

Lesław Filipczyk¹, Przemysław Król², Antoni Wystrychowski³¹NZOZ Centrum Dializ Fresenius Nephrocare XII w Tarnowskich Górach²Zespół Szpitali Miejskich w Chorzowie³Klinika Nefrologii, Endokrynologii i Chorób Przemiany Materii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Hepcydyna — hormon wątrobowy kontrolujący homeostazę żelaza

Hepcidin — a hepatic hormone that controls iron homeostasis

ABSTRACT

During the last ten years our knowledge of human iron regulation increased, particularly owing to discovery of hepcidin. This hormone, discovered in 2000, is a 25-amino acid polypeptide produced in liver, which causes internalization of ferroportin in enterocytes of duodenum, thus inhibiting iron absorption. On the other hand, ferroportin inactivation in macrophages prevents release of iron derived from engulfed erythrocytes. Precise hepcidin concentration regulation plays a key role in keeping iron concentrations in a nar-

row physiological range. Beside iron stores, the synthesis of hepcidin is influenced by the intensity of erythropoiesis and hypoxia, as well as proinflammatory cytokines (interleukin 1, interleukin 6 and TNF- α), which is especially important in anemia of inflammatory disease. Assessment of hepcidin concentrations may become a key element in a holistic analysis of human iron metabolism, with a significant impact on the making of therapeutic decisions.

Forum Nefrologiczne 2010, vol. 3, no 4, 233–242

Key words: iron, hepcidin, ferroportin, hemojuvelin, anemia

WSTĘP

Żelazo jest kluczowym elementem dla wszystkich żywych organizmów, niemniej jego niektóre właściwości fizykochemiczne znacznie ograniczają możliwości wykorzystania przez ustrój oraz leżą u podstaw jego toksyczności. Posiadając unikalną zdolność wymiany elektronów w warunkach tlenowych, żelazo jest zaangażowane w dostarczanie tlenu do komórek (jako kofaktor hemowy w hemoglobinie i mioglobinie) i w enzymatyczne reakcje z przenoszeniem elektronów (jako składnik cytochromów, reduktazy rybonukleotydowej i innych enzymów). Z drugiej strony, w nadmiarze wywołuje ono efekty toksyczne, sprzyjając tworzeniu wolnych rodników tleno-

wych i powodując peroksydację lipidów, uszkodzenie DNA i zwłóknienie tkanek. Ponadto konieczne jest dla rozwoju mikroorganizmów i, jeśli jest łatwo dostępne, sprzyja ich namnażaniu. Dlatego konieczna jest bardzo precyzyjna regulacja gospodarki żelazowej i w tym celu organizmy wyższe wytworzyły specyficzne białka przeznaczone do pozyskiwania, transportu przez błonowy i przenoszenia z krwią żelaza.

USTROJOWA GOSPODARKA ŻELAZEM

W organizmie ludzkim ponad 2/3 ustrojowego żelaza (tj. ok. 3 g u dorosłych) jest włączane do hemoglobiny w komórkach szlaku erytropoetycznego. Większość pozostałego

Adres do korespondencji:

lek. Lesław Filipczyk
NZOZ Centrum Dializ Fresenius
Nephrocare XII
ul. Pyskowska 47,
42–612 Tarnowskie Góry
tel.: (32) 384 72 71, faks: (32) 384 73 62
e-mail: lef5@interia.pl

▶▶Gospodarka żelazem wymaga precyzyjnej kontroli absorpcji, zapasów ustrojowych, wykorzystania w szpiku kostnym oraz sprawnego odzyskiwania ze sfagocytowanych erytrocytów◀◀

▶▶Produkowana w wątrobie hepcydyna jest podstawowym regulatorem jelitowej absorpcji żelaza◀◀

Tabela 1. Białka biorące udział w ustrojowej gospodarce żelazem

Białko	Główne miejsca ekspresji	Funkcja białka	Objawy chorobowe związane z utratą funkcji
Ferroreduktaza (dwunastniczy cytochrom b)	Rąbek szczoteczkowy dojrzałych enterocytów	Redukcja żelaza Fe ³⁺ do Fe ²⁺	Brak znanego fenotypu (prawdopodobnie nie jest jedyną ferroreduktazą)
Transporter metali dwuwartościowych (DMT1, Nramp2)	Błona komórkowa powierzchni jelitowej dojrzałych enterocytów	Przebłonowy transport Fe ²⁺ do enterocyta	Niedokrwistość mikrocytarna hipochromiczna
Ferroportyna (IREG1, SLC40A1)	Podstawno-boczna powierzchnia enterocytów Błona komórkowa makrofagów Komórki trofoblastu	Eksport żelaza Fe ²⁺ z enterocyta Eksport Fe ²⁺ odzyskanego z dojrzałych erytrocytów Transport Fe ²⁺ do płodu	Niedokrwistość z głębokim niedoborem żelaza + przeładowanie makrofagów żelazem Mutacje letalne w okresie embrionalnym
Hefestyna	Błona podstawna enterocytów	Oksydacja Fe ²⁺ do Fe ³⁺	Niedokrwistość mikrocytarna hipochromiczna
Transferyna	Krew krążąca	Osoczowy przekaźnik Fe ³⁺ , ligand dla TfR1 i TfR2	Niedokrwistość mikrocytarna hipochromiczna
Receptor transferynowy TfR1	Błona komórkowa większości komórek	Wychwyt żelaza z puli krążącej	Mutacje letalne w okresie embrionalnym
Receptor transferynowy TfR2	Hepatocyty, monocyty	Regulacja stężenia hepcydyny	Objawy przeładowania ustroju żelazem
Hepcydyna	Hepatocyty	Regulacja eksportu żelaza z enterocytów i makrofagów	Objawy przeładowania ustroju żelazem
Białko HFE	Enterocyty, makrofagi, łożysko	Regulacja stężenia hepcydyny	Hemochromatoza
Hemojuwelina	Hepatocyty, mięśnie szkieletowe, serce	Modulacja stężenia hepcydyny	Hemochromatoza młodzieńcza

Objaśnienia skrótów w tekście

żelaza ustrojowego, czyli około 1 g, znajduje się w hepatocytach, gdzie jest zmagazynowane w specyficznych białkach (ferrytyna, hemosyderyna) oraz w mięśniach, gdzie stanowi składnik mioglobiny. Dzielne zapotrzebowanie organizmu na żelazo determinują powstające erytrocyty i wynosi ono około 25–30 mg [1]. Warunkiem syntezy hemoglobiny jest uwalnianie żelaza z erytrocytów rozpadających się w komórkach układu siateczkowo-śródbłonkowego i jego transport do komórek erytroblastycznych przez transferynę. Jednocześnie około 1–2 mg żelaza jest dziennie traczone w wyniku procesów, takich jak złuszcza-

nie się naskórka i miesiączkowanie. Ta utrata musi być zastępowana absorpcją żelaza pokarmowego przez śluzówkę dwunastnicy, aby bilans w gospodarce żelazem był zachowany. Białka biorące udział w ustrojowej gospodarce żelazem przedstawiono w tabeli 1.

WCHŁANIANIE ŻELAZA

Absorpcja żelaza zachodzi w proksymalnym odcinku dwunastnicy (ryc. 1). Zrównoważona dieta dostarcza zwykle około 10–20 mg żelaza na dobę, z czego wchłania się około 10% i ta ilość zastępuje straty. Niemniej, jelitowa

absorpcja żelaza może być zwiększona nawet 10-krotnie w sytuacjach zwiększonego zapotrzebowania, jak hemoliza czy znacząca utrata krwi [1]. W zrównoważonej diecie ponad 2/3 stanowi słabo rozpuszczalne żelazo niehemowe Fe^{3+} . Jego jelitowa absorpcja jest obecnie dobrze zanalizowana, natomiast absorpcja żelaza hemowego Fe^{2+} , przede wszystkim pochodzącego z mięsa, nadal pozostaje słabo poznana — mimo pojawiających się w ostatnich latach opisów jelitowych importerów hemu [2, 3].

Ferroreduktaza i DMT1

W enterocytach dwunastnicy wchłanianie żelaza niehemowego Fe^{3+} zależy od aktywności przezbłonowego transportera metali dwuwartościowych (DMT1, *divalent metal transporter 1*), który jednak nie akceptuje jonu żelazowego Fe^{3+} jako substratu. Wymagana jest więc redukcja żelaza pokarmowego przed jego jelitowym wychwytem. Reakcję tę katalizuje dwunastniczy cytochrom b (Cybrd1) — ferroreduktaza — obecna na powierzchni rąbka szczoteczki dojrzałych jelitowych komórek absorpcyjnych. W następnym etapie DMT1 przenosi jon Fe^{2+} do wnętrza komórki nabłonka jelitowego.

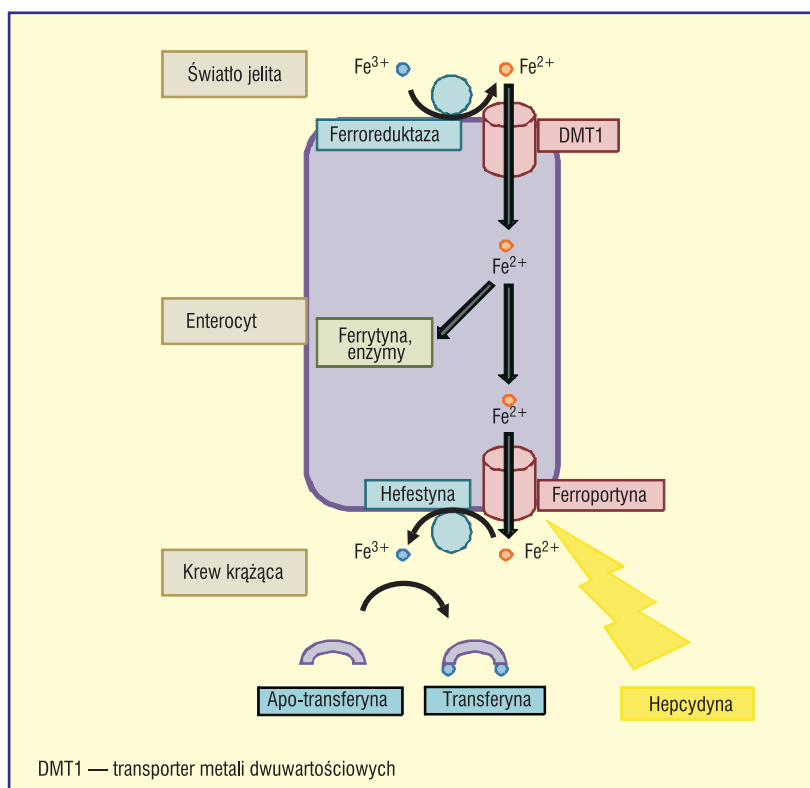
Ferroportyna i hefestyna

Po wejściu do enterocyta część żelaza zostaje zmagazynowana lub zużyta przez komórkę jelitową. Żelazo to nie jest przekazywane do płynów ustrojowych i zostaje utracone, gdy enterocyt złuszcza się do światła jelita. Pozostała część żelaza jest eksportowana przez podstawno-boczną błonę enterocyta do krwi krążącej przez ferroportynę. Transportuje ona jon żelazawy Fe^{2+} przez błonę podstawną, gdzie jest utleniany przez białkowy homolog ceruloplazminy — hefestynę, aby jako jon żelazowy Fe^{3+} związać się z apo-transferyną i utworzyć transferynę [3]. Transferyna funkcjonuje jako główny przenośnik żelaza, dostarczając je do tkanek.

Ferroportyna jest obecna również w makrofagach, umożliwiając przekazanie żelaza odzyskanego ze sfagocytowanych erytrocytów do puli krążącej, związanej z transferyną, oraz bierze udział w przelóżyskowym transporcie żelaza [4].

HEPCYDYNA

Hepcydynę odkryto niezależnie w dwóch laboratoriach (Krause 2000 i Park 2001), identyfikując ją początkowo w moczu jako defen-



Rycina 1. Schemat wchłaniania żelaza w proksymalnym odcinku jelita cienkiego i miejsce działania hepcydyny

synę. Białko to jest polipeptydem 25-aminokwasowym, zawierającym 8 reszt cysteinowych, syntetyzowanym głównie w hepatocytach i uwalnianym do krwi krążącej. Ekspresję genu hepcydyny stwierdzono również między innymi w makrofagach, adipocytach i komórkach cewek nerkowych, jednak jego rola w tych komórkach wymaga dalszych badań [4]. Jako mała cząsteczka polipeptyd ten jest szybko filtrowany przez kłębuszki nerkowe, co wskazuje na to, że stężenie hepcydyny w osoczu odzwierciedla intensywność jej syntezy [1, 3].

Gen hepcydyny (*HAMP*, *hepcidin antimicrobial peptide*), zlokalizowany u człowieka w chromosomie 19q13, koduje 84-aminokwasową preprohepcydynę, z której pod wpływem konwertaz powstaje 60-aminokwasowa prohepcydyna, natomiast bioaktywną substancją jest 25-aminokwasowa hepcydyna, powstająca pod wpływem proteaz, obecna w osoczu i wykrywana w ludzkim moczu. Oprócz tej formy w moczu stwierdza się również obecność mniejszych, 20- i 22-aminokwasowych postaci, które prawdopodobnie są produktami degradacji i nie pełnią fizjologicznej roli [1, 5].

Hepcydyna jest hormonem, który wiąże się z ferroportyną i wyzwała fosforylację jej reszt tyrozynowych, powodując jej internalizację i degradację w lizosomach. Przez usu-

►► **Nadmiar żelaza i stan zapalny indukują produkcję hepcydyny, podczas gdy niedobór żelaza, niedotlenienie i nasilona erythropoeza hamują jej syntezę**◀◀

►► **Podwyższone stężenie hepcydyny u osób z niewydolnością nerek jest wynikiem stanu zapalnego i upośledzenia filtracji kłębuszkowej**◀◀

»Obniżenie stężenia hepcydyny przez erytropoetynę podawaną chorym z niewydolnością nerek jest dodatkowym czynnikiem skutecznego leczenia niedokrwistości«

wanie ferroportyny z błony komórkowej hepcydyna wyłącza komórkowy eksport żelaza, co ma szczególne znaczenie w komórkach jelitowych, gdzie internalizacja ferroportyny prowadzi do retencji żelaza w komórce nabłonkowej i do jego usunięcia z organizmu wraz ze złuszczeniem dojrzałego enterocyta do światła jelita. Z kolei w makrofagach, które są głównym dostarczycielem żelaza dla erytropoezy, inaktywacja ferroportyny przerywa uwalnianie żelaza odzyskanego ze sfagocytowanych erytrocytów, powodując jego uwięzienie wewnątrz komórek żernych. Oba zdarzenia mają ten sam efekt: obniżenie osoczowego stężenia żelaza. Z odwrotną sytuacją mamy do czynienia w przypadku niedoboru hepcydyny, gdy obserwuje się zwiększoną jelitową absorpcję żelaza i jego zwiększony wypływ z makrofagów [3].

Powyzszą funkcję hepcydyny udowodniono w wielu badaniach doświadczalnych. Wykazano, że iniekcja pojedynczej dawki syntetycznej 25-aminokwasowej hepcydyny indukuje głęboką hipoferremię u myszy, stwierdzaną już po godzinie i utrzymującą się przez następne 48–72 godziny (czas potrzebny na odtworzenie ferroportyny) [6]. Myszy z nadprodukcją hepcydyny umierają przed osiągnięciem dojrzałości z powodu ciężkiego niedoboru żelaza [7]. Z kolei myszy pozbawione genu *HAMP* prezentują fenotyp typowy dla hemochromatozy [8].

W regulacji ekspresji ferroportyny na poziomie komórkowym poza hepcydyną biorą udział białka regulujące obrót żelaza (IRP, *iron regulatory proteins*), które uczestniczą w regulacji syntezy również innych białek zaangażowanych w homeostazę żelaza (jak ferrytyna czy receptor transferyny 1 [*TfR1*, *transferrin receptor 1*]). mRNA ferroportyny zawiera domenę regulowaną żelazem (IRE, *iron-responsive element*), z którą wiążą się IRP, gdy zawartość żelaza w komórce jest niska. W wyniku połączenia IRP z IRE mRNA ferroportyny translacja z udziałem tego mRNA zostaje wstrzymana, co skutkuje zahamowaniem syntezy ferroportyny i ograniczeniem eksportu żelaza. Podobnie IRE znajduje się w obrębie mRNA dla *DMT1*, jednak tutaj związanie z IRP stabilizuje mRNA i skutkuje nasileniem syntezy *DMT1*, a w konsekwencji zwiększeniem napływu żelaza ze światła jelita do komórki [9].

Poza internalizacją ferroportyny hepcydyna może również bezpośrednio hamować proliferację komórek szeregu erytroidalnego i ich przeżycie [10].

Regulacja syntezy hepcydyny

Ekspresja hepcydyny jest zmienna i zależy przede wszystkim od stanu ustrojowej gospodarki żelazem, ale wpływ na aktywność hormonu mają również inne czynniki, jak erytropoetyna (EPO, *erythropoietin*), niedotlenienie czy obecność stanu zapalnego, i to niezależnie od ustrojowych zapasów żelaza.

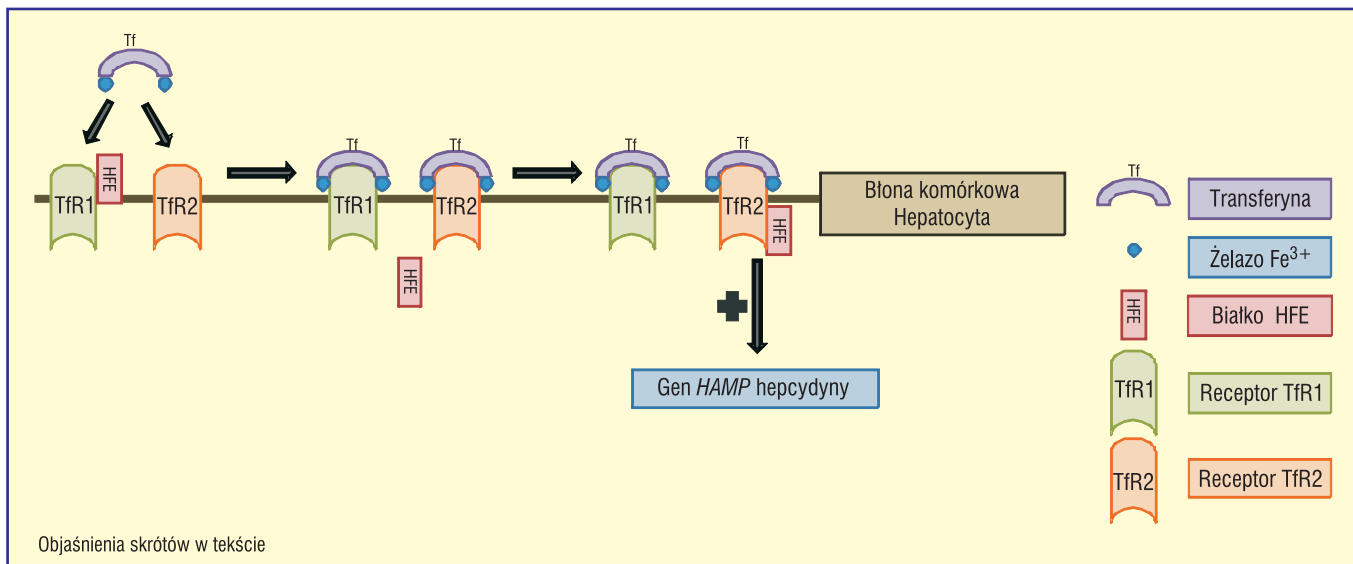
Wpływ żelaza na syntezę hepcydyny

W odpowiedzi na powiększające się zapasy żelaza wątroba produkuje hepcydynę, która hamuje jego jelitową absorpcję i zapobiega dalszemu nadmiernemu gromadzeniu. W przenoszeniu sygnału pobudzającego intensywność syntezy hepcydyny w tej sytuacji jest zaangażowanych wiele białek, wśród których najlepiej poznano: białko HFE (*high Fe, human hemochromatosis protein*), receptor transferyny 1 i 2, białko morfogenetyczne kości 6, hemojuwelinę (HJV, *hemojuvelin*) i transferynę (ryc. 2, 3).

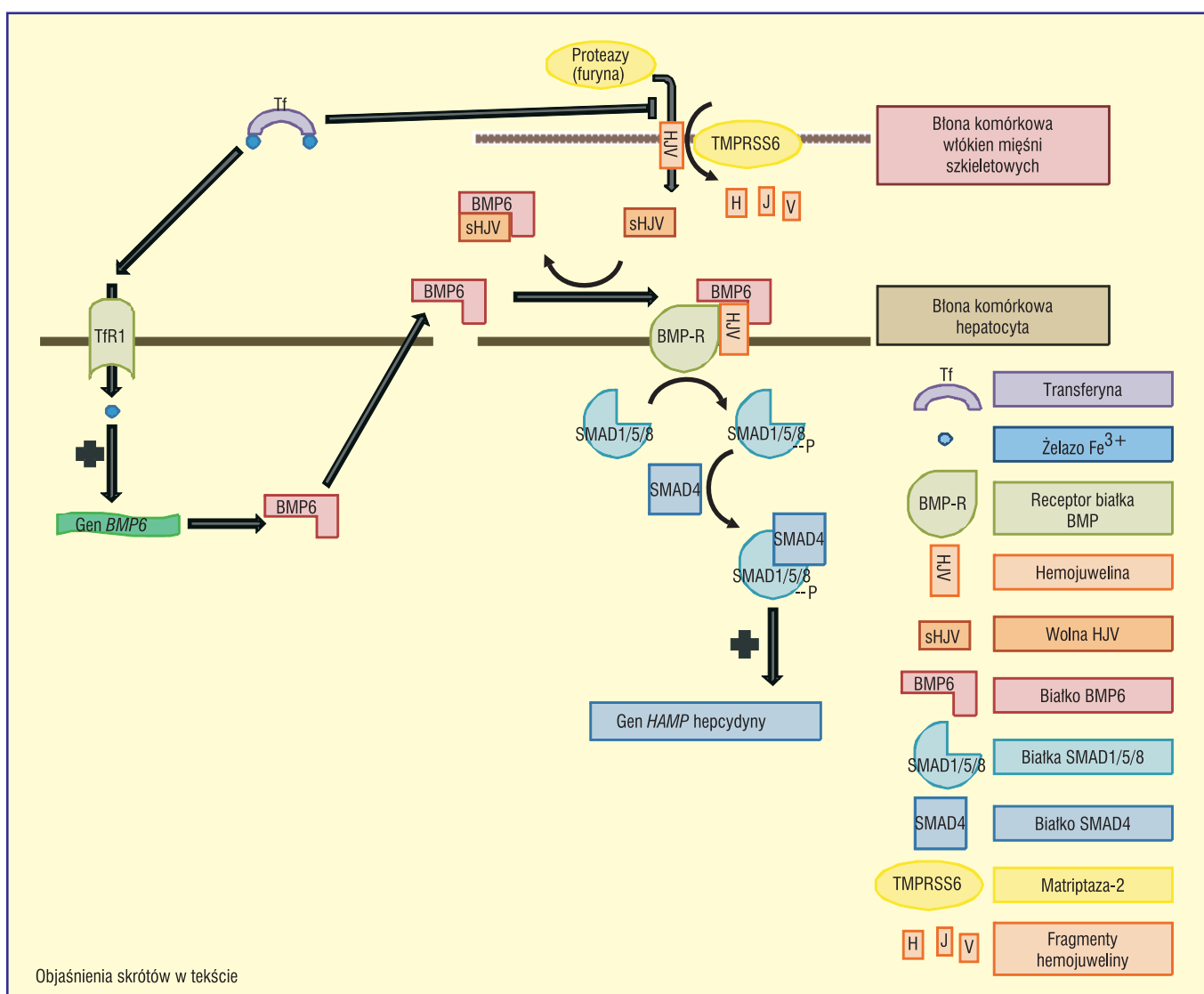
W zmianie ekspresji hepcydyny, zależnie od zawartości żelaza, pośredniczą białka morfogenetyczne kości (BMP, *bone morphogenetic proteins*), które należą do cytokin z rodziny transformującego czynnika wzrostu (TGF- β , *transforming growth factor beta*) i odgrywają ważną rolę na różnych etapach rozwoju organizmu, biorąc udział w neuro-, chondro- i osteogenezie. Szczególną rolę w regulacji syntezy hepcydyny odgrywa białko BMP6. Działa ono auto- lub parakrynnie. Przez związanie się ze swoim receptorem na powierzchni komórki wątrobowej powoduje fosforylację białek sygnałowych SMAD1/5/8 (białka przenoszące sygnał do jądra komórkowego; nazwa pochodzi z połączenia nazw dwóch homologicznych białek Sma i MAD, które występują odpowiednio u *Caenorhabditis elegans* i *Drosophila melanogaster*). Kompleks ten w następnym etapie przyłącza białko SMAD4 i przemieszcza się do jądra komórkowego, gdzie stymuluje transkrypcję genu hepcydyny [11]. Zaobserwowano, że wzrost stężenia żelaza u myszy powoduje zwiększoną ekspresję mRNA BMP6, a myszy pozbawione genu BMP6 wykazują objawy przeładowania ustroju żelazem [11, 12]. Szlak BMP jest modulowany przez HJV, białko błonowe kodowane przez gen HFE2, obecne w mięśniach szkieletowych, hepatocytach i sercu. Hemojuwelina na powierzchni komórek wątrobowych funkcjonuje jako koreceptor dla BMP, wzmacniając przenoszenie sygnału przez ten szlak sygnałowy. W surowicy krwi stwierdzono również rozpuszczalną postać HJV

»Obecnie nie ma dobrego testu laboratoryjnego dla oznaczania hepcydyny w płynach ustrojowych«

»W przyszłości oznaczanie stężenia hepcydyny może się stać cennym uzupełnieniem dotychczas stosowanych badań laboratoryjnych oceniających gospodarkę żelazem«



Rycina 2. Regulacja syntezy hepcydyny w komórce wątrobowej przez białko hematochromatozy i receptor transferyny 2



Rycina 3. Regulacja syntezy hepcydyny w komórce wątrobowej przez białka morfogenetyczne kości i hemojuwelinę

(sHJV, *soluble HJV*), która jest uwalniana z błony komórkowej, głównie mięśni szkieletowych, przez proteazę — furynę. Rozpuszczalna postać HJV wiąże się z białkiem BMP6, uniemożliwiając jego zwiążenie się z receptorem na błonie komórkowej hepatocytu, w efekcie czego stężenie hepcydyny jest niskie [4, 11]. Potwierdzono, że uwalnianie HJV jest regulowane stopniem saturacji transferyny i wynika z zapotrzebowania komórki mięśniowej na żelazo do syntezy mioglobiny w czasie dojrzewania miocyta lub jego niedotlenienia (np. w czasie wysiłku fizycznego). Podanie żelaza powoduje zmniejszenie aktywności furyny i redukcję uwalniania HJV, w efekcie czego wzrasta stężenie hepcydyny [13].

Ostatnie lata przyniosły również odkrycie, że HJV jest jednym z ważniejszych substratów dla proteazy serynowej, matriptazy-2, kodowanej przez gen *TMPRSS6* i zlokalizowanej w obrębie błony komórkowej hepatocytów i mięśni szkieletowych. Enzym ten rozszczepia błonową HJV, w efekcie powstają prawdopodobnie jej nieaktywne fragmenty, a aktywność błonowej HJV jako koreceptora dla BMP6 zmniejsza się, co skutkuje spadkiem produkcji hepcydyny. Mutacje genu *TMPRSS6* powodują z kolei zwiększoną ekspresję błonowej HJV i nadmierną stymulację syntezy hepcydyny — stan ten nazywamy żelazooporną niedokrwistością z niedoboru żelaza (*IRIDA, iron-refractory iron deficiency anemia*) [14]. Wyjaśnienia wymagają mechanizmy, które regulują aktywność matriptazy 2. Obecnie nie wiadomo, czy wpływa na nią zawartość żelaza w ustroju, a być może stymulatorem jej aktywności jest spadek prężności tlenu. Poza tym nie jest jasna biologiczna funkcja odszczepionych fragmentów błonowej HJV — prawdopodobnie nie mają one znaczenia jako antagoniści białka BMP6, ale kwestia ta wymaga dalszych badań.

Regulacja produkcji hepcydyny w zależności od zawartości żelaza w ustroju odbywa się również za pośrednictwem białka HFE oraz TfR1 i TfR2. Receptory te różnią się lokalizacją — TfR1 są obecne na powierzchni większości komórek, biorąc udział w przenoszeniu żelaza z puli krążącej do wnętrza komórki, natomiast TfR2 znajdują się głównie na powierzchni hepatocytów i wykazują około 30-krotnie mniejsze powinowactwo do transferyny niż TfR1 [15]. Dodatkowo oba typy receptorów wiążą różne domeny w obrębie białka HFE, co ma znaczenie w regulacji syntezy hepcydyny w wątrobie. Wykazano bowiem, że białko HFE i transferyna wysyczona żelazem konkurują o miejsce wią-

żące w obrębie TfR1. Wyższe stężenia krążącego żelaza związanego z transferyną skutkują dysocjacją kompleksu HFE i TfR1 i wiązaniem się uwolnionego HFE z TfR2 [16]. Z kolei TfR2 jest białkiem ulegającym szybkiemu rozkładowi. Dopiero jego zwiążenie z transferyną wysyczoną żelazem zapewnia mu stabilizację. W dalszym etapie powstały kompleks TfR2-Tf łączy się z białkiem HFE uwolnionym z TfR1, co skutkuje przeniesieniem sygnału do wnętrza komórki i zwiększeniem produkcji hepcydyny [17]. Wykazano ponadto, że białko HFE hamuje wchłanianie żelaza w enterocytach i jego uwalnianie z makrofagów niezależnie od TfR2, jednak mechanizmy tych działań są niejasne [18].

Dalszych badań wymaga także wyjaśnienie wzajemnych relacji między obydwoma szlakami regulującymi produkcję hepcydyny, w zależności od wysycenia transferyny żelazem. Nie wiadomo również, jakie białka są zaangażowane w przeniesienie sygnału między kompleksem TfR2-Tf-HFE a genem hepcydyny w komórce wątrobowej.

Wpływ czynników pobudzających erytropoezę na syntezę hepcydyny

Od dawna wiadomo, że wzrost stężenia erytropoetyny nasila wchłanianie żelaza, jednak dopiero w ostatnim czasie częściowo poznano mechanizmy zaangażowane w ten szlak regulacyjny.

Erytropoetyna, wiążąc się z receptorem (EPO-R, *EPO receptor*) na powierzchni hepatocytów, hamuje ekspresję hepcydyny w tych komórkach. Przeniesienie sygnału z receptora do promotora hepcydyny odbywa się za pośrednictwem czynnika transkrypcyjnego C/EBP- α (*CCAAT-enhancer-binding protein*). Niemniej, część badaczy sugeruje, że EPO nie wywiera bezpośredniego wpływu na produkcję hepcydyny, działając raczej poprzez wzrost erytropoezy w szpiku, co szybko zmniejsza osoczowe stężenie żelaza i pośrednio oddziałuje na ekspresję hepcydyny [18].

W hamowaniu syntezy hepcydyny w stanach nasilonej erytropoezy pośredniczy również czynnik wzrostu i różnicowania 15 (*GDF15, growth differentiation factor 15*). Jest on wydzielany przez erytroblasty w końcowych stadiach erytropoezy i hamuje produkcję hepcydyny. Jego aktywność negatywnie koreluje z zawartością żelaza wewnątrz komórki, co pozostaje w zgodzie z wcześniejszymi sugestiami, wiążącymi nasilenie erytropoezy ze zwiększeniem wchłaniania żelaza i jego uwalniania z magazynów ustrojowych [18].

Wpływ hipoksji na syntezę hepcydyny

Kolejnym czynnikiem hamującym syntezę hepcydyny w komórce wątrobowej jest niedotlenienie organizmu. Główną rolę w tym procesie odgrywa indukowany hipoksją czynnik 1 (HIF1, *hypoxia-inducible factor 1*), którego aktywność zależy od prężności tlenu. Gdy prężność tlenu rośnie, białko HIF1 jest modyfikowane przez hydroksylazy, co skutkuje jego degradacją, natomiast w przypadku niedotlenienia rozkład HIF1 jest zahamowany. W efekcie obserwuje się akumulację HIF1, jego translokację do jądra komórkowego i regulację transkrypcji wielu genów, w tym wiązanie się z promotorem genu hepcydyny i zahamowanie produkcji hormonu [19].

Wpływ stanu zapalnego na syntezę hepcydyny

Zaburzenia metabolizmu żelaza, charakterystyczne dla przewlekłego stanu zapalnego, są wynikiem działania nie tylko cytokin zapalnych, ale i hepcydyny [20]. Wzrost jej stężenia stwierdzany w przewlekłym stanie zapalnym można traktować jako nieswoistą strategię obrony organizmu, mającą na celu ograniczenie dostępności żelaza dla mikroorganizmów.

Przyczyny niedokrwistości w przypadku chorób z towarzyszącym przewlekłym stanem zapalnym są wielorakie. Po pierwsze, podczas przewlekłego stanu zapalnego zwiększa się tempo erytofagocytozy jako następstwo aktywacji makrofagów i zmian w błonie komórkowej erytrocytów. Efekty te są powodowane głównie przez czynnik martwicy guza α (TNF- α , *tumor necrosis factor alfa*) i wiążą się ze skróceniem czasu przeżycia erytrocytów. Ponadto wpływ żelaza z makrofagów i jego wchłanianie w dwunastnicy są ograniczone jako wynik inaktywacji mRNA ferroportyny przez IRP, zwiększonej sekrecji hepcydyny i w efekcie redukcji ilości ferroportyny obecnej na powierzchni komórek. Zaburzenia te są indukowane przez cytokiny prozapalne (zwłaszcza IL-1 i TNF- α) i powodują sekwestrację żelaza w makrofagach i zmniejszenie jego wchłaniania z następowym ograniczeniem jego dostępności dla komórek progenitorowych szlaku erytropoetycznego. Cytokiny prozapalne dodatkowo hamują proliferację komórek progenitorowych erytrocytów [1].

Wykazano, że syntezę hepcydyny pobudza iniekcja lipopolisacharydu z błon komórkowych bakterii Gram- [21] lub infuzja interleukiny 6 [22]. Interesujące jest wykrycie

nasilonej syntezy hepcydyny w stanach przewlekłego zapalenia nie tylko w hepatocytach, ale także w komórkach szpiku kostnego i w pobudzonych splenocytach. Ta synteza jest odpowiedzią na stymulację patogenami drobnoustrojów, prawdopodobnie przez aktywację receptorów Toll-podobnych. Znaczenie patofizjologiczne tego zjawiska nie jest jasne [23].

NIEDOKRWISTOŚĆ W PRZEWLEKŁEJ CHOROBY NEREK A HEPCYDYNA

U chorych z niewydolnością nerek niedokrwistość jest częstym objawem, ujawniającym się z czasem trwania choroby u ponad 90% chorych. Jest ona niezależnym czynnikiem ryzyka przerostu lewej komory, przyczyniając się do powikłań sercowo-naczyniowych. Jej główną przyczyną jest niedobór EPO. Wśród innych możliwych przyczyn wymienia się skrócony czas przeżycia erytrocytów, utajone lub jawne krwawienia, niedobory żelaza, kwasu foliowego i witaminy B12 oraz zwiększoną oporność szpiku na EPO [24].

W osoczu osób z przewlekłą chorobą nerek stwierdza się podwyższone stężenia prohepcydyny i hepcydyny, które są wynikiem stanu zapalnego, ale zależą również od stopnia upośledzenia filtracji kłębuszkowej, a u osób dializowanych — od resztkowej funkcji nerek i rodzaju leczenia nerkozastępczego (wyższe stężenia prohepcydyny u hemodializowanych niż u dializowanych otrzewnowo w swoich badaniach stwierdziła m.in. prof. Małyszko). Zaobserwowano, że osoczowe stężenie prohepcydyny osiąga wyższe wartości u osób z przewlekłą chorobą nerek i koreluje negatywnie ze współczynnikiem filtracji kłębuszkowej [25, 26]. Podobnie odwrotną korelację między stężeniem hepcydyny w osoczu chorych na przewlekłą chorobę nerek a przesączaniem kłębuszkowym (GFR, *glomerular filtration rate*) stwierdzili Zaritsky i Young [27]. Ponadto w innych badaniach wykazano dodatnią korelację między stężeniem hepcydyny i ferrytyny w surowicy — oba parametry są podwyższone w przypadku chorób zapalnych i obniżone w stanach niedoboru żelaza.

Leczenie niedokrwistości w przewlekłej chorobie nerek a hepcydyna

Wśród osób z przewlekłą chorobą nerek większość chorych dobrze reaguje na leczenie czynnikami erytropoetycznymi (ESA, *erythro-*

»Osoczowe stężenie prohepcydyny osiąga wyższe wartości u osób z przewlekłą chorobą nerek i koreluje negatywnie ze współczynnikiem filtracji kłębuszkowej«

▶▶Wśród pacjentów opornych na ESA należy wyróżnić osoby z bezwzględny niedoborem żelaza, u których stwierdza się niskie wartości ferrytyny i niskie wysycenie transferyny żelazem◀◀

poiesis-stimulating agents), niemniej u około 10% chorych stwierdza się oporność na ESA. Identyfikacja tych chorych ma duże znaczenie dla właściwego prowadzenia terapii niedokrwistości. Wśród pacjentów opornych na ESA należy wyróżnić osoby z bezwzględny niedoborem żelaza, u których stwierdza się niskie wartości ferrytyny i niskie wysycenie transferyny żelazem (TSAT, *transferin saturation*). W tym przypadku leczenie może być łatwo prowadzone po uzupełnieniu niedoborów żelaza. Jednak u większości chorych opornych na ESA stwierdza się sytuację przypominającą niedokrwistość chorób przewlekłych, z sekwestracją żelaza w makrofagach w wyniku działania cytokin zapalnych i hepcydyny. Stwierdza się wówczas niskie wartości TSAT oraz podwyższone ferrytyny i hepcydyny, hamującej uwalnianie żelaza z układu siateczkowo-śródbłonkowego i jego wchłanianie. Stan ten nazywa się czynnościowym niedoborem żelaza. Ostatnie doniesienia wskazują, że część tych pacjentów dobrze reaguje na dożylną podaż żelaza w zwiększonych dawkach, z jednoczesną podażą EPO, również w dużych dawkach, w celu zahamowania syntezy hepcydyny [27–30]. Mechanizm, dzięki któremu duże dawki żelaza pozajelitowego zmniejszają oporność na EPO, nie jest jasny. Sugeruje się, że makrofagi przeładowane żelazem mogą zwiększać błonową ekspresję ferroportyny [31]. Niemniej, odległe konsekwencje leczenia wysokimi dawkami żelaza nie są znane. Są doniesienia o zwiększonej predyspozycji do zakażeń i rozwoju miażdżycy w wyniku takiej terapii.

Z kolei chorzy z niskimi stężeniami hepcydyny prawdopodobnie dobrze zareagują na podawanie żelaza doustnie [27]. Obecnie określane wskaźniki gospodarki żelazowej, jak ferrytynemia i TSAT, niestety nie pozwalają przewidzieć, którzy z pacjentów z rozpoznaną niedokrwistością i z niedoborem żelaza dobrze odpowiedzą na leczenie doustne. Wydaje się, że to właśnie stężenie hepcydyny w surowicy może pomóc określić tych chorych.

OZNACZANIE STĘŻENIA HEPCYDYN W OSOCZU

Do niedawna nie było metod mierzenia stężenia hepcydyny w osoczu. W wielu badaniach mierzono stężenie prekursora — prohepcydyny — z użyciem testu ELISA, niemniej, wykazano brak korelacji między stężeniami prohormonu i hormonu w surowicy czy

w moczu [21, 32]. W wielu ośrodkach oceniano również stężenie hepcydyny w moczu. Choć w tym przypadku wykazano korelację między stężeniami w surowicy i w moczu, to jednak należy wziąć pod uwagę, że wydalanie hepcydyny z moczem zależy od wartości GFR i cewkowej reabsorpcji. Ponadto wykazano obecność mRNA hepcydyny w komórkach nerkowych, co sugeruje możliwość jej lokalnej syntezy i uwalniania do moczu [4].

Polecana obecnie metoda oznaczeń to spektrometria masowa, jednak jest ona metodą półilościową, a poza tym wymaga specjalistycznego sprzętu, który nie jest powszechnie dostępny [27, 33, 34]. W innej metodzie wykorzystuje się przeciwciała przeciw hepcydynie i kompetycję między hepcydyną radioznakowaną i oznaczaną w próbce [4]. Jednak porównując te dwie metody, stwierdzono, że wartości bezwzględne stężenia hormonu, oceniane tymi metodami, różnią się nawet 10-krotnie, co może wynikać po pierwsze z obecności 3 form hepcydyny (20-, 22- i 25-aminokwasowej), ale również z jej wiązania się w prawie 90% z α_2 -makroglobuliną, co ostatnio wykazano [35]. Nie jest jasne, za pomocą której z metod i z jaką dokładnością mierzy się stężenie hepcydyny całkowitej, wolnej i związanej [36]. Wymagane są więc dalsze badania dla standaryzacji oznaczeń oraz obniżenia ich kosztu, zanim będzie je można wprowadzić do codziennej praktyki klinicznej. Należy także zdefiniować, w którym płynie ustrojowym najlepiej oznaczać stężenie hepcydyny w diagnostyce klinicznej, aby uzyskiwane wyniki miały implikacje terapeutyczne.

PERSPEKTYWY WYKORZYSTANIA OZNACZANIA STĘŻENIA HEPCYDYN

Wartość pomiaru stężenia hepcydyny jako parametru gospodarki żelazem polega na tym, że hormon ów bezpośrednio determinuje dostępność tego metalu. Jej wykrycie umożliwiło zrozumienie mechanizmów wiążących stan zapalny z niedokrwistością, lepiej określając stan gospodarki żelazem niż każdy inny parametr, jak TSAT, sTfR (rozpuszczalny receptor transferyny) i białko C-reaktywne (CRP, *C-reactive protein*). Oczywiście jest, że wysokie stężenia hepcydyny pomogą określić chorych, którzy nie zareagują na leczenie doustnymi preparatami żelaza i będą wymagali jego parenteralnej podaży.

Próbowano, na podstawie stężenia hepcydyny, wyselekcjonować chorych dializowanych

▶▶Wartość pomiaru stężenia hepcydyny jako parametru gospodarki żelazem polega na tym, że hormon ten bezpośrednio determinuje dostępność tego metalu◀◀

niewrażliwych na ESA, jednak opublikowane badanie opierało się na małej grupie pacjentów [37]. Nie wykazano w nim takiego związku ani dla prohepcydyny ani dla hepcydyny. Prawdopodobnie należy przeprowadzić badania na większej grupie chorych. Obecnie pojedynczy pomiar stężenia hepcydyny przed rozpoczęciem leczenia niedokrwistości jest niewystarczający dla oceny wrażliwości na dożylną podaż żelaza czy ESA. Biorąc jednak pod uwagę, że stężenia hepcydyny zmieniają się szybko po włączeniu

leczenia, lepszym parametrem oceny terapii mogą być wczesne zmiany jej stężenia.

Sugeruje się, że w przyszłości obniżenie stężenia hepcydyny może być sposobem leczenia poprawiającego jelitowe wchłanianie żelaza i jego uwalnianie z makrofagów, w następstwie zmniejszając zapotrzebowanie na żelazo dożylnie i oporność na ESA. Postuluje się także używanie antagonistów hepcydyny u chorych z przewlekłą chorobą nerek dla obniżenia dawek EPO i w konsekwencji kosztów leczenia.

STRESZCZENIE

Ostatnie 10-lecie przyniosło znaczący wzrost wiedzy dotyczącej ustrojowej gospodarki żelazem, na co szczególnie wpływ miało odkrycie hepcydyny. Hormon ten, odkryty w 2000 roku, jest produkowanym w wątrobie 25-aminokwasowym polipeptydem i powoduje internalizację ferroportyny w enterocytach dwunastnicy, hamując wchłanianie żelaza w przewodzie pokarmowym. Z kolei inaktywacja ferroportyny w makrofagach skutkuje zahamowaniem uwalniania do krwi krążącego żelaza uwolnionego ze sfagocytowanych erytrocytów. Precyzyjna regulacja stężeń hepcydyny ma kluczowe znaczenie dla utrzymania

stężeń żelaza w wąskim, wymaganym przez ustrój, zakresie. Poza ustrojowymi zasobami żelaza na syntezę hormonu wpływają nasilenie erytropoezy i niedotlenienie organizmu, ale również — co ma duże znaczenie w niedokrwistości stanu zapalnego — cytokiny prozapalne, zwłaszcza interleukina 1, interleukina 6 i TNF- α . Oznaczanie stężeń hepcydyny w przyszłości może się stać ważnym parametrem w całościowej ocenie gospodarki żelazowej organizmu, wpływając również na podejmowane decyzje terapeutyczne.

Forum Nefrologiczne 2010, tom 3, nr 4, 233–242

Słowa kluczowe: żelazo, hepcydyna, ferroportyna, hemojuwelina, niedokrwistość

1. Beaumont C., Delaby C. Recycling iron in normal and pathological states. *Semin. Hematol.* 2009; 46: 328–338.
2. Shayeghi M., Latunde-Dada G.O., Oakhill J. i wsp. Identification of an intestinal heme transporter. *Cell* 2005; 122: 789–801.
3. Andrews N.C. Forging a field: the golden age of iron biology. *Blood* 2008; 112: 219–230.
4. Nemeth E. Targeting the hepcidin-ferroportin axis in the diagnosis and treatment of anemias. *Advances in Hematology*, vol. 2010, article ID 750643, doi: 10.1155/2010/750643.
5. Malyszko J. Hepcidin assays: ironing out some details. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2009; 4: 1015–1016.
6. Rivera S., Nemeth E., Gabayan V. i wsp. Synthetic hepcidin causes rapid dose-dependent hypoferrremia and is concentrated in ferroportin-containing organs. *Blood* 2005; 106: 2196–2199.
7. Nicolas G., Bennoun M., Porteu A. i wsp. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2002; 99: 4596–4601.
8. Viatte L., Lesbordes-Brion J.C., Lou D.Q. i wsp. Deregulation of proteins involved in iron metabolism in hepcidin-deficient mice. *Blood* 2005; 105: 4861–4864.
9. Ganz T. Iron homeostasis: fitting the puzzle pieces together. *Cell. Metabolism* 2008; 7: 288–290.
10. Dallalio G., Law E., Means R.T. Jr. Hepcidin inhibits *in vivo* erythroid colony formation at reduced erythropoietin concentrations. *Blood* 2006; 107: 2702–2704.
11. Andriopoulos B. Jr, Corradini E., Xia Y. i wsp. BMP6 is a key endogenous regulator of hepcidin expression and iron metabolism. *Nature Genetics* 2009; 41: 482–487.
12. Meynard D., Kautz L., Darnaud F. i wsp. Lack of the bone morphogenetic protein BMP6 induces massive iron overload. *Nature Genetics* 2009; 41: 478–481.
13. Silvestri L., Pagani L., Camaschella C. Furin-mediated release of soluble hemojuvelin: a new link between hypoxia and iron homeostasis. *Blood* 2008; 111: 924–931.
14. Lee P. Role of matriptase-2 (TMPRSS6) in iron metabolism. *Acta Haematol.* 2009; 122: 87–96.
15. West A.P., Bennett M.J., Sellers V.M. i wsp. Comparison of the interactions of transferrin receptor and transferrin receptor 2 with the transferrin and the hereditary hemochromatosis protein HFE. *J. Biol. Chem.* 2000; 275: 38135–38138.
16. Goswami T., Andrews N.C. Hereditary hemochromatosis protein, HFE, interaction with transferrin receptor 2 suggests a molecular mechanism for mammalian iron sensing. *J. Biol. Chem.* 2006; 281: 28494–28498.
17. Schmidt P.J., Toran P.T., Gianetti A.M. i wsp. The transferrin receptor modulates HFE-dependent regulation of hepcidin expression. *Cell Metabolism* 2008; 7: 205–214.
18. Zhang An-Sheng, Enns C.A. Molecular mechanisms of normal iron homeostasis. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program.* 2009: 207–214.

Piśmiennictwo

19. Peyssonnaud C., Zinkernagel A.S., Schuepbach R.A. i wsp. Regulation of iron homeostasis by the hypoxia-inducible transcription factors (HIFs). *J. Clin. Invest.* 2007; 117: 1926–1932.
20. Weiss G., Goodnough L.T. Anemia of chronic disease. *N. Engl. J. Med.* 2005; 352: 1011–1023.
21. Kemna E., Pickkers P., Nemeth E. i wsp. Time-course analysis of hepcidin, serum iron, and plasma cytokine levels in humans injected with LPS. *Blood* 2005; 106: 1864–1866.
22. Nemeth E., Rivera S., Gabayan V. i wsp. IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J. Clin. Invest.* 2004; 113: 1271–1276.
23. Peyssonnaud C., Zinkernagel A.S., Datta V. i wsp. TLR4-dependent hepcidin expression by myeloid cells in response to bacterial pathogens. *Blood* 2006; 107: 3727–3732.
24. Donderski R., Kardymowicz A., Maniatus J. Niedokrwistość nerkopochodna. Wybrane aspekty diagnostyki i terapii. *Choroby Serca i Naczyń* 2009; 6: 82–93.
25. Taes Y.E., Wuyts B., Boelaert J.R. i wsp. Prohepcidin accumulates in renal insufficiency. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2004; 42: 387–389.
26. Malyszko J., Malyszko J.S., Pawlak K. i wsp. Hepcidin, iron status and renal function in chronic renal failure, kidney transplantation and haemodialysis. *Am. J. Hematol.* 2006; 81: 832–837.
27. Zaritsky J., Young B., Wang H.-J. i wsp. Hepcidin-a potential novel biomarker for iron status in chronic kidney disease. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2009; 4: 1051–1056.
28. Elliott J., Mishler D., Agarwal R. Hyporesponsiveness to erythropoietin: causes and management. *Adv. Chronic. Kidney Dis.* 2009; 16: 94–100.
29. Taylor J.E., Peat N., Porter C., Morgan A.G. Regular low-dose intravenous iron therapy improves response to erythropoietin in haemodialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1996; 11: 1079–1083.
30. Singh A.K., Coyne D.W., Shapiro W. i wsp. Predictors of the response to treatment in anemic hemodialysis patients with high serum ferritin and low transferrin saturation. *Kidney Int.* 2007; 71: 1163–1171.
31. Kapoian T., O'Mara N.B., Singh A.K. i wsp. Ferric gluconate reduces epoetin requirements in haemodialysis patients with elevated ferritin. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2008; 19: 372–379.
32. Kemna E.H.J.M., Kartikasari A.E.R., van Tits L.H.J. i wsp. Regulation of hepcidin: insights from biochemical analysis on human serum samples. *Blood Cells Mol. Dis.* 2007; 40: 339–346.
33. Kemna E.H.J.M., Tjalsma H., Podust V.N. i wsp. Mass spectrometry-based hepcidin measurements in serum and urine: analytical aspects and clinical implications. *Clin. Chem.* 2007; 53: 620–628.
34. Murphy A.T., Witcher D.R., Luan P. i wsp. Quantitation of hepcidin from human and mouse serum using liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Blood* 2007; 110: 1048–1054.
35. Peslova G., Petrak J., Kuzelova K. i wsp. Hepcidin, the hormone of iron metabolism, is bound specifically to alpha-2-macroglobulin in blood. *Blood* 2009; 113: 6225–6236.
36. Kroot J.J.C., Kemna E.H.J.M., Bansai S.S. i wsp. Results of the first international round robin for the quantification of urinary and plasma hepcidin assays: need for standardization. *Haematologica* 2009; 94: 1748–1752.
37. Kato A., Tsuji T., Luo J. i wsp. Association of prohepcidin and hepcidin-25 with erythropoietin response and ferritin in haemodialysis patients. *Am. J. Nephrol.* 2008; 28: 115–121.