

Received: 2013.07.15
Accepted: 2014.03.28
Published: 2014.07.01

Rola hepcydyny w metabolizmie żelaza w przebiegu nieswoistych zapaleń jelit

The role of hepcidin in iron metabolism in inflammatory bowel diseases

Paulina Krawiec, Elżbieta Pac-Kożuchowska

Klinika Pediatrii III Katedry Pediatrii, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

Streszczenie

Hepcydyna to 25-aminokwasowy peptyd syntetyzowany głównie w hepatocytach, który odgrywa zasadniczą rolę w regulacji ogólnoustrojowej gospodarki żelazem. W odpowiedzi na stan zapalny, hepcydyna działa przez degradację ferroportyny na enterocytach i makrofagach, zatrzymując żelazo w komórkach układu siateczkowo-śródbłonkowego i nabłonku jelitowym, co prowadzi do niedoboru żelaza funkcjonalnego. W stanach niedoboru żelaza lub nasilenia erytropoezy, ekspresja hepcydyny jest zmniejszona. Nasila się wchłanianie żelaza z przewodu pokarmowego i uwalnianie go z makrofagów. Odkrycie właściwości biologicznych hepcydyny przyczyniło się do wyjaśnienia zależności między gospodarką żelazem ustroju, odpowiedzią immunologiczną a niedokrwistością chorób przewlekłych. Niedokrwistość jest najczęstszym pozajelitowym objawem nieswoistych zapaleń jelit. Anemia znacznie obniża jakość życia pacjentów i może doprowadzać do wielu powikłań, a nawet zagrożeń życia. Najczęstszą przyczyną niedokrwistości w przebiegu nieswoistych zapaleń jelit jest niedobór żelaza oraz niedokrwistość chorób przewlekłych, które nierzadko współistnieją ze sobą. Głównym zagadnieniem klinicznym jest określenie podłoża niedokrwistości i podjęcie odpowiednich działań terapeutycznych. Powszechnie stosowane wskaźniki, takie jak stężenie żelaza, ferrytyny lub transferryny, nie określają jednoznacznie przyczyny anemii. Podkreśla się potencjał diagnostyczny hepcydyny w różnicowaniu niedokrwistości z niedoboru żelaza i niedokrwistości chorób przewlekłych. Trwają ponadto prace nad zastosowaniem terapii zmniejszającej ekspresję hepcydyny w leczeniu niedokrwistości chorób przewlekłych w przebiegu nieswoistych zapaleń jelit. W pracy przedstawiono w usystematyzowany sposób budowę, mechanizmy działania i regulacji hepcydyny oraz jej znaczenie w patofizjologii niedokrwistości w nieswoistych zapaleniach jelit.

Słowa kluczowe:

hepcydyna • żelazo • niedokrwistość • nieswoiste zapalenia jelit

Summary

Hepcidin is a 25-amino-acid peptide synthesized predominantly in hepatocytes, which plays an essential role in the regulation of systemic iron homeostasis. As a result of inflammation, hepcidin binds to ferroportin resulting in its internalization and degradation in enterocytes and macrophages. Thus iron is trapped in both enterocytes and macrophages, leading to functional hypoferraemia. In iron deficiency or enhanced erythropoiesis, hepcidin expression is reduced. That fact results in increase of iron absorption and releasing iron storage from macrophages. The discovery of the biological properties of hepcidin clarified the relationship between iron homeostasis, immune response, and anaemia of chronic disease. Anaemia is the most common extra intestinal manifestation of inflammatory bowel disease. Anaemia significantly reduces the quality-of-life among patients and can lead to a number of serious complications, even life-threatening. The main types of anaemia in inflammatory bowel diseases are iron deficiency

anaemia and anaemia of chronic disease. These two types of anaemia coexist commonly. The key issue is differentiation these types of anaemia to implement a proper management. Commonly used parameters as iron concentration, ferritin and transferrin, are rather unreliable indices for the evaluation of anaemia in inflammatory bowel diseases. In recent studies the important role of hepcidin as a potential alternative marker of anemia and iron status has been shown. Moreover, there are data that antihepcidin treatment may be an effective treatment of anaemia of chronic disease in inflammatory bowel disease. This paper presents hepcidin structure, mechanism of action and regulation, and highlights hepcidin function in anaemia in inflammatory bowel disease.

Key words: hepcidin • iron • anaemia • inflammatory bowel disease

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1111365>

Word count: 2782

Tables: –

Figures: 1

References: 60

Adres autorki: lek. Paulina Krawiec, Klinika Pediatrii III Katedry Pediatrii Uniwersytetu Medycznego w Lublinie, Dziecięcy Szpital Kliniczny w Lublinie, ul. Chodźki 2, 20-093 Lublin, email: paulina.krawiec@wp.pl

Wykaz skrótów: **BMPs** – białka morfogenetyczne kości (bone morphogenetic proteins); **CRP** – białko C-reaktywne (C-reactive protein); **DMT1** – przezbłonowy transporter metali dwuwartościowych-1 (divalent metal transporter -1); **EPO** – erytropoetyna (eritropoetin); **FPN1** – ferroportyna (ferroportin 1); **HAMP** – gen hepcydyny (hepcidin antimicrobial peptide); **HFE** – hefastyna (hefastin); **HIF-1** – czynnik indukowany hipoksją (hypoxia inducible factor 1); **HJV** – hemojuvelina (hemojuvelin); **m-HJV** – błonowa hemojuvelina (membrane- hemojuvelin); **s-HJV** – rozpuszczalna hemojuvelina (soluble serum- hemojuvelin); **IFN-γ** – interferon-γ (interferon-γ); **IL-1β** – interleukina-1β (interleukin-1β); **IL-6** – interleukina-6 (interleukin-6); **IRE** – sekwencja regulująca żelazo (iron regulatory element); **IREG-1** – białko transportujące żelazo (iron regulated-transporter-1); **IRP** – białko regulujące żelazo (iron regulatory protein); **LEAP-1** – syntetyzowany w wątrobie peptyd o właściwościach przeciwbakteryjnych (liver- expressed antimicrobial peptide); **MTP-1** – białko transportujące żelazo (metal transporter protein-1); **NZJ** – nieswoiste zapalenia jelit (inflammatory bowel diseases); **TfR** – receptor transferyny (transferrin receptor); **TNF-α** – czynnik martwicy guza (tumor necrosis factor-α); **Usf2** – czynnik stymulujący Usf2 (upstream stymulatory factor-2); **VHL** – czynnik von Hippel-Lindau (von Hippel-Lindau factor).

WPROWADZENIE

W 2000 r. z ultrafiltratu krwi ludzkiej wyizolowano nieznaną dotąd peptyd o właściwościach bakteriobójczych i przeciwwgrzybiczych, którego nazwa (liver-expressed antimicrobial peptide, LEAP-1) miała odzwierciedlać główne miejsce jego syntezy i właściwości bakteriobójcze [25]. Niecały rok po tym odkryciu Park i wsp. donieśli o izolacji z ludzkiego moczu peptydu wątrobowego o równie szerokich właściwościach bakteriobójczych i przeciwwgrzybiczych. Peptyd ze względu na główne miejsce syntezy w hepatocytach i charakterystyczne właściwości w warunkach *in vitro* nazwano hepcydyną [43]. Wkrótce okazało się, że oba odkrycia dotyczą tego samego peptydu, ale to krótsza nazwa upowszechniła się w nomenklaturze naukowej, a hepcydyna pełni główną rolę w regulacji metabolizmu żelaza.

SYNTEZA I STRUKTURA HEPCYDYNY

U ludzi hepcydyna jest kodowana przez gen *HAMP* o długości 2,5 kb, który leży na ramieniu długim chromosomu 19 [17,43]. Ekspresja mRNA hepcydyny odbywa się przede wszystkim w hepatocytach. W mniejszym stopniu można ją wyizolować z makrofagów, adipocytów, komórek nerki lub śledziony oraz wielu innych tkanek i komórek [25,43,46].

Gen *HAMP* koduje 84-aminokwasowy prepropeptyd, z którego po odłączeniu sekwencji sygnałowej powstaje 60-aminokwasowa prohepcydyna. W wyniku kolejnych przemian powstaje biologicznie czynna hepcydyna złożona z 25 reszt aminokwasowych, która jest dominującą postacią w ustroju [34]. Z moczu ludzkiego wyizolowano również krótsze peptydy złożone z 20 i 22 reszt amino-

kwasowych, które są prawdopodobnie produktami degradacji prohepcydyny lub 25-hepcydyny i nie pełnią fizjologicznej funkcji [24,33,43].

Bioaktywna cząsteczka hepcydyny ma strukturę szpilki do włosów, w której wyróżnia się zagiętą pętlę peptydu połączoną mostkami disiarczkowymi i dwuramienną podstawę [5,34]. Ważne znaczenie dla aktywności hepcydyny ma koniec aminowy łańcucha polipeptydowego. Badanie Nemeth i wsp. wykazało, że usunięcie pięciu reszt aminokwasowych od końca aminowego (hepcydyna-20), powoduje całkowitą utratę aktywności biologicznej [35]. Dotychczas podkreślano także wpływ wiązań disiarczkowych na aktywność hepcydyny [53]. Jednak we wspomnianym badaniu wykazano, że dopiero usunięcie aż trzech mostków disiarczkowych wiązało się z istotnym obniżeniem jej aktywności [35].

Hepcydyna krąży w osoczu krwi w postaci niezmienionej lub w połączeniu z α -2-makroglobuliną [44]. Peptyd ten ulega prawie całkowitej filtracji w nerkach [34]. Jednak stężenie hepcydyny w moczu nie odzwierciedla w jednoznaczny sposób jej stężenia w surowicy. Prawie 95% hepcydyny z osocza jest filtrowane przez kłębuszki nerkowe, a następnie ulega wchłanianiu przez zrośnięty i rozpadowy w kanalikach bliższych nerek. Jedynie 5% z osoczej puli zostaje wydalona przez nerki w postaci niezmienionej. Hepcydyna może być również usuwana za pośrednictwem endocytozy receptorowej w tkankach docelowych, które wykazują ekspresję ferroportyny - receptora hepcydyny [34].

ROLA HEPCYDYNY W REGULACJI GOSPODARKI ŻELAZEM

Liczne badania doświadczalne podkreślają rolę hepcydyny jako regulatora metabolizmu żelaza. Nicolas i wsp. u myszy pozbawionych genu *Usp2^{-/-}* (upstream stimulatory factor-2) nieoczekiwanie zaobserwowali znaczny wzrost stężenia żelaza i wysycenia transferyny w osoczu oraz przeładowanie żelazem różnych tkanek, co przypominało fenotyp pacjentów z zaawansowaną hemochromatozą lub myszy z nieczynnym genem hefastyny (*HFE*) [38]. Poszukując przyczyn tego zjawiska, naukowcy wykazali, że u myszy *Usp2^{-/-}* doszło do niezamierzonej inaktywacji genu hepcydyny, leżącego w pobliżu genu *USF2* [38]. Natomiast myszy *Usp2^{-/-}* z prawidłową ekspresją genu hepcydyny nie wykazywały zaburzeń gospodarki żelazem. Stwierdzono zatem, że za przeładowanie żelazem odpowiadało zahamowanie ekspresji hepcydyny, a nie knockout genu *USF2* [39]. U transgenicznym myszy z nadekspresją genu hepcydyny ponadto wykazano cechy charakterystyczne dla ciężkiej niedokrwistości sideropenicznej, co jednoznacznie potwierdziło zasadnicze znaczenie hepcydyny w regulacji gospodarki ustrojowej żelazem [39].

Hepcydynę uznano za główną cząsteczkę sygnałową regulującą metabolizm żelaza. Zaproponowany dwukierunkowy model regulacji obrotu żelaza w ustroju zakłada, że hepcydyna ogranicza wchłanianie żelaza w dwunastnicy i hamuje jego wpływ z makrofagów. Wskutek tego defekt

ekspresji hepcydyny u myszy *Usp2^{-/-}* był odpowiedzialny za zwiększoną jelitową absorpcję żelaza i jego zwiększone uwalnianie z makrofagów, dając obraz znacznego przeładowania ustroju żelazem [30,38].

W innym badaniu na modelu mysim wykazano, że pojedyncza dootrzewnowa iniekcja syntetycznej hepcydyny wywoływała bardzo duży, zależny od dawki, spadek stężenia żelaza we krwi w ciągu zaledwie jednej godziny od jej podaży. Skutek pojedynczej dawki utrzymywał się nawet do 72 godzin, co odpowiada okresowi odtworzenia ferroportyny - błonowego receptora dla hepcydyny [50].

MECHANIZM DZIAŁANIA HEPCYDYNY

Hepcydyna oddziałuje na komórki przez wiązanie z ferroportyną (FPN1) znaną także pod nazwą IREG1 (iron regulated-transporter-1) lub MTP1 (metal transporter protein-1) [36,60]. Ferroportyna jest jedynym białkiem kręgowców, które odpowiada za eksport żelaza z komórek. Jest obecna przede wszystkim w komórkach ściśle związanych z metabolizmem żelaza. Występuje na powierzchni powierzchni enterocytów, w makrofagach, hepatocytach, komórkach łożyska i komórkach prekursorowych erytropoety [14,60].

Hepcydyna łącząc się na powierzchni komórek z ferroportyną, wywołuje jej fosforylację i internalizację (usunięcie z błony komórkowej). Po usunięciu ferroportyny z błony komórkowej do pęcherzyków endosomalnych, dochodzi do jej degradacji [13,36]. Inaktywacja ferroportyny na boczno-podstawnej powierzchni enterocytów doprowadza do zatrzymywania żelaza w komórkach nabłonka i jego usunięcia wraz ze złuszczeniem się nabłonkiem jelitowym. Inaktywacja ferroportyny ponadto hamuje recyrkulację żelaza z komórek układu siateczkowo-śródbłonkowego [2,19]. Zmniejsza się podaż żelaza do krążenia, dochodzi do niedoboru żelaza i niedokrwistości. Odwrotna sytuacja występuje w przypadku niedoboru hepcydyny. Wówczas synteza ferroportyny przeważa nad jej degradacją. Błony komórkowe obfitują w ferroportynę, a zatem zwiększa się transport żelaza przez powierzchnię boczno-podstawną enterocytów do krążenia oraz wypływ żelaza z komórek żernych do płynu zewnątrzkomórkowego [18].

Należy jednak pamiętać, że aktywność ferroportyny nie zależy jedynie od aktywności hepcydyny, ale również od zapotrzebowania na żelazo komórek, które wykazują jej ekspresję. Udowodniono, że mRNA ferroportyny w obszarze nieulegającym translacji na końcu 5' RNA (5'UTR) zawiera sekwencję odpowiadającą na żelazo - IRE (iron responsive element), która jest zależna od białek regulujących metabolizm żelaza - IRP1 i IRP2 (iron regulatory protein) [1,31]. Przyłączanie białek IRP do sekwencji IRE jest możliwe przy niskim stężeniu żelaza wewnątrzkomórkowego i doprowadza do zahamowania translacji ferroportyny, a tym samym ogranicza wpływ żelaza z komórek [18,60].

Również mRNA przezłonowego transportera metali dwuwartościowych – DMT1 (divalent metal transporter 1) odpowiedzialnego za jelitowy wychwyt żelaza pokarmowego, zawiera sekwencję IRE położoną w obszarze 3'UTR. Jednak w tym przypadku przyłączenie białek IRP w sytuacji niedoboru wewnątrzkomórkowego żelaza stabilizuje mRNA i nasila transport żelaza do komórek za pośrednictwem DMT1 [16,18].

Na podkreślenie zasługuje również to, że oprócz oddziaływania z ferroportyną prawdopodobnie istnieje dodatkowy mechanizm działania hepcydyny, w wyniku którego dochodzi do bezpośredniego zahamowania proliferacji i przeżycia erytroidalnych komórek progenitorowych [12].

MECHANIZMY REGULACJI HEPCYDYN

Na ekspresję hepcydyny wpływają przede wszystkim wątrobowe zapasy żelaza, aktywność erytropoetyczna szpiku kostnego, stan zapalny i hipoksja oraz stężenie holotransferyny [18].

Głównym dodatnim czynnikiem regulacji ekspresji hepcydyny są białka morfogenetyczne kości BMPs (bone morphogenetic proteins), a zwłaszcza białko BMP6 [3,7]. BMP6 inicjuje wewnątrzkomórkową transdukcję sygnału, łącząc się z receptorowymi kinazami serynowo-treoninowymi i doprowadza do fosforylacji wewnątrzkomórkowych białek SMAD. Białka SMAD po przemieszczeniu do jądra komórkowego są czynnikiem stymulującym transkrypcję genu hepcydyny [3]. Na modelu mysim wykazano, że knockout genu wątrobowo-specyficznego białka SMAD4 zmniejsza ekspresję hepcydyny i powoduje nadmierne gromadzenia żelaza w wielu tkankach i narządach [58].

W hepatocytach szlak białek morfogenetycznych kości zależy od metabolizmu żelaza przez interakcje z hemojuwelina (HJV) [7]. HJV może występować w dwóch postaciach, jako białko błonowe (m-HJV) i w surowicy w postaci rozpuszczalnej (s-HJV). Największą ekspresję HJV wykazuje wątroba, mięśnie szkieletowe i serce [52]. Błonowa hemojuwelina wzmacnia przekazywanie sygnału na szlaku BMPs, w wyniku czego wzrasta stężenie hepcydyny [6]. Rozpuszczalna postać HJV jest ujemnym czynnikiem regulującym szlak białek morfogenetycznych kości. Wykazuje konkurencyjne powinowactwo do receptorów błonowych BMPs, a blokując je hamuje wytwarzanie hepcydyny.

Do uwolnienia z błon komórkowych sHJV jest niezbędna proteolityczna reakcja katalizowana przez furynę [52]. W warunkach standardowych hemojuwelina jest heterodimerem, który w odpowiedzi na wzrost wysycenia transferyny łączy się z błoną komórkową i wzmacnia przekazywanie sygnału przez BMPs. Niedotlenienie i niedobór żelaza aktywują furynę, uwalniając sHJV. Dochodzi do zakłócenia szlaku BMPs i zahamowania aktywacji hepcydyny [52]. Najnowsze badania wciąż ujawniają wpływ innych cząsteczek, takich jak neogenina lub matriptaza (proteaza serynowa znana także pod nazwą TMPRSS6) na

ekspresję HJV [27,28]. Jednak poznanie dokładnych mechanizmów regulatorowych HJV wymaga dalszych badań.

Regulacja syntezy hepcydyny zachodzi również za pośrednictwem hefastyny (HFE) i receptorów transferyny (TfR). Receptor TfR1 jest obecny na większości komórek i odpowiada za transport żelaza do komórek. Receptor TfR2 wykazuje ekspresję głównie w hepatocytach i jest określany jako wskaźnik zasobów żelaza w ustroju [34]. Białko HFE konkuruje kompetycyjnie z transferyną wysyconą żelazem o miejsce wiązania na receptorze TfR1. W sytuacji gdy zwiększa się stężenie żelaza, wysyciona transferyna łączy się z receptorem TfR1, doprowadzając do dysocjacji kompleksu HFE-TfR1. Odłączone białko HFE przyłącza się do receptora TfR2 i oddziałując na szlak sygnalizacyjny białek morfogenetycznych kości, stymuluje syntezę hepcydyny [40,54].

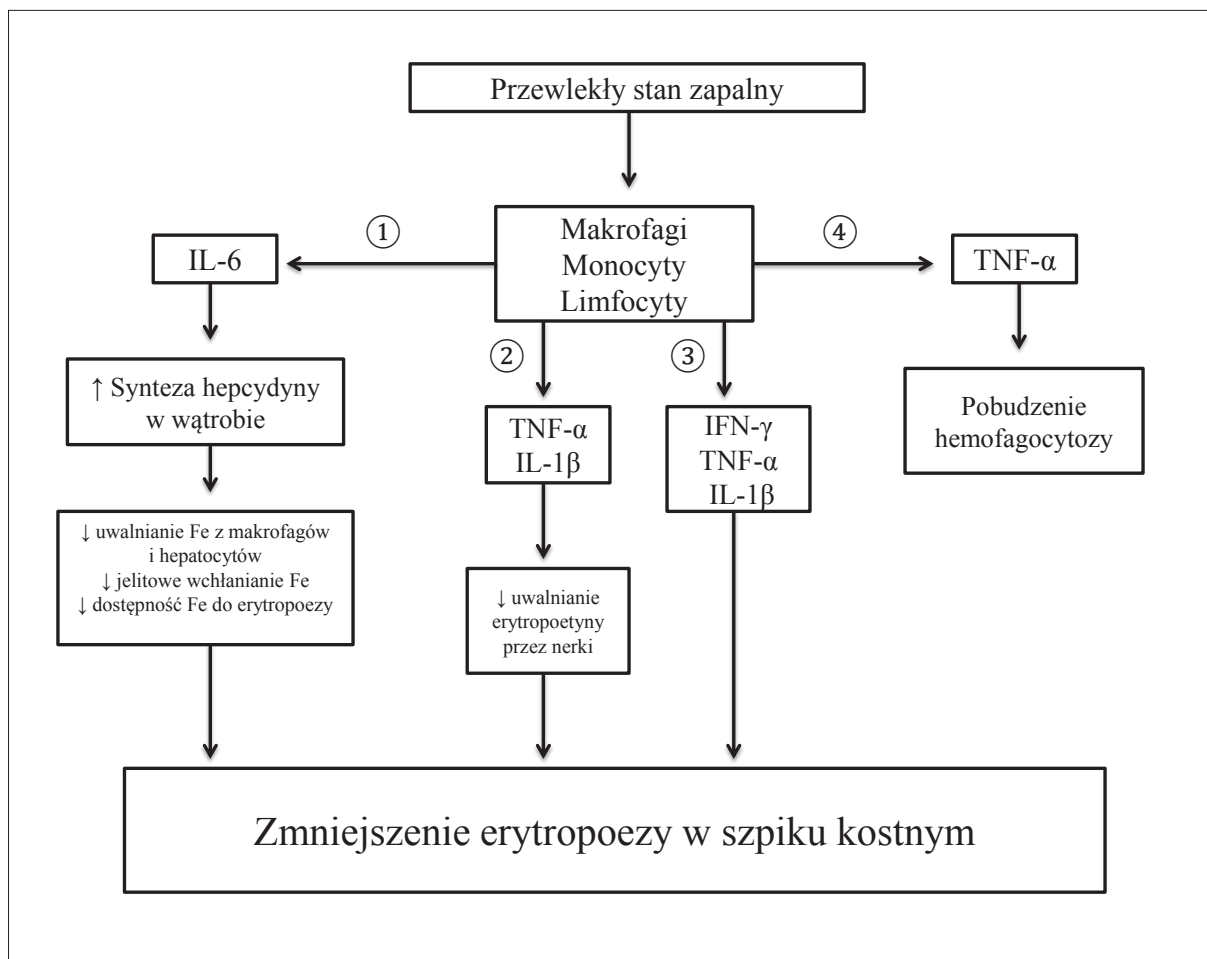
Synteza hepcydyny jest hamowana przez wzmoczoną aktywność erytropoetyczną szpiku [18]. Zjawisko to zaobserwowano zarówno u pacjentów z beta-talazemią, jak i na modelu mysim choroby. Negatywna regulacja biosyntezy hepcydyny odbywa się za pośrednictwem białek TWSG1 (twisted gastrulation protein) i GDF15 (growth differentiation factor 15) wytwarzanych przez prekursorowe komórki szeregu czerwono-krwinkowego. TWSG1 jest wydzielany przez erytroblasty na wczesnych etapach erytropoezy, a GDF15 jest uwalniany z bardziej dojrzałych, syntetyzujących hemoglobinę erytroblastów. Białka ingerując w szlak BMPs, wykazują działanie supresyjne na syntezę hepcydyny [54,55].

Peyssonnaud i wsp. zaproponowali model regulacji metabolizmu żelaza za pośrednictwem czynnika zależnego od hipoksji HIF1. Niedobór żelaza i niedokrwistość z niedoboru żelaza doprowadzają do słabego utlenowania tkanek. W stanie hipoksji dochodzi do zahamowania, zależnej od czynnika von Hippel-Lindau (VHL), degradacji czynnika indukowanego hipoksją (HIF1). HIF1 przemieszcza się do jądra komórkowego, gdzie odgrywa rolę negatywnego regulatora transkrypcji hepcydyny. Jak najbardziej zasadne wydaje się wykorzystanie inhibitorów czynnika VHL w terapii niedokrwistości. Chociaż okazuje się, że eliminacja białka HIF1 jest niewystarczająca, aby w pełni skompensować niedobór hepcydyny indukowany niedoborem żelaza [45]. Zatem model zaproponowany przez Peyssonnaud i wsp. wymaga dalszych badań.

ROLA HEPCYDYN W NIEDOKRWISTOŚCI W NIESWOISTYCH ZAPALENIACH JELIT

Niedokrwistość nie jest odosobnioną nieprawidłowością w wynikach badań laboratoryjnych. Jest to złożone zaburzenie, które znacząco obniża jakość życia pacjentów i może doprowadzać do wielu powikłań, a nawet może być zagrożeniem życia [56].

Niedokrwistość jest najczęstszym pozajelitowym objawem nieswoistych zapaleń jelit. W zależności od metody badań dotyczy 6–74% (średnio 30%) pacjentów z nie-



Ryc. 1. Patomechanizm niedokrwistości chorób przewlekłych [59]; 1 - Pobudzenie syntezy hepcydyny w wątrobie przez IL-6; 2 - Zmniejszenie wytwarzania erytropoetyny w wyniku działania IL-1β i TNF-α; 3 - Bezpośrednie zahamowanie erytropoezy w szpiku kostnym przez cytokiny prozapalne (IFN-γ, IL-1β oraz TNF-α); 4 - Pobudzenie hemofagocytozy przez TNF-α

swoistymi zapaleniami jelit [22,48]. Wśród dzieci z nowo rozpoznany wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego niedokrwistość stwierdzono u zdecydowanej większości pacjentów (72,2%). Interesujące jest to, że w grupie dzieci z niedokrwistością czas od wystąpienia pierwszych objawów do postawienia rozpoznania NZJ był dwukrotnie dłuższy, niż w przypadku dzieci bez niedokrwistości [26]. U dzieci z nowo rozpoznaną chorobą Crohna niedokrwistość występowała u 63,9% pacjentów, a deficyt żelaza u 83,3% [47].

Niedokrwistość w przebiegu nieswoistych zapaleń jelit ma wieloczynnikowe podłoże. Najczęstszą przyczyną jest niedobór żelaza wynikający z przewlekłego, jawnego bądź utajonego krwawienia z przewodu pokarmowego oraz z zaburzeń wchłaniania lub stosowania diety niedoborowej. Niedobór żelaza hamuje ekspresję hepcydyny w wyniku kilku mechanizmów. W odpowiedzi na niewielkie wysycenie transferryny żelazem, białko HFE przyłącza się do receptora TfR1 i osłabiając sygnalizację przez szlak SMAD, zmniejsza ekspresję hepcydyny. W niedoborach żelaza zwiększoną aktywność wykazuje proteaza TMPRSS6,

kóra również hamuje szlak białek SMAD. W stanach sideropenii ponadto obserwuje się obniżone stężenie białek BMPs – głównego promotora ekspresji hepcydyny [15]. Zahamowanie ekspresji hepcydyny umożliwia nasilenie wchłaniania żelaza z przewodu pokarmowego i uwalniania go z komórek układu siateczkowo-śródbłonkowego.

Poważnym problemem w przebiegu nieswoistych zapaleń jelit jest również niedokrwistość chorób przewlekłych stymulowana długotrwałym procesem zapalnym [56]. Należy podkreślić, że w przebiegu nieswoistych zapaleń jelit niedobór żelaza często współlistnieje z niedokrwistością chorób przewlekłych.

Na rycinie 1 przedstawiono schemat patomechanizmu niedokrwistości chorób przewlekłych. Mediatorzy reakcji zapalnej, a przede wszystkim IL-6, stymulują syntezę hepcydyny w wątrobie przez aktywację czynnika transkrypcyjnego STAT-3 [16,23,29,37]. Hepcydyna przyłącza się do ferropoetyny - odpowiedzialnej za eksport żelaza z komórek - i powoduje jej internalizację oraz degradację. Degradacja ferropoetyny na komórkach nabłonka jelitowego prowadzi

do zatrzymania żelaza w enterocytach i usunięcia go wraz ze złączającym się nabłonkiem. Inaktywacja ferroportyny na makrofagach hamuje natomiast uwalnianie z nich żelaza odzyskanego ze sfagocytowanych erytrocytów. Dochodzi do niedoboru funkcjonalnej puli żelaza [16,59]. Hepcydyna może również w bezpośredni sposób hamować proliferację komórek szeregu erytroidalnego i skracać ich przeżycie [12]. Zahamowanie erytropoezy w przewlekłych stanach zapalnych jest wywołane także przez zmniejszenie wytwarzania erytropoetyny w wyniku oddziaływania IL-1 β oraz TNF- α . Za bezpośrednie zahamowanie erytropoezy w szpiku kostnym odpowiadają przede wszystkim IFN- γ , IL-1 β oraz TNF- α . Nadmiernie pobudzona fagocytoza skraca czas przeżycia erytrocytów [49,59].

W diagnostyce różnicowej niedokrwistości w przebiegu nieswoistych zapaleń jelit, a zwłaszcza w chorobie Crohna, należy również uwzględnić niedobór kwasu foliowego i witaminy B₁₂. Do rzadszych przyczyn anemii zalicza się hemoglobinopatie, hemolizę, zespół mielodysplastyczny. W niektórych przypadkach anemia może być spowodowana działaniem niepożądanym leków stosowanych w terapii nieswoistych zapaleń jelit, w tym sulfasalazyny, metotreksatu lub tiopuryn [21,22,48,59].

Ze względu na zróżnicowaną etiologię niedokrwistości w przebiegu nieswoistych zapaleń jelit, najważniejszym zagadnieniem klinicznym jest określenie jej podłoża i podjęcie odpowiednich działań terapeutycznych. W niedokrwistości z niedoboru żelaza właściwym postępowaniem jest suplementacja tego pierwiastka, a w anemii chorób przewlekłych intensyfikacja leczenia choroby podstawowej [59]. Jeśli zastosowanie optymalnej terapii nie powiodło się, wówczas u pacjentów z niskim stężeniem endogennej erytropoetyny, zaleca się włączenie do leczenia rekombinowanej erytropoetyny [48].

Typowe dla niedokrwistości sideropenicznej są hipochromiczne, mikrocytarne erytrocyty przy obniżonym stężeniu hemoglobiny i hematokrytu. Stwierdza się również obniżone stężenia żelaza, ferrytyny i wysycenia transferryny oraz zwiększone stężenie transferryny [41,48]. Trudności diagnostyczne pojawiają się jednak w przebiegu przewlekłego procesu zapalnego. Ferrytyna jako białko ostrej fazy w stanach przewlekłego procesu zapalnego jest na ogół podwyższona i nie odzwierciedla ustrojowych zasobów żelaza. W stanach nakładania niedoboru żelaza i stanu zapalnego wartości ferrytyny mogą również oscylować w granicach normy. Transferryna również nie jest wiarygodnym wskaźnikiem gospodarki żelaza w przebiegu nieswoistych zapaleń jelit. Zaburzenia metabolizmu żelaza nie są jedynym czynnikiem wpływającym na stężenie transferryny. W stanach zapalnych, podczas infekcji, u osób niedożywionych, z chorobami wątroby lub nowotworami obserwuje się zmniejszone osoczowe stężenie transferryny. Wartość ta zwiększa się podczas ciąży i w czasie stosowania doustnych środków antykoncepcyjnych [41]. Ostatnio wiele uwagi poświęca się receptorom transferryny (sTfR), których ekspresja zwiększa się przy wzroście zapotrzebowania komórek na żelazo i nasileniu

erytropoezy, niezależnie od współistniejącego procesu zapalnego. Jednak niewielka dostępność komercyjnego testu, brak wystandaryzowanej metody diagnostycznej i opracowanych norm, utrudnia wykorzystanie sTfR w codziennej praktyce klinicznej [41,56].

Prowadzone są liczne badania nad praktycznym zastosowaniem hepcydyny w diagnostyce i leczeniu niedokrwistości. Dane o wykorzystaniu hepcydyny do oceny gospodarki żelazem i różnicowania głównych typów niedokrwistości u pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit nie są jednak jednoznaczne.

Basseri i wsp. wykazali że niedokrwistość chorób przewlekłych w grupie pacjentów z chorobą Crohna charakteryzuje duże stężenie hepcydyny. Wykazano dodatnią zależność między stężeniem hepcydyny i IL-6 oraz ferrytyną a ujemną między hepcydyną a hemoglobina [9]. Wyniki są zgodne z wynikami badań przedstawionymi w pracy Oustamanolakis i wsp. Autorzy ci stwierdzili istotnie wyższe osoczowe stężenia hepcydyny (metoda immunoenzymatyczna ELISA) u pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit w porównaniu ze zdrowymi ochotnikami. Wykazano dodatnią zależność między stężeniem hepcydyny a stężeniem ferrytyny, CRP oraz aktywnością choroby a ujemną między stężeniem hepcydyny i hemoglobina [42]. Udo- wodniono ponadto, że stężenie hepcydyny jest istotnie wyższe u pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit i niedokrwistością chorób przewlekłych w porównaniu z pacjentami z niedokrwistością z niedoboru żelaza [10].

Arnold i wsp. przedstawili zaskakująco odmienne wyniki, wykazali istotnie niższe osoczowe stężenie hepcydyny u pacjentów z nieswoistymi zapaleniami jelit w porównaniu z grupą kontrolną. Hepcydynę mierzono z zastosowaniem kompetycyjnej metody radioimmunologicznej (RIA). Stężenie hepcydyny pozytywnie korelowało ze stężeniem ferrytyny i IL-6 [4]. Prawdopodobnie odmiennosc wyników jest związana z wykorzystaniem różnych technik oznaczania [20,32]. Różnorodność metod pomiaru stężenia hepcydyny i brak referencyjnych norm laboratoryjnych nie sprzyja wykorzystaniu oznaczenia tego wskaźnika w warunkach klinicznych. Ponadto określenie przydatności oznaczania hepcydyny w celach diagnostycznych i różnicujących niedokrwistość z niedoboru żelaza i anemię chorób przewlekłych w przebiegu nieswoistych zapaleń jelit wymaga dalszych, szczegółowych badań w populacji pacjentów dorosłych i dzieci.

Podkreśla się także znaczenie hepcydyny jako wskaźnika odpowiedzi na doustną suplementację żelazem. W badaniu Bregmana i wsp. doustna podaż żelaza była nieskuteczna u pacjentów z niedokrwistością sideropeniczną z wysokimi wartościami hepcydyny. Jednocześnie aż 2/3 pacjentów z dużym stężeniem hepcydyny zareagowała na doustną suplementację żelaza [11].

Ze względu na ważny udział hepcydyny zarówno w regulacji metabolizmu żelaza, jak i procesu zapalnego zahamowanie jej ekspresji może być pomocne w leczeniu

niedokrwistości w przebiegu nieswoistych zapaleń jelit, a także w redukcji procesu zapalnego. Obiecujące są wyniki stosowania przeciwciał przeciw hepcydynie oraz białku BMP-6 w leczeniu anemii chorób przewlekłych na modelach mysich nieswoistych zapaleń jelit [51,57]. Wang i wsp. oceniali wpływ rekombinowanej hemojuveliny, białka LDN-193189, hamującego łączenia BMP z receptorem i przeciwciała anti-BMP, na metabolizm żelaza na mysim modelu wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. Wykazano, że inhibicja szlaku regulatorowego zależnego od białek BMP na różnych poziomach doprowadziła do zahamowania ekspresji hepcydyny i zwiększenia stężenia żelaza w surowicy myszy, a także do zmniejszenia ekspresji cytokin prozapalnych [57]. Wyniki badań *in vitro* oraz *in vivo* wskazują na supresyjne działanie witaminy D na ekspresję hepcydyny i jej potencjał terapeutyczny u pacjentów z niedokrwistością chorób przewlekłych [8].

PIŚMIENNICTWO

[1] Abboud S., Haile D.J.: A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism. *J. Biol. Chem.*, 2000; 275: 19906-19912

[2] Andrews N.C.: Forging a field: the golden age of iron biology. *Blood*, 2008; 112: 219-230

[3] Andriopoulous B.Jr., Corradini E., Xia Y., Faasse S.A., Chen S., Grgurevic L., Knutson M.D., Pietrangelo A., Vukicevic S., Lin H.Y., Babitt J.L.: BMP6 is a key endogenous regulator of hepcidin expression and iron metabolism. *Nat. Genet.*, 2009; 41: 482-487

[4] Arnold J., Sangwaiya A., Bhatkal B., Geoghegan F., Busbridge M.: Hepcidin and inflammatory bowel disease: dual role in host defence and iron homeostasis. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2009; 21: 425-429

[5] Atanasiu V., Manolescu B., Stoian I.: Hepcidin - central regulator of iron metabolism. *Eur. J. Haematol.*, 2007; 78: 1-10

[6] Babitt J.L., Huang F.W., Wrighting D.M., Xia Y., Sidis Y., Samad T.A., Campagna J.A., Chung R.T., Schneyer A.L., Woolf C.J., Andrews N.C., Lin H.Y.: Bone morphogenetic protein signaling by hemojuvelin regulates hepcidin expression. *Nat. Genet.*, 2006; 38: 531-539

[7] Babitt J.L., Huang F.W., Xia Y., Sidis Y., Andrews N.C., Lin H.Y.: Modulation of bone morphogenetic protein signaling *in vivo* regulates systemic iron balance. *J. Clin. Invest.*, 2007; 117: 1933-1939

[8] Bacchetta J., Zaritsky J.J., Sea J.L., Chun R.F., Lisse T.S., Zavala K., Nayak A., Wesseling-Perry K., Westerman M., Hollis B.W., Salusky I.B., Hewison M.: Suppression of iron-regulatory hepcidin by vitamin D. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2014; 25: 564-572

[9] Basseri R.J., Nemeth E., Vassilaki M.E., Basseri B., Enayati P., Shaye O., Bourikas L.A., Ganz T., Papadakis K.A.: Hepcidin is a key mediator of anemia of inflammation in Crohn's disease. *J. Crohns Colitis*, 2013; 7: e286-e291

[10] Bergamaschi G., Di Sabatino A., Albertini R., Costanzo F., Guerci M., Masotti M., Pasini A., Massari A., Campostrini N., Corbella M., Girelli D., Corazza G.R.: Serum hepcidin in inflammatory bowel diseases: biological and clinical significance. *Inflamm. Bowel Dis.*, 2013; 19: 2166-2172

[11] Bregman D.B., Morris D., Koch T.A., He A., Goodnough L.T.: Hepcidin levels predict nonresponsiveness to oral iron therapy in patients with iron deficiency. *Am. J. Hematol.*, 2013; 88: 97-101

[12] Dallalio G., Law E., Means R.T. Jr.: Hepcidin inhibits *in vitro* erythroid colony formation at reduced erythropoietin concentration.

PODSUMOWANIE

Hepcydyna odgrywa główną rolę w metabolizmie żelaza. Jest określana mianem „ferrostatu”, który precyzyjnie reguluje dostępność żelaza w zależności od potrzeb organizmu [41]. Dane na temat wykorzystania oznaczenia hepcydyny w diagnostyce różnicowej niedokrwistości w przebiegu nieswoistego zapalenia jelit są optymistyczne. Konieczne są jednak dalsze badania w celu ujednoczenia metody pomiaru hepcydyny oraz określenia zakresu wartości referencyjnych u pacjentów z chorobą Crohna i wrzodziejącym zapaleniem jelita grubego w zależności od aktywności i zaawansowania choroby. Zastosowanie terapii hamującej ekspresję hepcydyny jest interesującą perspektywą w leczeniu niedokrwistości chorób przewlekłych w przebiegu nieswoistych zapaleń jelit.

Blood, 2006; 107: 2702-2704

[13] De Domenico I., Ward D.M., Langelier C., Vaughn M.B., Nemeth E., Sundquist W.I., Ganz T., Musci G., Kaplan J.: The molecular mechanism of hepcidin-mediated ferroportin down-regulation. *Mol. Biol. Cell*, 2007; 18: 2569-2578

[14] Donovan A., Brownlie A., Zhou Y., Shepard J., Pratt S.J., Moynihan J., Paw B.H., Drejer A., Barut B., Zapata A., Law T.C., Brugnara C., Lux S.E., Pinkus G.S., Pinkus J.L. i wsp.: Positional cloning of zebrafish *ferroportin1* identifies a conserved vertebrate iron exporter. *Nature*, 2000; 403: 776-781

[15] Evstatiev R., Gasche C.: Iron sensing and signaling. *Gut*, 2012; 61: 933-952

[16] Galy B., Ferring-Appel D., Kaden S., Gröne H.J., Hentze M.W.: Iron regulatory proteins are essential for intestinal function and control key iron absorption molecules in the duodenum. *Cell Metab.*, 2008; 7: 79-85

[17] Ganz T.: Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood*, 2003; 102: 783-788

[18] Ganz T.: Iron homeostasis: fitting the puzzle pieces together. *Cell Metab.*, 2008; 7: 288-290

[19] Ganz T., Nemeth E.: Iron imports. IV. Hepcidin and regulation of body iron metabolism. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.*, 2006; 290: G199-G203

[20] Ganz T., Olbina G., Girelli D., Nemeth E., Westerman M.: Immunoassay for human serum hepcidin. *Blood*, 2008; 112: 4292-4297

[21] Gasche C., Lomer M.C., Cavill I., Weiss G.: Iron, anaemia, and inflammatory bowel diseases. *Gut*, 2004; 53: 1190-1197

[22] Gomollón F., Gisbert J.P.: Anemia and inflammatory bowel diseases. *World J. Gastroenterol.*, 2009; 15: 4659-4665

[23] Huang H., Constante M., Layoun A., Santos M.M.: Contribution of STAT3 and STAT4 pathways to the regulation of hepcidin by opposing stimuli. *Blood*, 2009; 113: 3593-3599

[24] Kemna E., Tjalsma H., Laarakkers C., Nemeth E., Willems H., Swinkels D.: Novel urine hepcidin assay by mass spectrometry. *Blood*, 2005; 106: 3268-3270

[25] Krause A., Neitz S., Mägert H.J., Schulz A., Forssmann W.G., Schulz-Knappe P., Adermann K.: LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett.*, 2000; 480: 147-150

- [26] Krzesiek E., Flis A., Iwańczak B.: Ocena występowania niedokrwistości we wrzodzącym zapaleniu jelita grubego u dzieci. *Pol. Merkur. Lekarski*, 2012; 33: 138-142
- [27] Lee D.H., Zhou L.J., Zhou Z., Xie J.X., Jung J.U., Liu Y., Xi C.X., Mei L., Xiong W.C.: Neogenin inhibits HJV secretion and regulates BMP-induced hepcidin expression and iron homeostasis. *Blood*, 2010; 115: 3136-3145
- [28] Lee P.: Role of matriptase-2 (TMPRSS6) in iron metabolism. *Acta Haematol.*, 2009; 122: 87-96
- [29] Lee P., Peng H., Gelbart T., Wang L., Beutler E.: Regulation of hepcidin transcription by interleukin-1 and interleukin-6. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2005; 102: 1906-1910
- [30] Lipiński P., Starzyński R.R.: Regulacja ogólnoustrojowej homeostazy żelaza przez hepcydynę. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2004; 58: 65-73
- [31] Lymboussaki A., Pignatti E., Montosi G., Garuti C., Haile D.J., Pietrangelo A.: The role of the iron responsive element in the control of ferroportin1/IREG1/MTP1 gene expression. *J. Hepatol.*, 2003; 39: 710-715
- [32] Macdougall I.C., Malyszko J., Hider R.C., Bansal S.S.: Current status of the measurement of blood hepcidin levels in chronic kidney disease. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, 2010; 5: 1681-1689
- [33] Malyszko J.: Hepcidin assays: ironing out some details. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, 2009; 4: 1015-1016
- [34] Nemeth E., Ganz T.: The role of hepcidin in iron metabolism. *Acta Haematol.*, 2009; 122: 78-86
- [35] Nemeth E., Preza G.C., Jung C.L., Kaplan J., Waring A.J., Ganz T.: The N-terminus of hepcidin is essential for its interaction with ferroportin: structure-function study. *Blood*, 2006; 107: 328-333
- [36] Nemeth E., Tuttle M.S., Powelson J., Vaughn M.B., Donovan A., Ward D.M., Ganz T., Kaplan J.: Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science*, 2004; 306: 2090-2093
- [37] Nemeth E., Valore E.V., Territo M., Schiller G., Lichtenstein A., Ganz T.: Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood*, 2003; 101: 2461-2463
- [38] Nicolas G., Bennoun M., Devaux I., Beaumont C., Grandchamp B., Kahn A., Vaulont S.: Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001; 98: 8780-8785
- [39] Nicolas G., Bennoun M., Porteu A., Mativet S., Beaumont C., Grandchamp B., Sirito M., Sawadogo M., Kahn A., Vaulont S.: Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002; 99: 4596-4601
- [40] Niederkofler V., Salie R., Arber S.: Hemojuvelin is essential for dietary iron sensing, and its mutation leads to severe iron overload. *J. Clin. Invest.*, 2005; 115: 2180-2186
- [41] Oustamanolakis P., Koutroubakis I.E., Kouroumalis E.A.: Diagnosing anemia in inflammatory bowel disease: beyond the established markers. *J. Crohns Colitis*, 2011; 5: 381-391
- [42] Oustamanolakis P., Koutroubakis I.E., Messaritakis I., Malliaraki N., Sfiridaki A., Kouroumalis E.A.: Serum hepcidin and prohepcidin concentrations in inflammatory bowel disease. *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.*, 2011; 23: 262-268
- [43] Park C.H., Valore E.V., Waring A.J., Ganz T.: Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 7806-7810
- [44] Peslova G., Petrak J., Kuzelova K., Hrdy I., Halada P., Kuchel P.W., Soe-Lin S., Ponka P., Sutak R., Becker E., Huang M.L., Rahmanto Y.S., Richardson D.R., Vyorral D.: Hepcidin, the hormone of iron metabolism, is bound specifically to α -2-macroglobulin in blood. *Blood*, 2009; 113: 6225-6236
- [45] Peyssonnaud C., Zinkernagel A.S., Schuepbach R.A., Rankin E., Vaulont S., Haase V.H., Nizet V., Johnson R.S.: Regulation of iron homeostasis by the hypoxia-inducible transcription factors (HIFs). *J. Clin. Invest.*, 2007; 117: 1926-1932
- [46] Pigeon C., Ilyin G., Courselaud B., Leroyer P., Turlin B., Brissot P., Loréal O.: A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 7811-7819
- [47] Pytrus T., Flis A., Iwańczak F., Iwańczak B.: Częstość występowania niedokrwistości u dzieci z nowo rozpoznaną chorobą Leśniowskiego-Crohna. *Pol. Merkur. Lekarski*, 2013; 34: 263-268
- [48] Radwan P., Radwan-Kwiątek K., Skrzydło-Radomańska B., Rydzewska G.: Niedokrwistość w nieswoistych zapaleniach jelit - etiopatogeneza, rozpoznawanie i leczenie. *Przegl. Gastroenterol.*, 2010; 5: 315-320
- [49] Reinisch W., Staun M., Bhandari S., Munoz M.: State of the iron: how to diagnose and efficiently treat iron deficiency anemia in inflammatory bowel disease. *J. Crohns Colitis*, 2013; 7: 429-440
- [50] Rivera S., Nemeth E., Gabayan V., Lopez M.A., Farshidi D., Ganz T.: Synthetic hepcidin causes rapid dose-dependent hypoferrremia and is concentrated in ferroportin-containing organs. *Blood*, 2005; 106: 2196-2199
- [51] Sasu B.J., Cooke K.S., Arvedson T.L., Plewa C., Ellison A.R., Sheng J., Winters A., Juan T., Li H., Begley C.G., Molineux G.: Antihepcidin antibody treatment modulates iron metabolism and its effective in a mouse model of inflammation-induced anemia. *Blood*, 2010; 115: 3616-3624
- [52] Silvestri L., Pagani A., Camaschella C.: Furin-mediated release of soluble hemojuvelin: a new link between hypoxia and iron homeostasis. *Blood*, 2008; 111: 924-931
- [53] Sokołowska E., Klimek J.: Hepcydyna - hormon uczestniczący w regulacji metabolizmu żelaza w organizmie. *Postępy Biol. Kom.*, 2007; 34: 15-30
- [54] Tanno T., Bhanu N.V., Oneal P.A., Goh S.H., Staker P., Lee Y.T., Moroney J.W., Reed C.H., Luban N.L., Wang R.H., Eling T.E., Childs R., Ganz T., Leitman S.F., Fucharoen S., Miller J.L.: High levels of GDF15 in thalassemia suppress expression of the iron regulatory protein hepcidin. *Nat. Med.*, 2007; 13: 1096-1101
- [55] Tanno T., Porayette P., Sripichai O., Noh S.J., Byrnes C., Bhupatiraju A., Lee Y.T., Goodnough J.B., Harandi O., Ganz T., Paulson R.F., Miller J.L.: Identification of TWSG1 as a second novel erythroid regulator of hepcidin expression in murine and human cells. *Blood*, 2009; 114: 181-186
- [56] Van Assche G., Dignass A., Bokemeyer B., Danese S., Gionchetti P., Moser G., Beaugerie L., Gomollón F., Häuser W., Herrlinger K., Oldenburg B., Panes J., Portela F., Rogler G., Stein J. i wsp.: Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis Part 3: Special situations. *J. Crohns Colitis*, 2013; 7: 1-33
- [57] Wang L., Trebicka E., Fu Y., Ellenbogen S., Hong C.C., Babbitt J.L., Lin H.Y., Cherayil B.J.: The bone morphogenetic protein-hepcidin axis as a therapeutic target in inflammatory bowel disease. *Inflamm. Bowel Dis.*, 2012; 18: 112-119
- [58] Wang R.H., Li C., Xu X., Zheng Y., Xiao C., Zervas P., Cooperman S., Eckhaus M., Rouault T., Mishra L., Deng C.X.: A role of SMAD4 in iron metabolism through the positive regulation of hepcidin expression. *Cell Metab.*, 2005; 2: 399-409
- [59] Zarychanski R., Houston D.S.: Anemia of chronic disease: a harmful disorder or an adaptive, beneficial response? *CMAJ*, 2008; 179: 333-337
- [60] Zhang D.L., Hughes R.M., Ollivierre-Wilson H., Ghosh M.C., Rouault T.A.: A ferroportin transcript that lacks an iron-responsive element enables duodenal and erythroid precursor cells to evade translational repression. *Cell Metab.*, 2009; 9: 461-473

Autorki deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.