim como dos macrófagos. Nestes ocorre também a reciclagem do ferro: os eritrócitos senescentes são fagocitados no baço e pela ação de enzimas como a HO1 o oxigénio o grupo heme é degradado e o ferro é armazenado no macrófago.

O ferro é também essencial para o desenvolvimento dos microrganismos patogénicos tendo o sistema imune desenvolvido formas de privar o acesso a este químico. Uma das principais maneiras é o aumento da expressão da ferritina, e a inibição dos transportadores do ferro que mantêm o ferro dentro dos macrófagos e lá armazenado. Outra forma de controlar o ferro é o bombeamento deste para fora do fagossoma que facilita a degradação das bactérias após a fagocitose. Ainda outra forma de controlo é a produção de moléculas que competem pelo ferro diretamente, como a lactoferrina. O sistema imune também produz compostos que conseguem inibir sideróforos exógenos.

Devido a isso as bactérias desenvolveram sideróforos de constituição diferente. Tanto as bactérias de Gram-positivo e de Gram-negativo podem obter ferro através de sistemas complexos e específicos para esse efeito. As bactérias intracelulares são capazes de alterar a expressão dos recetores de ferro e usar o ferro já existente dentro da célula para a sua função. Os parasitas usam a hemoglobina como nutriente, sendo que a degradação liberta substâncias imunomoduladoras.

A homeostasia de ferro é essencial para a manutenção de um organismo saudável. O défice ou excesso de ferro leva a patologia. O défice de ferro pode originar sintomas como tonturas, fraqueza e fadiga, e, é uma condição associada a mulheres grávidas e nestas pode causar problemas no feto. Para combater isto deve ser administrada uma suplementação de ferro a qual deve sempre ser seguida por um profissional de saúde. O excesso de ferro está associado à morte celular, necrose e autofagia.

Em casos de excesso de ferro o indivíduo pode desenvolver hemocromatose (a mais comum) aceruloplasminemia e atransferrinemia. Sabe-se também que um excesso de ferro tem um papel fundamental no desenvolvimento de certas doenças tais como o cancro, doenças cardíacas e neurodegenerativas já que a sua acumulação contribui para a formação de indicadores destas patologias.

Em casos de défice de ferro, o indivíduo pode desenvolver vários tipos de anemia tais como a anemia de défice de ferro, a ACD e a IRIDA. O tratamento deste tipo de patologias

assenta pela administração de ferro por via oral ou intravenosa quando não é absorvido oralmente ou quando é necessário um efeito mais imediato.

6. Bibliografia

- Abergel, R. J.; Wilson, M. K.; Arceneaux, J. E., *et al.* (2006). Anthrax pathogen evades the mammalian immune system through stealth siderophore production. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103, pp. 18499-503.
- Allen, L. H. (2000). Anemia and iron deficiency: effects on pregnancy outcome. *Am J Clin Nutr*, 71, pp. 1280S-4S.
- Andrews, P. A. (2000). Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med*, 342, pp. 1293; author reply 1294.
- Andrews, S. C.; Robinson, A. K. e Rodriguez-Quinones, F. (2003). Bacterial iron homeostasis. *FEMS Microbiol Rev*, 27, pp. 215-37.
- Anzaldi, L. L. e Skaar, E. P. (2010). Overcoming the heme paradox: heme toxicity and tolerance in bacterial pathogens. *Infect Immun*, 78, pp. 4977-89.
- Arruda, L. F.; Arruda, S. F.; Campos, N. A., *et al.* (2013). Dietary iron concentration may influence aging process by altering oxidative stress in tissues of adult rats. *PLoS One*, 8, pp. e61058.
- Aslan, D.; Crain, K. e Beutler, E. (2007). A new case of human atransferrinemia with a previously undescribed mutation in the transferrin gene. *Acta Haematol*, 118, pp. 244-7.
- Bardou-Jacquet, E.; Morcet, J.; Manet, G., *et al.* (2015). Decreased cardiovascular and extrahepatic cancer-related mortality in treated patients with mild HFE hemochromatosis. *J Hepatol*, 62, pp. 682-9.
- Beutler, E. (2007). Iron storage disease: facts, fiction and progress. *Blood Cells Mol Dis*, 39, pp. 140-7.
- Bisti, S.; Konidou, G.; Boelaert, J., *et al.* (2006). The prevention of the growth of *Leishmania major* progeny in BALB/c iron-loaded mice: a process coupled to increased oxidative burst, the amplitude and duration of which depend on initial parasite developmental stage and dose. *Microbes Infect*, 8, pp. 1464-72.
- Bretschger, O.; Obratsova, A.; Sturm, C. A., *et al.* (2007). Current production and metal oxide reduction by *Shewanella oneidensis* MR-1 wild type and mutants. *Appl Environ Microbiol*, 73, pp. 7003-12.
- Bullen, J. J.; Rogers, H. J. e Griffiths, E. (1978). Role of iron in bacterial infection. *Curr Top Microbiol Immunol*, 80, pp. 1-35.
- Busti, F.; Campostrini, N.; Martinelli, N., *et al.* (2014). Iron deficiency in the elderly population, revisited in the hepcidin era. *Front Pharmacol*, 5, pp. 83.
- Camaschella, C. (2015a). Iron-Deficiency Anemia. *N Engl J Med*, 373, pp. 485-6.
- Camaschella, C. (2015b). Iron deficiency: new insights into diagnosis and treatment. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2015, pp. 8-13.
- Caro, J. J.; Salas, M.; Ward, A., *et al.* (2001). Anemia as an independent prognostic factor for survival in patients with cancer: a systemic, quantitative review. *Cancer*, 91, pp. 2214-21.
- Cassat, J. E. e Skaar, E. P. (2012). Metal ion acquisition in *Staphylococcus aureus*: overcoming nutritional immunity. *Semin Immunopathol*, 34, pp. 215-35.
- Cassat, J. E. e Skaar, E. P. (2013). Iron in infection and immunity. *Cell Host Microbe*, 13, pp. 509-19.
- Cellier, M. F.; Courville, P. e Campion, C. (2007). Nramp1 phagocyte intracellular metal withdrawal defense. *Microbes Infect*, 9, pp. 1662-70.

-
- Chan, Y. R.; Liu, J. S.; Pociask, D. A., *et al.* (2009). Lipocalin 2 is required for pulmonary host defense against *Klebsiella* infection. *J Immunol*, 182, pp. 4947-56.
- Cheng, Y.; Zak, O.; Aisen, P., *et al.* (2004). Structure of the human transferrin receptor-transferrin complex. *Cell*, 116, pp. 565-76.
- Cherayil, B. J. (2011). The role of iron in the immune response to bacterial infection. *Immunol Res*, 50, pp. 1-9.
- Chung, J. e Wessling-Resnick, M. (2003). Molecular mechanisms and regulation of iron transport. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 40, pp. 151-82.
- Clark, S. F. (2008). Iron deficiency anemia. *Nutr Clin Pract*, 23, pp. 128-41.
- Clifton, M. C.; Corrent, C. e Strong, R. K. (2009). Siderocalins: siderophore-binding proteins of the innate immune system. *Biometals*, 22, pp. 557-64.
- Das, N. K.; Biswas, S.; Solanki, S., *et al.* (2009). *Leishmania donovani* depletes labile iron pool to exploit iron uptake capacity of macrophage for its intracellular growth. *Cell Microbiol*, 11, pp. 83-94.
- De Domenico, I.; Zhang, T. Y.; Koenig, C. L., *et al.* (2010). Hepcidin mediates transcriptional changes that modulate acute cytokine-induced inflammatory responses in mice. *J Clin Invest*, 120, pp. 2395-405.
- De Mast, Q.; Van Dongen-Lases, E. C.; Swinkels, D. W., *et al.* (2009). Mild increases in serum hepcidin and interleukin-6 concentrations impair iron incorporation in haemoglobin during an experimental human malaria infection. *Br J Haematol*, 145, pp. 657-64.
- De Voss, J. J.; Rutter, K.; Schroeder, B. G., *et al.* (2000). The salicylate-derived mycobactin siderophores of *Mycobacterium tuberculosis* are essential for growth in macrophages. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 97, pp. 1252-7.
- Dicato, M.; Plawny, L. e Diederich, M. (2010). Anemia in cancer. *Ann Oncol*, 21 Suppl 7, pp. vii167-72.
- Dixon, S. J. e Stockwell, B. R. (2014). The role of iron and reactive oxygen species in cell death. *Nat Chem Biol*, 10, pp. 9-17.
- Dizdaroglu, M. e Jaruga, P. (2012). Mechanisms of free radical-induced damage to DNA. *Free Radic Res*, 46, pp. 382-419.
- Donovan, A.; Lima, C. A.; Pinkus, J. L., *et al.* (2005). The iron exporter ferroportin/Slc40a1 is essential for iron homeostasis. *Cell Metab*, 1, pp. 191-200.
- Drakesmith, H. e Prentice, A. M. (2012). Hepcidin and the iron-infection axis. *Science*, 338, pp. 768-72.
- Dryla, A.; Gelbmann, D.; Von Gabain, A., *et al.* (2003). Identification of a novel iron regulated staphylococcal surface protein with haptoglobin-haemoglobin binding activity. *Mol Microbiol*, 49, pp. 37-53.
- Emerson, D.; Fleming, E. J. e Mcbeth, J. M. (2010). Iron-oxidizing bacteria: an environmental and genomic perspective. *Annu Rev Microbiol*, 64, pp. 561-83.
- Finkenstedt, A.; Wolf, E.; Hofner, E., *et al.* (2010). Hepatic but not brain iron is rapidly chelated by deferasirox in aceruloplasminemia due to a novel gene mutation. *J Hepatol*, 53, pp. 1101-7.
- Fleming, M. D.; Trenor, C. C., 3rd; Su, M. A., *et al.* (1997). Microcytic anaemia mice have a mutation in *Nramp2*, a candidate iron transporter gene. *Nat Genet*, 16, pp. 383-6.

-
- Fortes, G. B.; Alves, L. S.; De Oliveira, R., *et al.* (2012). Heme induces programmed necrosis on macrophages through autocrine TNF and ROS production. *Blood*, 119, pp. 2368-75.
- Francisco, A. F.; De Abreu Vieira, P. M.; Arantes, J. M., *et al.* (2008). Trypanosoma cruzi: effect of benznidazole therapy combined with the iron chelator desferrioxamine in infected mice. *Exp Parasitol*, 120, pp. 314-9.
- Friis, H.; Gomo, E.; Nyazema, N., *et al.* (2003). Iron, haptoglobin phenotype, and HIV-1 viral load: a cross-sectional study among pregnant Zimbabwean women. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 33, pp. 74-81.
- Galy, B.; Ferring-Appel, D.; Becker, C., *et al.* (2013). Iron regulatory proteins control a mucosal block to intestinal iron absorption. *Cell Rep*, 3, pp. 844-57.
- Goetz, D. H.; Holmes, M. A.; Borregaard, N., *et al.* (2002). The neutrophil lipocalin NGAL is a bacteriostatic agent that interferes with siderophore-mediated iron acquisition. *Mol Cell*, 10, pp. 1033-43.
- Gomme, P. T.; Mccann, K. B. e Bertolini, J. (2005). Transferrin: structure, function and potential therapeutic actions. *Drug Discov Today*, 10, pp. 267-73.
- Gozzelino, R. (2016). The Pathophysiology of Heme in the Brain. *Curr Alzheimer Res*, 13, pp. 174-84.
- Gozzelino, R. e Arosio, P. (2016). Iron Homeostasis in Health and Disease. *Int J Mol Sci*, 17, pp.
- Greene, W. C. e Peterlin, B. M. (2002). Charting HIV's remarkable voyage through the cell: Basic science as a passport to future therapy. *Nat Med*, 8, pp. 673-80.
- Grigg, J. C.; Vermeiren, C. L.; Heinrichs, D. E., *et al.* (2007). Heme coordination by Staphylococcus aureus IsdE. *J Biol Chem*, 282, pp. 28815-22.
- Grootveld, M.; Bell, J. D.; Halliwell, B., *et al.* (1989). Non-transferrin-bound iron in plasma or serum from patients with idiopathic hemochromatosis. Characterization by high performance liquid chromatography and nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J Biol Chem*, 264, pp. 4417-22.
- Grune, T.; Sommerburg, O. e Siems, W. G. (2000). Oxidative stress in anemia. *Clin Nephrol*, 53, pp. S18-22.
- Hafalla, J. C.; Silvie, O. e Matuschewski, K. (2011). Cell biology and immunology of malaria. *Immunol Rev*, 240, pp. 297-316.
- Harris, Z. L.; Durley, A. P.; Man, T. K., *et al.* (1999). Targeted gene disruption reveals an essential role for ceruloplasmin in cellular iron efflux. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 96, pp. 10812-7.
- Heeney, M. M. e Finberg, K. E. (2014). Iron-refractory iron deficiency anemia (IRIDA). *Hematol Oncol Clin North Am*, 28, pp. 637-52, v.
- Hershko, C. e Camaschella, C. (2014). How I treat unexplained refractory iron deficiency anemia. *Blood*, 123, pp. 326-33.
- Holmes, M. A.; Paulsene, W.; Jide, X., *et al.* (2005). Siderocalin (Lcn 2) also binds carboxymycobactins, potentially defending against mycobacterial infections through iron sequestration. *Structure*, 13, pp. 29-41.
- Huynh, C.; Sacks, D. L. e Andrews, N. W. (2006). A Leishmania amazonensis ZIP family iron transporter is essential for parasite replication within macrophage phagolysosomes. *J Exp Med*, 203, pp. 2363-75.

-
- Ji, C. e Kosman, D. J. (2015). Molecular mechanisms of non-transferrin-bound and transferrin-bound iron uptake in primary hippocampal neurons. *J Neurochem*, 133, pp. 668-83.
- Johnson, E. E. e Wessling-Resnick, M. (2012). Iron metabolism and the innate immune response to infection. *Microbes Infect*, 14, pp. 207-16.
- Junqueira, C.; Caetano, B.; Bartholomeu, D. C., *et al.* (2010). The endless race between *Trypanosoma cruzi* and host immunity: lessons for and beyond Chagas disease. *Expert Rev Mol Med*, 12, pp. e29.
- Kali, A.; Charles, M. V. e Seetharam, R. S. (2015). Hepcidin - A novel biomarker with changing trends. *Pharmacogn Rev*, 9, pp. 35-40.
- Khan, F. A.; Fisher, M. A. e Khakoo, R. A. (2007). Association of hemochromatosis with infectious diseases: expanding spectrum. *Int J Infect Dis*, 11, pp. 482-7.
- Kim, C. M.; Park, Y. J. e Shin, S. H. (2007). A widespread deferoxamine-mediated iron-uptake system in *Vibrio vulnificus*. *J Infect Dis*, 196, pp. 1537-45.
- Knight, K.; Wade, S. e Balducci, L. (2004). Prevalence and outcomes of anemia in cancer: a systematic review of the literature. *Am J Med*, 116 Suppl 7A, pp. 11S-26S.
- Kristiansen, M.; Graversen, J. H.; Jacobsen, C., *et al.* (2001). Identification of the haemoglobin scavenger receptor. *Nature*, 409, pp. 198-201.
- Laftah, A. H.; Latunde-Dada, G. O.; Fakih, S., *et al.* (2009). Haem and folate transport by proton-coupled folate transporter/haem carrier protein 1 (SLC46A1). *Br J Nutr*, 101, pp. 1150-6.
- Lakhal-Littleton, S.; Wolna, M.; Carr, C. A., *et al.* (2015). Cardiac ferroportin regulates cellular iron homeostasis and is important for cardiac function. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 112, pp. 3164-9.
- Lalonde, R. G. e Holbein, B. E. (1984). Role of iron in *Trypanosoma cruzi* infection of mice. *J Clin Invest*, 73, pp. 470-6.
- Legrand, D. e Mazurier, J. (2010). A critical review of the roles of host lactoferrin in immunity. *Biometals*, 23, pp. 365-76.
- Levi, S. e Rovida, E. (2009). The role of iron in mitochondrial function. *Biochim Biophys Acta*, 1790, pp. 629-36.
- Lima, M. F. e Villalta, F. (1990). *Trypanosoma cruzi* receptors for human transferrin and their role. *Mol Biochem Parasitol*, 38, pp. 245-52.
- Liu, X. e Theil, E. C. (2005). Ferritin as an iron concentrator and chelator target. *Ann N Y Acad Sci*, 1054, pp. 136-40.
- Liuzzi, J. P.; Aydemir, F.; Nam, H., *et al.* (2006). Zip14 (Slc39a14) mediates non-transferrin-bound iron uptake into cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 103, pp. 13612-7.
- Lundgren, J. D. e Mocroft, A. (2003). Anemia and survival in human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis*, 37 Suppl 4, pp. S297-303.
- Lunova, M.; Goehring, C.; Kuscuglu, D., *et al.* (2014). Hepcidin knockout mice fed with iron-rich diet develop chronic liver injury and liver fibrosis due to lysosomal iron overload. *J Hepatol*, 61, pp. 633-41.
- Luo, M.; Fadeev, E. A. e Groves, J. T. (2005). Mycobactin-mediated iron acquisition within macrophages. *Nat Chem Biol*, 1, pp. 149-53.
- Malafaia, G.; Marcon Lde, N.; Pereira Lde, F., *et al.* (2011). *Leishmania chagasi*: effect of the iron deficiency on the infection in BALB/c mice. *Exp Parasitol*, 127, pp. 719-23.

-
- Maresso, A. W.; Garufi, G. e Schneewind, O. (2008). Bacillus anthracis secretes proteins that mediate heme acquisition from hemoglobin. *PLoS Pathog*, 4, pp. e1000132.
- Martelli, A. e Puccio, H. (2014). Dysregulation of cellular iron metabolism in Friedreich ataxia: from primary iron-sulfur cluster deficit to mitochondrial iron accumulation. *Front Pharmacol*, 5, pp. 130.
- Mcdermid, J. M.; Jaye, A.; Schim Van Der Loeff, M. F., *et al.* (2007). Elevated iron status strongly predicts mortality in West African adults with HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 46, pp. 498-507.
- Mcdermid, J. M.; Van Der Loeff, M. F.; Jaye, A., *et al.* (2009). Mortality in HIV infection is independently predicted by host iron status and SLC11A1 and HP genotypes, with new evidence of a gene-nutrient interaction. *Am J Clin Nutr*, 90, pp. 225-33.
- Mckie, A. T.; Barrow, D.; Latunde-Dada, G. O., *et al.* (2001). An iron-regulated ferric reductase associated with the absorption of dietary iron. *Science*, 291, pp. 1755-9.
- Miyajima, H. (2015). Aceruloplasminemia. *Neuropathology*, 35, pp. 83-90.
- Murray, M. J.; Murray, A. B.; Murray, M. B., *et al.* (1978). The adverse effect of iron repletion on the course of certain infections. *Br Med J*, 2, pp. 1113-5.
- Nairz, M.; Haschka, D.; Demetz, E., *et al.* (2014). Iron at the interface of immunity and infection. *Front Pharmacol*, 5, pp. 152.
- Nairz, M.; Schroll, A.; Sonnweber, T., *et al.* (2010). The struggle for iron - a metal at the host-pathogen interface. *Cell Microbiol*, 12, pp. 1691-702.
- Nelson, D. L. (2017). *Lehninger Principles of Biochemistry*.
- Nemeth, E.; Tuttle, M. S.; Powelson, J., *et al.* (2004). Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science*, 306, pp. 2090-3.
- Noinaj, N.; Easley, N. C.; Oke, M., *et al.* (2012). Structural basis for iron piracy by pathogenic Neisseria. *Nature*, 483, pp. 53-8.
- Nussbaum, K.; Honek, J.; Cadmus, C. M., *et al.* (2010). Trypanosomatid parasites causing neglected diseases. *Curr Med Chem*, 17, pp. 1594-617.
- Nweneka, C. V.; Doherty, C. P.; Cox, S., *et al.* (2010). Iron delocalisation in the pathogenesis of malarial anaemia. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 104, pp. 175-84.
- Olakanmi, O.; Schlesinger, L. S.; Ahmed, A., *et al.* (2002). Intraphagosomal Mycobacterium tuberculosis acquires iron from both extracellular transferrin and intracellular iron pools. Impact of interferon-gamma and hemochromatosis. *J Biol Chem*, 277, pp. 49727-34.
- Ong, S. T.; Ho, J. Z.; Ho, B., *et al.* (2006). Iron-withholding strategy in innate immunity. *Immunobiology*, 211, pp. 295-314.
- Paradkar, P. N.; De Domenico, I.; Durchfort, N., *et al.* (2008). Iron depletion limits intracellular bacterial growth in macrophages. *Blood*, 112, pp. 866-74.
- Park, C. H.; Bacon, B. R.; Brittenham, G. M., *et al.* (1987). Pathology of dietary carbonyl iron overload in rats. *Lab Invest*, 57, pp. 555-63.
- Paul, V. D. e Lill, R. (2015). Biogenesis of cytosolic and nuclear iron-sulfur proteins and their role in genome stability. *Biochim Biophys Acta*, 1853, pp. 1528-39.
- Pedrosa, M. L.; Silva, M. E.; Silva, M. E., *et al.* (1990). The effect of iron deficiency and iron overload on the evolution of Chagas disease produced by three strains of Trypanosoma cruzi in CFW mice. *Comp Biochem Physiol A Comp Physiol*, 97, pp. 235-43.

-
- Peyssonnaud, C.; Zinkernagel, A. S.; Datta, V., *et al.* (2006). TLR4-dependent hepcidin expression by myeloid cells in response to bacterial pathogens. *Blood*, 107, pp. 3727-32.
- Pietrangelo, A. (2004). The ferroportin disease. *Blood Cells Mol Dis*, 32, pp. 131-8.
- Pietrangelo, A. (2006). Hereditary hemochromatosis. *Biochim Biophys Acta*, 1763, pp. 700-10.
- Posey, J. E. e Gherardini, F. C. (2000). Lack of a role for iron in the Lyme disease pathogen. *Science*, 288, pp. 1651-3.
- Poss, K. D. e Tonegawa, S. (1997). Heme oxygenase 1 is required for mammalian iron reutilization. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 94, pp. 10919-24.
- Raffatelli, M.; George, M. D.; Akiyama, Y., *et al.* (2009). Lipocalin-2 resistance confers an advantage to *Salmonella enterica* serotype Typhimurium for growth and survival in the inflamed intestine. *Cell Host Microbe*, 5, pp. 476-86.
- Recalcati, S.; Locati, M. e Cairo, G. (2012). Systemic and cellular consequences of macrophage control of iron metabolism. *Semin Immunol*, 24, pp. 393-8.
- Reniere, M. L. e Skaar, E. P. (2008). Staphylococcus aureus haem oxygenases are differentially regulated by iron and haem. *Mol Microbiol*, 69, pp. 1304-15.
- Saiga, H.; Nishimura, J.; Kuwata, H., *et al.* (2008). Lipocalin 2-dependent inhibition of mycobacterial growth in alveolar epithelium. *J Immunol*, 181, pp. 8521-7.
- San Martin, C. D.; Garri, C.; Pizarro, F., *et al.* (2008). Caco-2 intestinal epithelial cells absorb soybean ferritin by mu2 (AP2)-dependent endocytosis. *J Nutr*, 138, pp. 659-66.
- Sazawal, S.; Black, R. E.; Ramsan, M., *et al.* (2006). Effects of routine prophylactic supplementation with iron and folic acid on admission to hospital and mortality in preschool children in a high malaria transmission setting: community-based, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet*, 367, pp. 133-43.
- Schmidt, P. J. (2015). Regulation of Iron Metabolism by Hepcidin under Conditions of Inflammation. *J Biol Chem*, 290, pp. 18975-83.
- Schryvers, A. B. e Morris, L. J. (1988). Identification and characterization of the transferrin receptor from *Neisseria meningitidis*. *Mol Microbiol*, 2, pp. 281-8.
- Shamsian, B. S.; Rezaei, N.; Arzanian, M. T., *et al.* (2009). Severe hypochromic microcytic anemia in a patient with congenital atransferrinemia. *Pediatr Hematol Oncol*, 26, pp. 356-62.
- Sharp, P. A. (2010). Intestinal iron absorption: regulation by dietary & systemic factors. *Int J Vitam Nutr Res*, 80, pp. 231-42.
- Shaw, G. C.; Cope, J. J.; Li, L., *et al.* (2006). Mitoferrin is essential for erythroid iron assimilation. *Nature*, 440, pp. 96-100.
- Sheftel, A. D.; Zhang, A. S.; Brown, C., *et al.* (2007). Direct interorganellar transfer of iron from endosome to mitochondrion. *Blood*, 110, pp. 125-32.
- Shi, H.; Bencze, K. Z.; Stemmler, T. L., *et al.* (2008). A cytosolic iron chaperone that delivers iron to ferritin. *Science*, 320, pp. 1207-10.
- Shio, M. T.; Kassa, F. A.; Bellemare, M. J., *et al.* (2010). Innate inflammatory response to the malarial pigment hemozoin. *Microbes Infect*, 12, pp. 889-99.
- Silva-Gomes, S.; Vale-Costa, S.; Appelberg, R., *et al.* (2013). Iron in intracellular infection: to provide or to deprive? *Front Cell Infect Microbiol*, 3, pp. 96.

-
- Silva, B. e Faustino, P. (2015). An overview of molecular basis of iron metabolism regulation and the associated pathologies. *Biochim Biophys Acta*, 1852, pp. 1347-59.
- Skaar, E. P.; Gaspar, A. H. e Schneewind, O. (2004). IsdG and IsdI, heme-degrading enzymes in the cytoplasm of *Staphylococcus aureus*. *J Biol Chem*, 279, pp. 436-43.
- Skaar, E. P.; Gaspar, A. H. e Schneewind, O. (2006). *Bacillus anthracis* IsdG, a heme-degrading monooxygenase. *J Bacteriol*, 188, pp. 1071-80.
- Soe-Lin, S.; Apte, S. S.; Andriopoulos, B., Jr., *et al.* (2009). Nramp1 promotes efficient macrophage recycling of iron following erythrophagocytosis in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 106, pp. 5960-5.
- Sullivan, J. L. (1981). Iron and the sex difference in heart disease risk. *Lancet*, 1, pp. 1293-4.
- Sullivan, J. L. (1989). The iron paradigm of ischemic heart disease. *Am Heart J*, 117, pp. 1177-88.
- Taylor, M. C. e Kelly, J. M. (2010). Iron metabolism in trypanosomatids, and its crucial role in infection. *Parasitology*, 137, pp. 899-917.
- Theil, E. C. (2011). Iron homeostasis and nutritional iron deficiency. *J Nutr*, 141, pp. 724S-728S.
- Tong, Y. e Guo, M. (2009). Bacterial heme-transport proteins and their heme-coordination modes. *Arch Biochem Biophys*, 481, pp. 1-15.
- Torti, S. V. e Torti, F. M. (2011). Ironing out cancer. *Cancer Res*, 71, pp. 1511-4.
- Torti, S. V. e Torti, F. M. (2013). Iron and cancer: more ore to be mined. *Nat Rev Cancer*, 13, pp. 342-55.
- Toyokuni, S. (2008). Molecular mechanisms of oxidative stress-induced carcinogenesis: from epidemiology to oxygenomics. *IUBMB Life*, 60, pp. 441-7.
- Tsai, S. F.; Chen, S. J.; Yen, H. J., *et al.* (2014). Iron deficiency anemia in predominantly breastfed young children. *Pediatr Neonatol*, 55, pp. 466-9.
- Van Zandt, K. E.; Sow, F. B.; Florence, W. C., *et al.* (2008). The iron export protein ferroportin 1 is differentially expressed in mouse macrophage populations and is present in the mycobacterial-containing phagosome. *J Leukoc Biol*, 84, pp. 689-700.
- Vinchi, F.; Muckenthaler, M. U.; Da Silva, M. C., *et al.* (2014). Atherogenesis and iron: from epidemiology to cellular level. *Front Pharmacol*, 5, pp. 94.
- Vujic, M. (2014). Molecular basis of HFE-hemochromatosis. *Front Pharmacol*, 5, pp. 42.
- Wang, J.; Chen, G.; Filebeen, C., *et al.* (2008). Insights on regulation and function of the iron regulatory protein 1 (IRP1). *Hemoglobin*, 32, pp. 109-15.
- Weiss, G. (2005). Modification of iron regulation by the inflammatory response. *Best Pract Res Clin Haematol*, 18, pp. 183-201.
- Weiss, G. e Goodnough, L. T. (2005). Anemia of chronic disease. *N Engl J Med*, 352, pp. 1011-23.
- Wong, B. X. e Duce, J. A. (2014). The iron regulatory capability of the major protein participants in prevalent neurodegenerative disorders. *Front Pharmacol*, 5, pp. 81.
- Xie, Y.; Hou, W.; Song, X., *et al.* (2016). Ferroptosis: process and function. *Cell Death Differ*, 23, pp. 369-79.

-
- Xu, W.; Barrientos, T.; Mao, L., *et al.* (2015). Lethal Cardiomyopathy in Mice Lacking Transferrin Receptor in the Heart. *Cell Rep*, 13, pp. 533-45.
- Yun, S. e Vincelette, N. D. (2015). Update on iron metabolism and molecular perspective of common genetic and acquired disorder, hemochromatosis. *Crit Rev Oncol Hematol*, 95, pp. 12-25.
- Zapotoczna, M.; Heilbronner, S.; Speziale, P., *et al.* (2012). Iron-regulated surface determinant (Isd) proteins of *Staphylococcus lugdunensis*. *J Bacteriol*, 194, pp. 6453-67.
- Zhang, C. (2014). Essential functions of iron-requiring proteins in DNA replication, repair and cell cycle control. *Protein Cell*, 5, pp. 750-60.
- Zhang, C. e Zhang, F. (2015). Iron homeostasis and tumorigenesis: molecular mechanisms and therapeutic opportunities. *Protein Cell*, 6, pp. 88-100.
- Zhang, D. L.; Ghosh, M. C. e Rouault, T. A. (2014). The physiological functions of iron regulatory proteins in iron homeostasis - an update. *Front Pharmacol*, 5, pp. 124.