

# Postavení hepcidinu v diagnostice a léčbě anémií

MUDr. Petra Bělohávková

II. interní klinika – oddělení klinické hematologie, FN a LF UK Hradec Králové

Hepcidin je malý peptidový hormon tvořený 25 aminokyselinami, který je syntetizován především v játrech. Hepcidin hraje v organizmu klíčovou roli v regulaci homeostázy železa. Účinek hepcidinu je zprostředkován regulací degradace jeho receptoru ferroportinu. Ferroportin představuje jediný buněčný exportér železa a narušení osy hepcidin-ferroportin má podíl na patogenezi vzniku řady anémií a na druhé straně na rozvoji přetížení železem. Syntéza hepcidinu je indukována nadbytkem železa, zánětem a inhibována erythropoezou či hypoxií. Stanovení hladiny hepcidinu by mohlo přispět v diagnostice různých forem anémií. Není vyloučeno, že v budoucnosti budou naše léčebné možnosti rozšířeny o léčbu agonisty nebo antagonisty hepcidinu.

**Klíčová slova:** hepcidin, ferroportin, metabolismus železa, anémie.

## *The role of hepcidin in the diagnosis and treatment of anemias*

Hepcidin is a small peptide hormone consisting of 25 amino acids that is predominantly synthesized in the liver. Hepcidin plays a key role in the regulation of iron homeostasis. Hepcidin acts by regulation of its receptor, ferroportin. Ferroportin presents the sole cellular iron exporter and the iron-hepcidin axis contribute to the pathogenesis of different anemias and on the other hand iron overload. Hepcidin synthesis is induced by iron overload, inflammation and suppressed by erythropoiesis or hypoxia. The possibility of hepcidin assays will be facilitated the diagnosis of different forms of anemias. It is also possible that in the future, our therapeutic experience will be enhanced by hepcidin-agonists or hepcidin-antagonists.

**Key word:** hepcidin, ferroportin, iron metabolism, anemia.

Med. praxi 2011; 8(3): 127–129

## Význam hepcidinu v regulaci homeostázy železa

Hepcidin je malý peptidový hormon, který byl náhodně objeven v roce 2000 Krausem (1) a nezávisle v roce 2001 Parkerem (2) při hledání nových antibakteriálních peptidů a jeho objev významně přispěl k objasnění pochoďů souvisejících s metabolismem železa (Fe). Hepcidin je nízkomolekulární peptid, který je syntetizován především v hepatocytech. Jeho malé množství vzniká také v některých ostatních buňkách (makrofágy, adipocyty), avšak v tomto případě nejsou jeho lokální a systémové účinky zcela jasné. Stejně jako u většiny peptidových hormonů nejprve vzniká větší molekula složená z 84 aminokyselin tzv. preprohepcidin, který je dále zpracován v játrech na prohepcidin. Prohepcidin, který je složen z 60 aminokyselin, ještě nemá regulační vlastnosti. Proteolytickým štěpením vzniká bioaktivní hepcidin, který je složen z 25 aminokyselin. Uvolněný hormon cirkuluje v plazmě vázaný na  $\alpha_2$ -makroglobulin a je vylučován především ledvinami. Při normální funkci ledvin hladina hepcidinu v moči velmi dobře koreluje s jeho hladinou v plazmě.

Hepcidin hraje zásadní roli v udržování homeostázy železa inhibicí exportu železa z některých buněk a porucha jeho regulace vede k mnoha abnormalitám v metabolismu železa. Chronické zvýšení hepcidinu vede ke vzniku anémie s nedostatkem železa a naopak nedo-

statek hepcidinu způsobuje přetížení organizmu železem s ukládáním železa v játrech a v ostatním parenchymu (3). Mechanismus účinku hepcidinu je zprostředkován regulací koncentrace jeho receptoru ferroportinu. Po vazbě hepcidinu na ferroportin dochází k jeho rychlé internalizaci a degradaci v lysosomech s nemožností uvolnění železa do plazmy. Ferroportin představuje jediný buněčný exportér železa a je exprimován v různých tkáních: na enterocytech duodena, makrofázích sleziny a jater, hepatocytech a na placentárních trofoblastech. Je zajímavé, že ferroportin je také exprimován na erytrocytárních prekurzorech, ale zde jeho fyziologický význam není zcela objasněn (4).

## Mechanismy regulace hepcidinu

Hladina hepcidinu je homeostaticky regulována nejméně třemi nezávislými mechanismy: železem, erythropoetickou aktivitou a zánětem. Zvýšená hladina plazmatického a zásobního železa stimuluje produkci hepcidinu, který zpětnou vazbou blokuje vstřebávání železa z potravy ve střevě a jeho uvolňování ze zásob. Při nedostatku železa je naopak syntéza hepcidinu suprimována a zvyší se příjem železa ve střevě a rovněž dojde k jeho uvolnění ze zásob. Tato zpětná vazba mezi hepcidinem a hladinou železa se snaží zajistit stabilní plazmatickou hladinu železa.

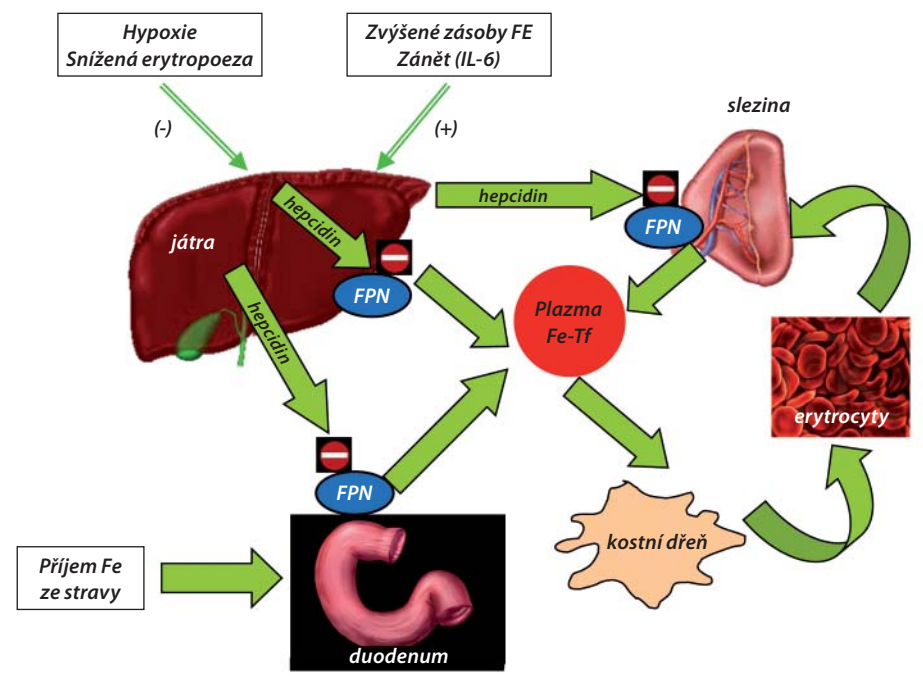
Hepcidin je pravděpodobně regulován železem nejen extracelulárním (Fe vázané v plazmě

na transferin), ale i Fe intracelulárním. Zdá se, že důležitou roli v endogenní regulaci hepcidinu hraje komplex „bone morphogenetic protein“ (BMP6), jehož koreceptorem je hemojuvelin. Mutace hemojuvelinu vedou k rozvoji přetížení železem (5, 6). Detekce koncentrace železa navázaného na transferin závisí na transferinovém receptoru 2 (Trf2) a HFE proteinu. Mutace v těchto molekulách vedou ke vzniku hereditární hemochromatózy se známkami přetížení železem.

Druhý mechanismus, který se spolupodílí na regulaci hepcidinu, představuje erythropoetická aktivita. Zvýšená erythropoetická aktivita je silným supresorem produkce hepcidinu. Ve studiích bylo prokázáno, že jedna injekce rekombinantního erythropoetinu dramaticky během 24 hodin sníží hladinu hepcidinu (7). Samotný erythropoetin není však přímým regulátorem exprese hepcidinu. V této oblasti regulace je mnoho nejasností, ale účinek je přisuzován dvěma proteinům, které jsou produkovány erytrocytárními prekurzory (GDF15 = growth differentiation factor a TWSG1 = twisted gastrulation protein) (8, 9). Stále nejasná je také fyziologická regulace hepcidinu prostřednictvím hypoxie. Je možné, že hlavní význam hypoxie v homeostáze železa je ve zvýšení produkce erythropoetinu v ledvinách, což vede k proliferaci erytrocytární řady a následné supresi exprese hepcidinu.

Syntéza hepcidinu je dramaticky zvýšena při zánětu a infekci mechanismy, které nezávisí

Obrázek 1. Regulace metabolismu železa interakcí hepcidin-feroportin



FPN – ferroportin; Fe-Tf – železo vázané na transferin; IL-6 – interleukin 6

Tabulka 1. Diagnostické a léčebné možnosti hepcidinu

| Onemocnění                                        | Hladina hepcidinu    | Parametry železa                       | Léčba hepcidinem |
|---------------------------------------------------|----------------------|----------------------------------------|------------------|
| Anémie s nedostatkem železa                       | nízká                | nízká satTRF<br>nízký feritin          |                  |
| Anémie s nedostatkem železa refrakterní na železo | vysoká               | nízká satTRF<br>nízký feritin          | antagonista      |
| Anémie doprovázené přetížením železem             | nízká (do transfuze) | vysoká satTRF<br>vysoký feritin        | agonista         |
| Anémie při zánětu                                 | vysoká               | nízká satTRF<br>norm. x vysoký feritin | antagonista      |
| Kombinovaná anémie (nedostatek železa + zánět)    | normální             | nízká satTRF<br>nízký x norm. feritin  | antagonista      |
| Anémie u chronických onemocnění ledvin            | vysoká               | různé                                  | antagonista      |

satTRF – saturace transferinu

na železe nebo erythropoetické aktivitě. Klíčovou roli zde hraje interleukin-6 (IL-6). Výsledkem je zadržení železa v makrofázích a jeho snížené vstřebávání. Jedná se o obranný mechanismus organismu, který se snaží železo neposkytnout invadujícímu mikroorganismu (10).

Role hepcidinu u anémií

Expres hepcidinu je výsledkem celé řady interakcí mezi různými podněty, které zahrnují parametry železa, erythropoetickou a zánětlivou aktivitu. Z této skutečnosti plyne, že hladiny hepcidinu se u různých forem anémií značně liší a mohou mít tak diferenciatně-diagnostický přínos.

Anémie s nedostatkem železa

U tohoto typu anémie je hladina sérového i močového hepcidinu výrazně snížena. Velmi

nízká exprese hepcidinu je pravděpodobně způsobena chyběním stimulačního účinku železa a supresí eryroidních faktorů. Hladina hepcidinu se jeví jako velmi citlivý indikátor nedostatku železa ještě před rozvojem anémie. Z tohoto důvodu bylo zvažováno měření hladiny hepcidinu při vyšetřování dárců krve s cílem neodebírat dárce s nedostatečnými zásobami železa.

Anémie s nedostatkem železa refrakterní na železo

Jedná se o velmi vzácný typ hereditární mikrocytární hypochromní anémie, který je refrakterní na orální léčbu železem, ale reaguje na léčbu parenterálním železem. Molekulární příčina vzniku byla popsána teprve nedávno. Příčinou vzniku je mutace v supresoru hepcidinu

(TMPRSS6), což vede ke zvýšení hladiny hepcidinu a chronické inhibici absorpce železa.

Anémie refrakterní na železo u paraneoplastické produkce hepcidinu

Tento typ velmi raritní anémie byl popsán u velkých adenomů jater. Pacienti měli střední až závažnou mikrocytární anémii nereagující na orální přísun železa a pouze částečně na parenterální podávání železa s následnou rychlou úpravou anémie po resekci tumoru.

Anémie doprovázené přetížením železem

U těchto anémií, ke kterým řadíme např. β-thalasemii nebo kongenitální dyserythropoetickou anémii, je hladina sérového a močového hepcidinu významně snížena při absenci transfuzí. Tato nízká hladina hepcidinu umožní velký příjem železa a následně rozvoj systémového přetížení železem. Jak bylo dříve uvedeno, důležitý vliv na supresi hepcidinu zde mají erythropoetické faktory (GD15 a TWSG1). Stanovení hladiny hepcidinu u této skupiny pacientů by mohlo přispět k včasnému odhalení přetížení železem a v budoucnosti by situaci léčebně ovlivnily agonisté hepcidinu. U chronicky transfundovaných pacientů bývá hladina hepcidinu vyšší. U netransfundovaných pacientů dominuje ukládání železa v hepatocytech a u transfundovaných pacientů v makrofázích, kde je pro organismus o něco méně toxické.

Anémie při zánětech

U zánětlivých chorob je produkce hepcidinu stimulována cytokiny, a to především IL-6. Zvýšená hladina hepcidinu byla prokázána u infekčních a revmatologických chorob, mnohočetného myelomu nebo jiných kritických stavů (popáleniny, sepse atd.). Hepcidin je významným mediátorem rozvoje této anémie, ale není zcela jasné, zda hepcidin je zcela nepostradatelný pro nastartování procesu. Zvýšená hladina hepcidinu vede ke sníženému toku železa do plazmy, zvýšenému deponování železa v jaterních buňkách a makrofázích a snížené nabídce železa pro syntézu hemoglobinu. Vyšetření hladiny hepcidinu u anémie s hypoferemií může přispět k rozlišení mezi anémií s nedostatkem železa a anémií doprovázející záněty.

Anémie u chronických onemocnění ledvin

Za hlavní patogenetický mechanismus u této anémie byl ještě nedávno považován primární

nedostatek erythropoetinu. Vzhledem k tomu, že vysoké dávky erythropoetinu vždy nemají pozitivní léčebnou odpověď, byly hledány další mechanismy vzniku této anémie. Zvýšený zájem o roli hepcidinu vzbudila rovněž skutečnost, že u některých pacientů má podávání vysokých dávek železa intravenózně kladný léčebný efekt. Velmi často se tento typ anémie kombinuje s anémií při zánětu. Při absenci zánětu měli pacienti zvýšené hladiny hepcidinu v důsledku jeho sníženého vylučování s následnou akumulací hepcidinu v organismu. Snížená léčebná odpověď na léčbu erythropoetinem bývá často důsledkem zánětu a významnou roli zde mohou hrát i hladiny hepcidinu, proto jsou zvažovány studie, které by tuto teorii mohly potvrdit.

### Současnost a budoucnost hepcidinu v diagnostice a léčbě anémií

Stanovení hladiny hepcidinu v séru nebo moči by jistě v praxi rozšířilo naše možnosti diagnostického programu anémií (tabulka 1). Hladiny hepcidinu reagují na změny parametřů metabolismu železa rychleji než hladina feritinu. Problémem mohou být jeho denní výkyvy (nižší hladina dopoledne a vyšší odpoledne) a senzitivita na aktuální množství železa v potravě. Hladinu hepcidinu lze vyšetřit metodou hmotnostní spektrometrie (Swinkles 2007) nebo imunoanalytickým vyšetřením metodou ELISA (Ganz 2008, Brugnara 2008) (11, 12). Vyšetřování hladiny hepcidinu není zcela

jednoduché, proto se zatím v rutinní praxi neprovádí. Je třeba získat větší zkušenosti s metodami vyšetření, jejich standardizací a interpretací výsledků na větších souborech pacientů. Výzkum se také věnuje otázce vývoje agonistů a antagonistů hepcidinu, jejichž efekt se v současnosti ověřuje ve studiích na zvířecích modelech. Agonisté hepcidinu by mohly být užívány v léčbě netransfundovaných pacientů s  $\beta$ -thalasemií s cílem zabránit rozvoji přetížení železem. Naopak léčebný efekt antagonistů hepcidinu je očekáván u anémií, které jsou doprovázeny zvýšenými hladinami hepcidinu (tabulka 1).

### Závěr

Pokroky v pochopení klíčové role interakce osy hepcidin-ferroportin v regulaci metabolismu železa přispěly k objasnění patogenetických mechanismů rozvoje všech anémií. Regulační mechanismy hepcidinu však nejsou ještě zcela objasněny. V blízkém období lze očekávat, že možnost vyšetření hladiny hepcidinu rozšíří naše diagnostické, prognostické i léčebné možnosti u řady anémií.

### Literatura

1. Krause A, Neitz S, Margert HJ, et al. LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett* 2000; 480(2–3): 147–150.
2. Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *Journal of Biol. Chem.* 2001; 276(11): 7806–7810.
3. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, et al. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004; 306: 2090–2093.

4. Nemeth E. Targeting the Hepcidin-Ferroportin Axis in the Diagnosis and Treatment of Anemias. *Advances in Hematology* 2010; 2010: 750643–750651.
5. Babitt JL, Juany FW, Wrighting DM, et al. Bone morphogenetic protein signaling by hemojuvelin regulates hepcidin expression. *Nature Genetics* 2006; 38(5): 531–539.
6. Andriopoulos B, Corradini E, Xia Y, et al. BMP6 is a key endogenous regulator of hepcidin expression and iron metabolism. *Nature Genetics* 2009; 41(4): 482–487.
7. Ashby DR, Gale DP, Busbridge M, et al. Erythropoietin administration in humans causes a marked and prolonged reduction in circulating hepcidin. *Haematologica* 2010; 95(3): 505–508.
8. Tanno T, Bhanu NV, Oneal PA, et al. High levels of GDF15 in thalassemia suppress expression of the iron regulatory protein hepcidin. *Nature* 2007; 13(9): 1096–1101.
9. 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): 181–186.
10. Ganz T. Molecular pathogenesis of anemia of chronic disease. *Pediatric Blood and Cancer* 2006; 46(5): 554–557.
11. Kemna EHJM, Tjalsma H, Podust VN and Swinkels DW. Mass spectrometry-based hepcidin measurements in serum and urine: analytical aspects and clinical implications. *Clinical Chemistry* 2007; 53(4): 620–628.
12. Ganz T, Olbina D, Girelli D, Nemeth E, Westerman M. Immunoassay for human serum hepcidin. *Blood* 2008; 112(10): 4292–4297.

Článek přijat redakcí: 14. 1. 2011

Článek přijat k publikaci: 18. 2. 2011

**MUDr. Petra Bělohávková**  
II. interní klinika – oddělení klinické hematologie FN a LF UK  
Sokolská 581, 500 05 Hradec Králové  
belohlavkova@fnhk.cz

