

## ОБЗОРЫ

## REVIEWS

## Эритроферрон: современные представления о значении в регуляции обмена железа

**В.Т. Сахин<sup>1</sup>, Н.В. Кремнева<sup>1</sup>, А.В. Гордиенко<sup>2</sup>,  
О.А. Рукавицын<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> ФГКУ «1586 Военный клинический госпиталь» МО РФ, ул. Маштакова, д. 4, Подольск, Московская область, Российская Федерация, 142110

<sup>2</sup> ФГБВОУ ВПО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ, ул. Академика Лебедева, д. 6, Санкт-Петербург, Российская Федерация, 194044

<sup>3</sup> ФГКУ «Главный военный клинический госпиталь им. Н.Н. Бурденко» МО РФ, Госпитальная пл., д. 3, Москва, Российская Федерация, 105229

## РЕФЕРАТ

В статье приведены данные о результатах экспериментальных и клинических исследований, в которых изучались значение и механизм действия предполагаемых эритроидных регуляторов уровня гепсидина. Показано, что участие фактора дифференциации роста 15 и гомолога-1 белка скрученной гастрюляции в регуляции уровня гепсидина в организме человека до сих пор до конца не подтверждено. Представлены данные, подтверждающие важное значение эритроферрона в патогенезе анемий вследствие кровопотери, гемолиза, наследственных анемий с неэффективным эритропоэзом. Продемонстрировано, что наибольшее значение в регуляции уровня гепсидина эритроферрон имеет при патологических и стрессовых состояниях и не играет ведущей роли при эритропоэзе в нормальных условиях. Эритроферрон вызывает супрессию синтеза гепсидина за счет непосредственного воздействия на клетки печени через неизвестный пока рецепторный клеточный путь.

**Ключевые слова:** анемия хронических заболеваний, гепсидин, эритроферрон.

**Получено:** 14 сентября 2016 г.

**Принято в печать:** 13 ноября 2016 г.

*Для переписки:* Валерий Тимофеевич Сахин, канд. мед. наук, ул. Маштакова, д. 4, Подольск, Московская область, Российская Федерация, 142110; тел.: +7(916)314-31-11; e-mail: SahinVT@yandex.ru

*Для цитирования:* Сахин В.Т., Кремнева Н.В., Гордиенко А.В., Рукавицын О.А. Эритроферрон: современные представления о значении в регуляции обмена железа.

Клиническая онкогематология. 2017;10(1):25–8.

DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-1-25-28

## Erythroferon: Modern Concepts of Its Role in Iron Metabolism Regulation

**VT Sakhin<sup>1</sup>, NV Kremneva<sup>1</sup>, AV Gordienko<sup>2</sup>,  
OA Rukavitsyn<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> Military Clinical Hospital No. 1586 under the Ministry of Defense of Russia, 4 Mashtakova str., Podol'sk, Moscow Oblast, Russian Federation, 142110

<sup>2</sup> SM Kirov Military Medical Academy, 6 Akademika Lebedeva str., Saint Petersburg, Russian Federation, 194044

<sup>3</sup> NN Burdenko Principal Military Clinical Hospital under the Ministry of Defense of Russia, 3 Gospiatal'naya pl., Moscow, Russian Federation, 105229

## ABSTRACT

The article presents the results of experimental and clinical studies evaluating the importance of supposed erythroid regulators of hepcidin levels and mechanism of their action. It demonstrates that the role of growth differentiation factor 15 and twisted gastrulation protein homolog 1 in regulation of hepcidin levels in humans has not been confirmed yet. The data confirming the importance of erythroferon in the pathogenesis of anemia related to blood loss, hemolysis, and hereditary anemias with ineffective erythropoiesis are presented. The studies demonstrated that erythroferon plays the greatest role in the regulation of hepcidin levels in pathological conditions and at stress and does not play a leading role in erythropoiesis under normal conditions. Erythroferon suppresses the hepcidin synthesis by affecting the liver cells directly through an unknown receptor cellular pathway.

**Keywords:** anemia of chronic disease, hepcidin, erythroferon.

**Received:** September 14, 2016

**Accepted:** November 13, 2016

*For correspondence:* Valerii Timofeevich Sakhin, PhD, 4 Mashtakova str., Podol'sk, Moscow Oblast, Russian Federation, 142110; Tel: +7(916)314-31-11; e-mail: SahinVT@yandex.ru

*For citation:* Sakhin VT, Kremneva NV, Gordienko AV, Rukavitsyn OA. Erythroferon: Modern Concepts of Its Role in Iron Metabolism Regulation. Clinical oncohematology. 2017;10(1):25–8 (In Russ).

DOI: 10.21320/2500-2139-2017-10-1-25-28



## ВВЕДЕНИЕ

Железо является важным компонентом гема и, следовательно, гемоглобина. Для созревания эритроцитов необходима своевременная доставка железа в эритроидные клетки-предшественницы. При различных патологических состояниях, например кровопотере, гемолизе, наблюдается усиление эритропоэза, для обеспечения которого интенсифицируется доставка железа в костный мозг. При этом увеличивается также абсорбция пищевого железа в кишечнике и высвобождение железа из депо. Механизм, или фактор (а точнее — совокупность факторов), называемый эритроидным регулятором, посредством которого эритропоэз изменяет гомеостаз железа, остается не до конца понятным [1].

Синтезируемый печенью гормон гепсидин является основным циркулирующим в крови регулятором всасывания железа и распределения его в тканях [2]. Гепсидин контролирует основные пути поступления железа в плазму: абсорбцию пищевого железа в кишечнике, утилизацию железа макрофагами, которые фагоцитируют зрелые эритроциты и другие клетки крови, и стимуляцию высвобождения железа, хранящегося в гепатоцитах. Железо экспортируется из тканей в плазму с помощью ферропортина — единственного известного клеточного экспортера железа и рецептора гепсидина. Гепсидин вызывает эндоцитоз и деградацию ферропортина, что приводит к сохранению железа внутри клеток и уменьшению его поступления в плазму. В свою очередь, синтез гепсидина также изменяется на транскрипционном уровне в ответ на изменение уровня железа как в плазме крови, так и в депо или вследствие развития воспаления и снижения интенсивности эритропоэза на фоне дефицита железа. С учетом центральной роли гепсидина в системном гомеостазе железа так называемые эритроидные регуляторы могли бы облегчить доставку железа в костный мозг за счет уменьшения концентрации гепсидина в крови, а следовательно, путем увеличения всасывания железа усилить его высвобождение из депо в плазму.

В 2002 г. G. Nicolas и соавт. продемонстрировали уменьшение уровня гепсидина у мышей с анемией, вызванной кровопотерей или гемолизом [3]. После получения результатов этого эксперимента высказывались предположения о том, что подавление секреции гепсидина при анемии — это следствие развивающейся гепатоцеллюлярной гипоксии [3, 4] или действия эритропоэтина [3, 5]. Результаты более поздних исследований убедительно доказали отсутствие прямого влияния гипоксии на транскрипцию гепсидина [6]. В экспериментах на мышцах с подавленной функцией костного мозга показано отсутствие подавления секреции гепсидина после кровотечения и введения эритропоэтина [6–8]. Вероятно, высокий уровень эритропоэтина уменьшает синтез гепсидина косвенно, посредством индукции секреции эритроидных регуляторов в костном мозге. Эритроидные регуляторы, в свою очередь, действуют на печень, подавляют секрецию гепсидина и тем самым усиливают абсорбцию пищевого железа в кишечнике и высвобождение железа из депо. В качестве предполагаемых эритроидных регуляторов рассматривалось несколько белков-кандидатов.

## ВОЗМОЖНЫЕ БЕЛКИ-РЕГУЛЯТОРЫ УРОВНЯ ГЕПСИДИНА: РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Белки трансформирующего фактора роста  $\beta$  — фактор дифференциации роста 15 (growth differentiation factor-15, GDF15) и гомолог-1 белка скрученной гастрюляции (twisted gastrulation protein homolog 1, TWSG1) — были предложены в качестве супрессоров синтеза гепсидина при неэффективном эритропоэзе [9, 10]. Несмотря на то что оба этих белка синтезируются в различных тканях, в моделях *ex vivo* показана их экспрессия на поздней (GDF15) и ранней (TWSG1) стадиях дифференцировки эритробластов человека. В патогенезе воспаления, онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний, ожирения [11] GDF15 играет роль через не полностью изученные механизмы, в то время как TWSG1 модулирует активность костного морфогенетического белка в период эмбрионального развития и во многих тканях взрослых людей [12]. В условиях *in vitro* установлено, что высокие концентрации GDF15 или TWSG1 подавляют экспрессию гепсидина в клеточных линиях гепатоцитов [9, 10]. Однако роль GDF15 и TWSG1 в снижении синтеза гепсидина *in vivo* менее ясна. У мышей с  $\beta$ -талассемией установлено увеличение экспрессии мессенджерной (информационной) РНК TWSG1 в селезенке, печени и, в гораздо меньшей степени, костном мозге [6, 10, 13]. Однако механизм, посредством которого TWSG1 в повышенных количествах подавляет синтез гепсидина, неизвестен. Кроме того, неясно, увеличивается ли уровень TWSG1 у пациентов с неэффективным эритропоэзом. TWSG1, по-видимому, не участвует в подавлении секреции гепсидина у мышей с усиленным эритропоэзом. Так, у мышей *Vhl*<sup>-/-</sup> с высоким уровнем эритропоэтина [6], а также у диких мышей после введения эритропоэтина [6] или тяжелой кровопотери [14] не выявлено изменения уровня мРНК TWSG1 в костном мозге и селезенке.

Кроме того, существует предположение, что GDF15 может быть фактором, подавляющим синтез гепсидина у пациентов с  $\beta$ -талассемией и дизэритропоэтическими анемиями, т. к. у данной категории больных выявлен повышенный уровень этого белка в крови [9, 15]. Прямые доказательства роли GDF15 до сих пор отсутствуют. Одной из трудностей является видоспецифическая разница в экспрессии и регуляции GDF15. В отличие от человеческих мышечные эритробласты не синтезируют GDF15 при дифференцировке в условиях *in vitro* [16]. Кроме того, у мышей с  $\beta$ -талассемией в отличие от человека уровень GDF15 не увеличивается [6, 13, 14], а это свидетельствует о том, что мышечные модели не подходят для изучения роли GDF15 в регуляции уровня гепсидина. У пациентов с дефицитом железа [17] и железodefицитными анемиями [18, 19] выявлен нормальный или незначительно повышенный уровень GDF15, что также говорит в пользу того, что данный белок не является физиологическим регулятором уровня гепсидина. Таким образом, непосредственное участие GDF15 или TWSG1 в регуляции уровня гепсидина в организме человека до сих пор до конца не подтверждено.

## КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЗНАЧЕНИЯ ЭРИТРОФЕРРОНА В РЕГУЛЯЦИИ ОБМЕНА ЖЕЛЕЗА

В 2014 г. L. Kautz и соавт. [20] в эксперименте на мышцах изучали экспрессию мРНК белков, концентрация которых увеличивалась через 4 ч после кровопотери или инъекции эритропоэтина. Результатом исследования стало обнаружение секретируемого созревающими эритроблестами белка Fam132b, члена суперсемейства фактора некроза опухолей- $\alpha$ . Группа исследователей назвала этот белок эритроферроном и доказала, что он функционирует в качестве биологически активного вещества, связывающего эритропоэз и метаболизм железа. При изучении базы данных экспрессии генов установлено, что синтез Fam132b более выражен в костном мозге и печени плода, а исследование *in vitro* дифференцирующихся эритробластов человека подтвердило, что экспрессия Fam132b наиболее высока в эритроблестах промежуточных поколений [21]. При отсутствии эритроферрона утрачивается механизм подавления гепсидина в ранний срок после стимуляции гемопоэза, у Fam132b-дефицитных мышей в сравнении с дикими мышами отмечается более длительный период восстановления гемопоэза после кровотечения [20]. Эти результаты подтверждают тот факт, что эритроферрон является важным биологическим регулятором экспрессии гепсидина и необходим для быстрого компенсационного ответа на кровопотерю. Тем не менее Fam132b-дефицитные мыши восстанавливаются после кровопотери, что может служить доказательством существования других механизмов, повышающих доступность железа для синтеза новых эритроцитов.

Интересно отметить, что у зрелых Fam132b-дефицитных мышей исходно не обнаруживаются каких-либо значимых отклонений в параметрах обмена железа и уровень экспрессии гепсидина сопоставим с дикими мышами. Более того, индукция синтеза мРНК Fam132b после кровопотери не модулируется с участием сигнального пути BMP/Smad или железа. Таким образом, эритроферрон служит стрессовым регулятором эритропоэза и не играет ведущей роли при эритропоэзе в нормальных условиях. В соответствии с этим удаление эритроферрона у мышей вызывает только кратковременный дефицит в синтезе гемоглобина, а в период быстрого роста с 3-й по 6-ю неделю эритропоэз усиливается. Зависимость индукции Fam132b эритропоэтином через сигнальный путь Stat5 также согласуется с ролью эритроферрона в эритропоэзе при стрессовых ситуациях.

У мышей введение рекомбинантного эритроферрона или усиление его экспрессии с использованием лентивирусов подтвердили предположение о том, что данный белок является эффективным супрессором гепсидина *in vivo*. Использование эритроферрона на клеточной культуре гепатоцитов доказывает тот факт, что эритроферрон действует непосредственно на клетки печени.

Необходимы дальнейшие исследования для идентификации рецептора или рецепторов эритроферрона и последующего внутриклеточного сигнального пути, контролирующего экспрессию гепсидина.

Сигнальный путь BMP/Smad — основной путь железозависимой регуляции уровня гепсидина. Он не вовлечен в эритроферрон-зависимую регуляцию гепсидина, т. к. ни гемоювелин, ни рецептор трансферрина 2 не были необходимы для быстрого подавления уровня гепсидина после кровопотери. Таким образом, хотя и железо-регулируемый сигнальный путь BMP/Smad, и эритропоэтин-регулируемый эритроферроновый путь влияют на уровень гепсидина, не выявлено никаких существенных доказательств перекреста в их действии.

В исследовании на модифицированных мышцах с гиперпродукцией эритропоэтина изучалась регуляция уровня гепсидина железом. Установлено существование независимых путей, регулирующих уровень гепсидина в ответ на нагрузку печени железом и активность эритропоэтина [22]. Подавление секреции гепсидина на фоне повышения активности эритропоэза лежит в основе развития перегрузки железом при наследственных анемиях с неэффективным эритропоэзом. Это особенно заметно у пациентов, которым не переливалась кровь и у которых гиперабсорбция пищевого железа была единственным источником перегрузки железом [23, 24]. Исследование у таких пациентов необходимо для понимания того, влияет ли эритроферрон на подавление секреции гепсидина и перегрузку железом при анемиях с неэффективным эритропоэзом. Ожидается, что продукция эритроферрона увеличена при анемиях с перегрузкой железом, поскольку у таких пациентов отмечается высокий уровень эритропоэтина и существенно увеличена популяция эритробластов [25]. В 2014 г. L. Kautz и соавт. выявили у мышей с  $\beta$ -талассемией значительное увеличение экспрессии мРНК Fam132b в костном мозге и селезенке [20]. Абляция (удаление) Fam132b у мышей с  $\beta$ -талассемией (промежуточная форма) приводит к обратному развитию дефекта гепсидина, уменьшению печеночной перегрузки железом, сывороточной концентрации железа, среднего эритроцитарного объема (MCV) и среднего содержания гемоглобина в эритроците (MCH). Таким образом, эритроферрон является значимым фактором, осуществляющим патологическую супрессию гепсидина при наследственных анемиях с неэффективным эритропоэзом, при которых уровень гепсидина обратно пропорционально коррелирует с концентрацией эритропоэтина и активностью эритропоэза [26, 27]. Хотя изменения, вызванные абляцией эритроферрона, менее значительные и не влияют на концентрацию гемоглобина в крови, в остальном картина сходна с эффектом фармакологического увеличения экспрессии уровня гепсидина у мышей с  $\beta$ -талассемией [28–30].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

К настоящему времени получено достаточно доказательств значения эритроферрона в качестве супрессора гепсидина при анемиях вследствие кровопотери, гемолиза, наследственных анемиях с неэффективным эритропоэзом. Необходимы дополнительные клинические исследования, подтверждающие влияние эритроферрона на подавление синтеза гепсидина и последующую перегрузку железом при анемиях с

перегрузкой железом. В случае положительного результата этих исследований нейтрализация эритроферрона может стать рациональной и специфической лечебной стратегией этих анемий. С другой стороны, способность эритроферрона подавлять секрецию гепсидина может быть полезной при лечении анемий с повышенной экспрессией гепсидина, в т. ч. анемий при воспалительных заболеваниях, хронических болезнях почек и резистентных к лечению препаратами железа железододефицитных анемий [31].

## КОНФЛИКТЫ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

## ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование не имело спонсорской поддержки.

## ВКЛАД АВТОРОВ

**Концепция и дизайн:** все авторы.

**Сбор и обработка данных:** все авторы.

**Анализ и интерпретация данных:** все авторы.

**Подготовка рукописи:** все авторы.

**Окончательное одобрение рукописи:** все авторы.

## ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Гематология: национальное руководство. Под ред. О.А. Рукавицына. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. С. 143–9.  
[Rukavitsyn OA, ed. Hematology: national guidelines. Moscow: GEOTAR-Media Publ.; 2015. pp. 143–9. (In Russ)]
2. Ganz T, Nemeth E. Hepcidin and iron homeostasis. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1823(9):1434–43. doi: 10.1016/j.bbamcr.2012.01.014.
3. Nicolas G, Chauvet C, Viatte L, et al. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest*. 2002;110(7):1037–44. doi: 10.1172/jci0215686.
4. Peyssonnaud C, Zinkernagel AS, Schuepbach RA, et al. Regulation of iron homeostasis by the hypoxia-inducible transcription factors (HIFs). *J Clin Invest*. 2007;117(7):1926–32. doi: 10.1172/jci31370.
5. Pinto JP, Ribeiro S, Pontes H, et al. Erythropoietin mediates hepcidin expression in hepatocytes through EPOR signaling and regulation of C/EBP alpha. *Blood*. 2008;111(12):5727–33. doi: 10.1182/blood-2007-08-106195.
6. Liu Q, Davidoff O, Niss K, et al. Hypoxia-inducible factor regulates hepcidin via erythropoietin-induced erythropoiesis. *J Clin Invest*. 2012;122(12):4635–44. doi: 10.1172/jci63924.
7. Pak M, Lopez MA, Gabayan V, et al. Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity. *Blood*. 2006;108(12):3730–5. doi: 10.1182/blood-2006-06-028787.
8. Vokurka M, Krijt J, Sulc K, Necas E. Hepcidin mRNA levels in mouse liver respond to inhibition of erythropoiesis. *Phys Res*. 2006;55(6):667–74.
9. Tanno T, Bhanu NV, Oneal PA, et al. High levels of GDF15 in thalassemia suppress expression of the iron regulatory protein hepcidin. *Nat Med*. 2007;13(9):1096–101. doi: 10.1038/nm1629.

10. Tanno T, Porayette P, Sripichai O, et al. Identification of TWSG1 as a second novel erythroid regulator of hepcidin expression in murine and human cells. *Blood*. 2009;114(1):181–6. doi: 10.1182/blood-2008-12-195503.
11. Unsicker K, Spittau B, Krieglstein K. The multiple facets of the TGF- $\beta$  family cytokine growth/differentiation factor-15/macrophage inhibitory cytokine-1. *Cyt Growth Factor Rev*. 2013;24(4):373–84. doi: 10.1016/j.cytogfr.2013.05.003.
12. Forsman CL, Ng BC, Heinze RK, et al. BMP-binding protein twisted gastrulation is required in mammary gland epithelium for normal ductal elongation and myoepithelial compartmentalization. *Devel Biol*. 2013;373(1):95–106. doi: 10.1016/j.ydbio.2012.10.007.
13. Frazer DM, Wilkins SJ, Darshan D, et al. Stimulated erythropoiesis with secondary iron loading leads to a decrease in hepcidin despite an increase in bone morphogenetic protein 6 expression. *Br J Haematol*. 2012;157(5):615–26. doi: 10.1111/j.1365-2141.2012.09104.x.
14. Casanovas G, Spasic MV, Casu C, et al. The murine growth differentiation factor 15 is not essential for systemic iron homeostasis in phlebotomized mice. *Haematologica*. 2013;98(3):444–7. doi: 10.3324/haematol.2012.069807.
15. Tamary H, Shalev H, Perez-Avraham G, et al. Elevated growth differentiation factor 15 expression in patients with congenital dyserythropoietic anemia type I. *Blood*. 2008;112(13):5241–4. doi: 10.1182/blood-2008-06-165738.
16. An X, Schulz VP, Li J, et al. Global transcriptome analyses of human and murine terminal erythroid differentiation. *Blood*. 2014;123(22):3466–77. doi: 10.1182/blood-2014-01-548305.
17. Tanno T, Rabel A, Lee YT, et al. Expression of growth differentiation factor 15 is not elevated in individuals with iron deficiency secondary to volunteer blood donation. *Transfusion*. 2010;50(7):1532–5. doi: 10.1111/j.1537-2995.2010.02601.x.
18. Theurl I, Finkenstedt A, Schroll A, et al. Growth differentiation factor 15 in anaemia of chronic disease, iron deficiency anaemia and mixed type anaemia. *Br J Haematol*. 2010;148(3):449–55. doi: 10.1111/j.1365-2141.2009.07961.x.
19. Waalen J, von Lohneysen K, Lee P, et al. Erythropoietin, GDF15, IL6, hepcidin and testosterone levels in a large cohort of elderly individuals with anaemia of known and unknown cause. *Eur J Haematol*. 2011;87(2):107–16. doi: 10.1111/j.1600-0609.2011.01631.x.
20. Kautz L, Jung G, Valore EV, et al. Identification of erythroferone as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nat Genet*. 2014;46(7):678–84. doi: 10.1038/ng.2996.
21. Merryweather-Clarke AT, Atzberger A, Soneji S, et al. Global gene expression analysis of human erythroid progenitors. *Blood*. 2011;118(26):e96–108. doi: 10.1182/blood-2010-07-290825.
22. Diaz V, Gammella E, Recalcati S, et al. Liver iron modulates hepcidin expression during chronically elevated erythropoiesis in mice. *Hepatology*. 2013;58(6):2122–32. doi: 10.1002/hep.26550.
23. Pippard MJ, Warner GT, Callender ST, Weatherall DJ. Iron absorption and loading in  $\beta$ -thalassaemia intermedia. *Lancet*. 1979;314(8147):819–21. doi: 10.1016/s0140-6736(79)92175-5.
24. Papanikolaou G, Tzilianos M, Christakis JI, et al. Hepcidin in iron overload disorders. *Blood*. 2005;105(10):4103–5. doi: 10.1182/blood-2004-12-4844.
25. Centis F, Tabellini L, Lucarelli G, et al. The importance of erythroid expansion in determining the extent of apoptosis in erythroid precursors in patients with  $\beta$ -thalassaemia major. *Blood*. 2000;96(10):3624–9.
26. Kattamis A, Papassotiriou I, Palaiologou D, et al. The effects of erythropoietic activity and iron burden on hepcidin expression in patients with thalassemia major. *Haematologica*. 2006;91(6):809–12.
27. Origa R, Galanello R, Ganz T, et al. Liver iron concentrations and urinary hepcidin in beta-thalassemia. *Haematologica*. 2007;92(5):583–8. doi: 10.3324/haematol.10842.
28. Nai A, Pagani A, Mandelli G, et al. Deletion of TMPRSS6 attenuates the phenotype in a mouse model of beta-thalassemia. *Blood*. 2012;119(21):5021–9. doi: 10.1182/blood-2012-01-401885.
29. Guo S, Casu C, Gardenghi S, et al. Reducing TMPRSS6 ameliorates hemochromatosis and beta-thalassemia in mice. *J Clin Invest*. 2013;123(4):1531–41. doi: 10.1172/JCI66969.
30. Schmidt PJ, Toudjarska I, Sendamarai AK, et al. An RNAi therapeutic targeting *tmprss6* decreases iron overload in *Hfe*<sup>-/-</sup> mice and ameliorates anemia and iron overload in murine beta-thalassemia intermedia. *Blood*. 2013;121(7):1200–8. doi: 10.1182/blood-2012-09-453977.
31. Goodnough LT, Nemeth E, Ganz T. Detection, evaluation, and management of iron-restricted erythropoiesis. *Blood*. 2010;116(23):4754–61. doi: 10.1182/blood-2010-05-286260.