

HEPCYDYNA – HORMON UCZESTNICZĄCY W REGULACJI METABOLIZMU ŻELAZA W ORGANIZMIE*

HEPCIDIN – HORMONE TAKING PART IN THE REGULATION
OF IRON METABOLISM IN THE BODY

Ewa SOKOŁOWSKA, Jerzy KLIMEK

Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Akademia Medyczna w Gdańsku

Streszczenie: Hecpodyna jest przeciwbakteryjnym peptydem syntetyzowanym głównie w hepatocytach i wydzielanym do krążenia w postaci prohormonu. Najnowsze badania wykazały, że hepcodyna jest hormonem regulującym homeostazę żelaza w organizmie. Brak ekspresji genu hepcodyny prowadzi do nadmiernego gromadzenia się żelaza w organizmie, podczas gdy zwiększona ekspresja związana jest z niedoborem żelaza prowadzącym do pojawienia się niedokrwistości. Synteza hepcodyny jest stymulowana przez zwiększoną zawartość żelaza w diecie lub stany zapalne, natomiast niedobór żelaza w diecie, anemia i hipoksja hamują syntezę tego peptydu. Badania wskazują, że hepcodyna jest negatywnym regulatorem wchłaniania żelaza pokarmowego oraz uwalniania żelaza z makrofagów układu siateczkowo-śródbłonkowego. Zależność pomiędzy żelazem i hepcydyną ulega zaburzeniu u pacjentów z hemochromatozą i niedokrwistością chorób przewlekłych. Dokładne poznanie roli hepcodyny może prowadzić do zastosowania nowych metod leczenia zaburzeń metabolizmu żelaza.

Słowa kluczowe: hepcodyna, metabolizm żelaza, niedokrwistość chorób przewlekłych, HFE, hemochromatoza.

Summary: Hecpidin is an antimicrobial peptide mainly synthesized in hepatocytes and released into circulation as a prohormone. Recent evidence shows that hepcidin is the hormone regulating iron homeostasis in the body. The lack of the hepcidin expression results in iron overload and overexpression of the hepcidin has been associated with iron deficiency anemia. The synthesis of the hepcidin is stimulated by high iron diet or inflammation and it is decreased by low iron diet, anemia or hypoxia. Evidence indicates that hepcidin is the negative regulator of iron absorption and iron release from macrophages of the reticuloendothelial system. The relationship between iron and hepcidin is disrupted in patients with hemochromatosis and anemia of chronic disease. The exact understanding the role of the hepcidin could lead to new therapies for disorders of the iron metabolism.

Key words: hepcidin, iron metabolism, anemia of chronic disease, HFE, hemochromatosis.

*Praca finansowana z projektu ST-40 Akademii Medycznej w Gdańsku.

Wykaz skrótów: **HEPC** (HAMP, LEAP-1) – hepcydyna, **C/EBP** (*CCAAT/enhancer-binding protein*) – białko wiążące się z sekwencją CCAAT, **NF-κB** (*nuclear factor-κB*) – czynnik jądrowy κB, **HNF 3β** (*hepatocyte nuclear factor 3β*) – jądrowy czynnik 3β hepatocytów, **USF2** (*upstream stimulatory factor 2*) – czynnik transkrypcyjny USF2, **STAT3** – czynnik transkrypcyjny STAT3, **HH** (*hereditary hemochromatosis*) – dziedziczna hemochromatoza, **JH** (*juvenile hemochromatosis*) – hemochromatoza wieku młodzieńczego, **HFE** – gen kodujący HFE – białko homologiczne z białkami należącymi do klasy I głównego układu zgodności tkankowej (MHC), **HFE2(HJV)** – gen kodujący hemojuwelina (HJV), **Tf-Fe₂** – wysycona żelazem transferyna, **TFR1** – receptor transferyny 1, **TFR2** – receptor transferyny 2, **Dcytb** (cytochrom b dwunastnicy) – cytochrom b, który redukuje zawarte w pokarmie żelazo, **DMT1** – transporter metali dwuwartościowych 1, **ACD** (*anemia of chronic disease*) – niedokrwistość chorób przewlekłych, **FCA** – kompletny adjuwant Freund, **LPS** – lipopolisacharyd, **IL-6** – interleukina 6, **IL-1** – interleukina 1, **IL-6 KO** – myszy z nokautem genu kodującego IL-6, **BMP** – białka morfogenetyczne kości, **BMPR-I** i **BMPR-II** – receptory BMP I i II o aktywności kinaz tyrozynowych, **Smad 1,5,8** – białka stanowiące wtórne przekaźniki wewnątrzkomórkowego sygnału BMP, które po fosforylacji przez BMPR-I wiążą się z białkiem Smad 4.

I. WSTĘP

Żelazo jest szeroko rozpowszechnione w przyrodzie i niezbędne dla prawie wszystkich żyjących organizmów. Krytyczna rola żelaza w metabolizmie ssaków jest związana z jego zdolnością do utleniania i redukcji. Jako składnik hemu odgrywa ono istotną rolę w funkcjonowaniu hemoprotein, takich jak: hemoglobina, mioglobina, katalaza, cytochromy łańcucha oddechowego oraz cytochromy P-450. Metal ten wchodzi również w skład białek niehemowych, takich jak: akonitaza, ferrochelataza, reduktaza rybonukleotydowa [7]. Z drugiej strony nadmiar wolnego żelaza może być toksyczny dla organizmu, ze względu na udział w produkcji wolnych rodników uszkadzających białka, lipidy i DNA [6,15]. Homeostaza żelaza u ssaków jest uwarunkowana delikatną równowagą pomiędzy wchłanianiem tego pierwiastka w jelitach a jego magazynowaniem, głównie w hepatocytach i komórkach układu siateczkowo-śródbłonkowego [15,37]. Utrzymanie prawidłowej homeostazy żelaza w organizmie jest niezwykle istotne, ponieważ niedobór tego pierwiastka prowadzi do anemii, a nadmiar do wystąpienia poważnych zaburzeń, takich jak: pierwotna (hemochromatoza) i wtórna akumulacja żelaza w organizmie (talasemia, niedokrwistość chorób przewlekłych, przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby, alkoholowa marskość wątroby) [5,42,82,91].

Jedną z przyczyn, dla których poziom żelaza w organizmie musi być ściśle kontrolowany, jest udział w rozwoju infekcji. Żelazo jest niezbędne do wzrostu i metabolizmu bakterii, w związku z tym wykształciły one szereg mechanizmów umożliwiających pobieranie tego metalu z otaczającego środowiska. Jako źródła żelaza bakterie wykorzystują kompleksy sideroforów z żelazem oraz białka transportujące żelazo, takie jak: transferyna, laktoferyna, czy hemoglobina. W odpowiedzi na infekcję gospodarz rozwija własne mechanizmy obronne, polegające m.in. na utrudnieniu drobnoustrojom dostępu do żelaza. W organizmie gospodarza dochodzi więc do wzrostu produkcji białek wiążących żelazo, redukcji wchłaniania żelaza pochodzącego z diety, wzrostu produkcji hemoglobiny i hemopeksyny w wątrobie oraz uwalniania apolaktoferyny z neutrofilii. W przypadku przewlekłych chorób zapalnych następstwem takiego

działania jest dość często niedokrwistość. W związku z powyższym rola żelaza w interakcji patogen-gospodarz wydaje się nie do przecenienia [9].

Ostatnie odkrycia wyraźnie dowodzą, że hepcydyna odgrywa kluczową rolę w regulacji homeostazy żelaza. Dokładne poznanie mechanizmów kontrolujących poziom żelaza w organizmie, w tym roli hepcydyny może więc przyczynić się do lepszego zrozumienia mechanizmów powstawania licznych zaburzeń, a co za tym idzie, do pojawienia się nowych możliwości diagnostycznych i terapeutycznych. Ten niedawno odkryty peptyd, jest obecnie przedmiotem znacznego zainteresowania, o czym świadczą stale pojawiające się prace badawcze i liczne artykuły przeglądowe.

II. IDENTYFIKACJA HEPCYDYNY I JEJ ZWIĄZEK Z METABOLIZMEM ŻELAZA

Związek pomiędzy hepcydyną a metabolizmem żelaza zauważono po raz pierwszy, gdy przypadkowo zidentyfikowano cDNA hepcydyny w czasie poszukiwania transkryptów ulegających zwiększonej ekspresji w wątrobach myszy z nadmierną akumulacją żelaza w organizmie. Analiza *Northern blot* potwierdziła, że mRNA hepcydyny ulega zwiększonej ekspresji z eksperymentalnym (myszy z iniekcją dekstranu żelaza oraz pozostające na diecie z 3% zawartością żelaza karbonylowego) lub spontanicznym nadmiernym gromadzeniem żelaza (myszy z nokautem β_2 -mikroglobuliny ($\beta_2m^{-/-}$)) [78]. Odmienne wyniki uzyskano w badaniach *in vitro* prowadzonych na pierwotnej hodowli ludzkich hepatocytów ekspozowanych na cytrynian żelaza oraz na wysycną żelazem transferynę. W tym przypadku nie zaobserwowano indukcji ekspresji mRNA hepcydyny, prawdopodobnie z powodu braku innych niż hepatocyty komórek uczestniczących w ścieżce regulacji syntezy hepcydyny [67]. Kolejnym dowodem na istnienie związku pomiędzy hepcydyną a metabolizmem żelaza był fakt, że u myszy z nokautem genu kodującego czynnik transkrypcyjny USF2 ($usf2^{-/-}$) dochodzi do spontanicznego gromadzenia się żelaza w wątrobie, trzustce i w mniejszym stopniu w sercu oraz do zmniejszenia zawartości żelaza zmagazynowanego w makrofagach śledziony. Badania wykazały brak mRNA obu genów hepcydyny ($hamp1$ i $hamp2$) w wątrobie myszy $usf2^{-/-}$. Okazało się, że gen kodujący czynnik USF2 znajduje się w bliskim sąsiedztwie genów $hamp1$ oraz $hamp2$ i nokaut genu $usf2$ powoduje całkowite zahamowanie ekspresji genów hepcydyny [69].

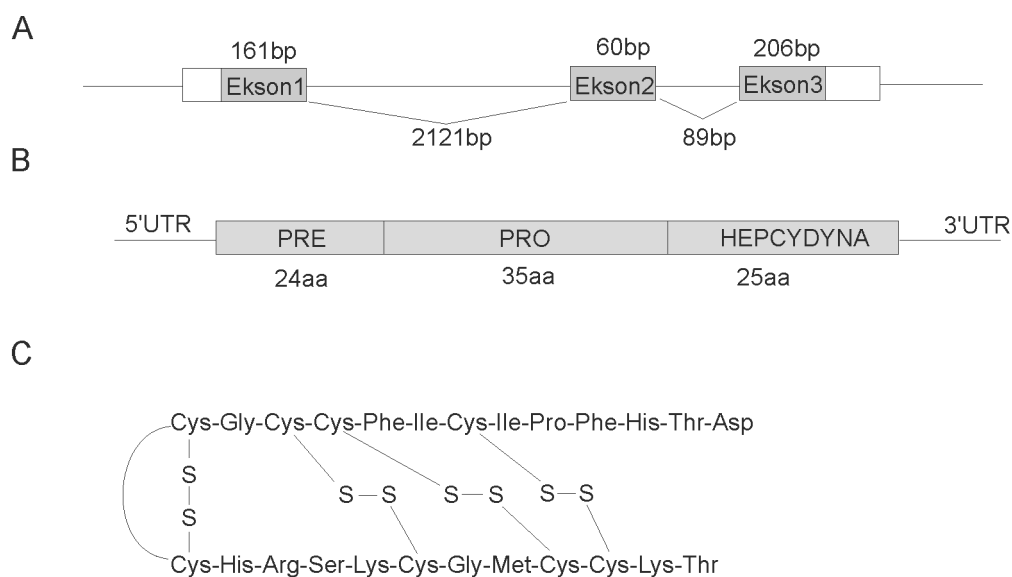
III. GENY HEPCYDYNY

Gen człowieka, kodujący hepcydynę o długości 2,5 kb, zawierający 3 eksony i 2 introny, znajduje się na chromosomie 19q13 (ryc.1A). U myszy wykazano istnienie dwóch genów kodujących hepcydynę: $hamp1$ i $hamp2$, znajdujących się na chromosomie 7 [78]. Stwierdzono, że u myszy regulacja ekspresji genów hepcydyny różni się w zależności od płci i szczepu [17,39]. Obecność tylko jednego genu hepcydyny w genomie

człowieka sugerowała zbyteczność jednego z dwóch genów występujących u myszy, zwłaszcza że wykazują one około 90% podobieństwa. Wysłunięto hipotezę, że gen *HAMP* człowieka jest odpowiednikiem mysiego genu *hamp1* [69]. Porównując mysie geny hepcydyny wykazano, że białka przez nie kodowane mają znaczenie w regulacji metabolizmu żelaza, ale prawdopodobnie różnią się między sobą aktywnością i/lub odgrywają odmienną rolę [34]. Ponadto, w odpowiedzi na dietę ze zwiększoną lub zmniejszoną zawartością żelaza u myszy oba geny zgodnie odpowiadały kolejno wzrostem lub spadkiem ekspresji [55]. Dalsze badania wykazały jednak, że *hamp1* i *hamp2* różnią się pomiędzy sobą funkcjonalnie. Stwierdzono mianowicie, że u myszy transgenicznych ze zwiększoną ekspresją *hamp1* w wątrobie rozwija się ostra anemia z niedoboru żelaza, podczas gdy u myszy transgenicznych ze zwiększoną ekspresją *hamp2* nie zaobserwowano takich objawów [51]. Odmienną funkcję obu genów potwierdza fakt, że u myszy lipopolisacharyd (LPS) zwiększa ekspresję genu *hamp1* zarówno w wątrobie, jak i w trzustce, ale nie ma wpływu na ekspresję genu *hamp2* [39]. W genie kodującym hepcydynę stwierdzono obecność sekwencji wiążących czynniki transkrypcyjne, takich jak: C/EBP β , HNF3 β i NF- κ B [78]. Dalsze badania wykazały, że zarówno u ludzi, jak i u myszy C/EBP α odgrywa istotną rolę w indukcji ekspresji genu hepcydyny, podczas gdy C/EBP β wykazuje niewielki wpływ na transkrypcję tego genu [16].

IV. STRUKTURA HEPCYDYNY

Hepcydyna (HEPC, HAMP) jest małym, bogatym w cysteinę peptydem kationowym odkrytym przez dwa niezależne zespoły [29]. Park i wsp. [76] wyizolowali ten związek z ludzkiego moczu i nazwali go hepcydyną ze względu na to, że jest produkowany w wątrobie (hep-) i ma właściwości przeciwbakteryjne (-cidin). Równocześnie wyizolowano ten peptyd z ludzkiej krwi i nazwano go LEAP-1 (*liver-expressed antimicrobial peptide*) [29]. U człowieka hepcydyna powstaje z prepropeptydu zbudowanego z 84 reszt aminokwasowych. Prepropeptyd zawiera sekwencję sygnałową (24 reszty aminokwasowe) zlokalizowaną na N-końcu, dalej proregion (35 reszt aminokwasowych) oraz na C-końcu peptyd właściwy (25 reszt aminokwasowych) (ryc.1B). Wykazano, że peptyd składający się z 25 reszt aminokwasowych jest dominującą formą w moczu, ale stwierdzono również obecność krótszej formy hepcydyny składającej się z 20 reszt aminokwasowych. Prekursor hepcydyny mysiej zawiera 83 reszty aminokwasowe [76,78]. Dojrzały peptyd wykazuje strukturę spinki do włosów i zawiera aż 8 reszt cysteinowych, które są połączone 4 mostkami dwusiarczkowymi stabilizującymi peptyd (ryc.1C) [76]. Wszystkie z 8 reszt cystein są zachowane w ewolucji [76]. Ponadto występowanie wiązań dwusiarczkowych pomiędzy cysteinami oraz wiązań wodorowych pomiędzy przeciwrównoległymi niemi peptydu powoduje, że hepcydyna wykazuje strukturę amfipatyczną, charakterystyczną dla wielu peptydów o właściwościach przeciwbakteryjnych i przeciwgrzybiczych [33]. Obecność reszt cysteinowych w sekwencji hepcydyny oraz kilku mostków dwusiarczkowych sugeruje, że hepcydyna



RZECINA 1. A – gen hepcydyny człowieka, B – prekursor hepcydyny człowieka (84 reszty aminokwasowe), C – struktura aktywnej biologicznie hepcydyny człowieka złożonej z 25 reszt aminokwasowych

może być peptydem grupującym żelazo i wpływającym na transkrypcję w sposób podobny do innych białek żelazowo-siarkowych [54]. Hepcydyna zawiera liczne reszty kationowe, które podobnie jak w innych kationowych peptydach przeciwbakteryjnych mają zdolność wiązania do ujemnie naładowanych fosfolipidów błon komórkowych wielu drobnoustrojów [9]. Na aktywność peptydu wydaje się mieć również wpływ rzadko występujące wiązanie dwusiarczkowe pomiędzy dwiema sąsiadującymi cysteinami, znajdującymi się blisko zagięcia struktury peptydu. Wykazano, że formy składające się z 20 i 25 reszt aminokwasowych różnią się aktywnością przeciwbakteryjną i przeciwgrzybiczą. Przyczyną wydaje się być fakt, że hepcydyna zawierająca 20 reszt aminokwasowych występuje w roztworze w postaci monomeru, podczas gdy peptyd zbudowany z 25 reszt aminokwasowych tworzy agregaty [33]. Hepcydyna została scharakteryzowana m.in. u człowieka, szczura, myszy i różnych gatunków ryb [23,76,84,86]. Peptyd ten ulega największej ekspresji w wątrobie, przy czym ekspresja jest ograniczona do bocznopodstawnej błony hepatocytów i wydaje się, że zależy od stanu zróżnicowania tych komórek (ekspresja jest wyższa w wątrobie dorosłych myszy w porównaniu z ekspresją w wątrobie płodowej) [16,40,78]. Ostatnie badania sugerują, że również nerki i śledziona mogą być miejscem syntezy hepcydyny [41,49].

V. HEMOCHROMATOZA I ROLA ŻELAZA W BIOSYNTYZIE HEPYDINY

Dziedziczna hemochromatoza (HH) jest autosomalnym recesywnym zaburzeniem metabolizmu żelaza, w którym dochodzi do zwiększonego wchłaniania żelaza w jelitach i nadmiernej akumulacji żelaza w różnych narządach, głównie w wątrobie, trzustce i sercu. Przyczyną tego zaburzenia jest obecność dwóch zmutowanych alleli w genie *HFE*, w wyniku czego w białku HFE, będącym produktem tego genu, tyrozyna zastępuje cysteinę w pozycji 282 (Cys282Tyr). Mutacja ta jest najczęstszą przyczyną wystąpienia hemochromatozy. Późniejsze badania wykazały jednak szereg innych mutacji w genie kodującym HFE, będących przyczyną tego schorzenia [25]. Wykazano, że HFE odgrywa istotną rolę w regulacji homeostazy żelaza. Białko to jest homologiczne z białkami należącymi do klasy I głównego układu zgodności tkankowej (MHC) i podobnie jak one wymaga do swojego funkcjonowania związania β_2 -mikroglobuliny (β_2m) [3]. U wielu pacjentów o fenotypie przypominającym HH nie wykryto mutacji w genie *HFE*, stwierdzono natomiast mutacje w innych genach, m.in. w genie hepcydyny. Obecnie wyróżnia się pięć typów hemochromatozy (tab. 1) [13,75,77].

Zaburzenia homeostazy żelaza obserwowane u myszy z brakiem ekspresji genu hepcydyny były podobne do obserwowanych u myszy z nokautem genu *hfe* (mysi model hemochromatozy). *HFE* podobnie jak gen hepcydyny wykazuje wysoki poziom ekspresji w wątrobie, a zaburzenia ekspresji obu tych genów prowadzą do nadmiernego gromadzenia się żelaza w organizmie, pojawiły się więc przypuszczenia, że zarówno HFE, jak i hepcydyna współdziałają w regulacji metabolizmu żelaza [14,61,69,73]. Wykazano, że u myszy z nokautem genu *hfe* lub β_2m , pomimo nadmiernej akumulacji żelaza w organizmie,

TABELA 1. Klasyfikacja hemochromatozy

Typ hemo-chromatozy	Zmutowany gen	Chromo-som	Kodowane białko	Typ dziedziczenia	Numer OMIM
Typ1, HH	<i>HFE</i>	6p21.3	HFE	autosomalny recesywny	235200
Typ2A, JH	<i>HFE2</i>	1q21	hemojuwelina	jak wyżej	602390
Typ2B, JH	<i>HAMP</i>	19q13	hepcydyna	jak wyżej	606464
Typ3	<i>TFR2</i>	7q22	receptor transferyny 2	jak wyżej	604250
Typ4	<i>SLC40A1</i>	2q32	ferroportyna	autosomalny dominujący	606069
Typ5	<i>FTH1</i>	11q12-q13	łańcuch ciężki ferrytyny	autosomalny dominujący	134770

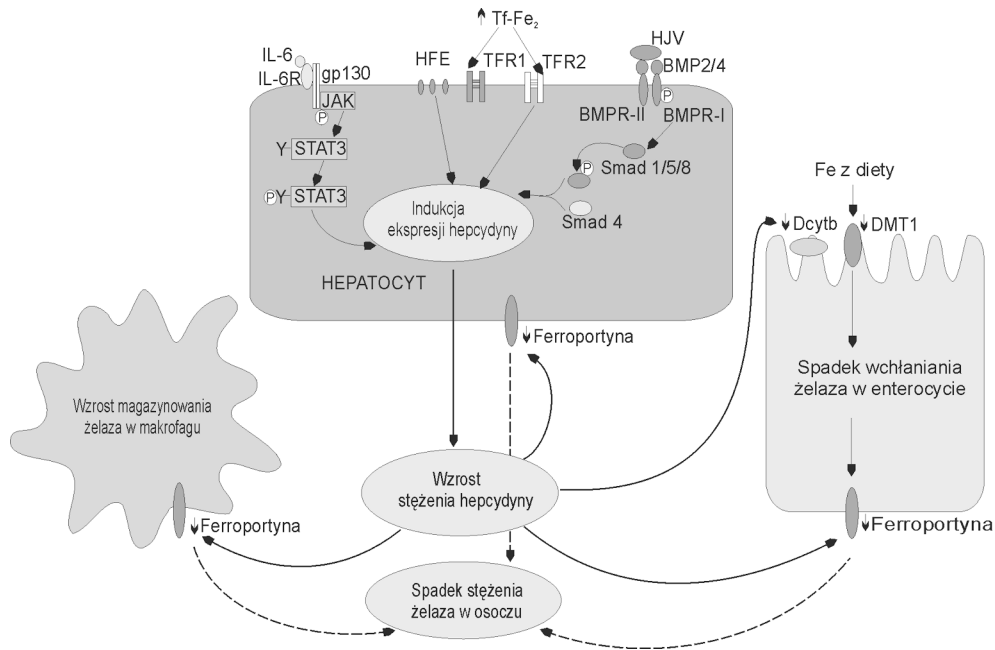
HH – hereditary hemochromatosis, JH – juvenile hemochromatosis

ekspresja genu hepcydyny w wątrobie nie wzrastała [2,62]. Podobnie u pacjentów z hemochromatozą związaną z mutacją w *HFE* nie stwierdzono zwiększonego poziomu mRNA hepcydyny w wątrobie, pomimo zwiększonej zawartości żelaza w tym organie [14,31]. Co więcej wykazano również, że stężenie prohormonu hepcydyny w surowicy pacjentów z HH jest znacząco obniżone w porównaniu ze stężeniem u pacjentów kontrolnych [40]. Dane te wskazywały na istotną rolę HFE w ścieżce sygnałowej, przez którą żelazo wpływa na wzrost ekspresji mRNA hepcydyny [14].

Początkowo zakładano, że komórki Kupffera i/lub komórki sinusoidalne wątroby, które są dominującym miejscem ekspresji HFE w wątrobie, eksponowane na wysokie stężenie wysyczonej żelazem transferyny, uwalniają IL-6, która stymuluje hepatocyty do syntezy i wydzielania hepcydyny [2,29]. Frazer i Anderson [26] zaproponowali inny mechanizm regulacji syntezy hepcydyny. W tym mechanizmie hepatocyty, wykazujące również ekspresję HFE, odgrywają istotną rolę w utrzymaniu homeostazy żelaza, poprzez regulację ekspresji hepcydyny w odpowiedzi na zmiany stosunku Tf-Fe₂ do TfR1. Wiadomo, że HFE współzawodniczy z transferyną w wiązaniu do TfR1, ale nie wiąże się z TfR2. Równocześnie istnieje współzawodnictwo o Tf-Fe₂ między TfR1 i TfR2. W tym mechanizmie w stanie fizjologicznym sygnałem do produkcji hepcydyny jest obecność znajdującego się na powierzchni hepatocytów, wolnego HFE oraz kompleksu TfR2-Tf-Fe₂. Niedobór żelaza w organizmie, gdy poziom Tf-Fe₂ jest niski, prowadzi do zwiększonej ekspresji TfR1. Ułatwia to wiązanie HFE do TfR1, a jednocześnie Tf-Fe₂ jest w mniejszym stopniu wiązana do TfR2. W konsekwencji zaburzony jest sygnał do produkcji hepcydyny. Natomiast nadmiar żelaza będzie prowadził do nasilonej produkcji hepcydyny, na skutek wysokiego poziomu Tf-Fe₂ i zmniejszonej ekspresji TfR1, a tym samym wzrostu ilości wolnego HFE i kompleksu TfR2-Tf-Fe₂. W zaproponowanym mechanizmie ekspresja hepcydyny pozostaje więc pod podwójną kontrolą HFE/TfR1 i TfR2 (ryc. 2), a mutacja w którymkolwiek z genów kodujących te białka hamuje biosyntezę hepcydyny. W hemochromatozie w wyniku mutacji zarówno w *HFE*, jak i w *tfr2* (lub nokautu genu *tfr2*) dochodzi do zmniejszenia ekspresji hepcydyny [36,65,89]. W konsekwencji obserwuje się wzrost wchłaniania żelaza w jelicie i jego magazynowania w organizmie.

W literaturze występują kontrowersje dotyczące udziału makrofagów i hepatocytów w indukcji biosyntezy hepcydyny przez żelazo. Makui i wsp. [53] stwierdzili, że HFE obecne w makrofagach jest niezbędne w regulacji ekspresji hepcydyny przez żelazo. Badania Lou i wsp. [50] oraz Montosi i wsp. [59] potwierdzają jednak wcześniej opisany przez Frazera i Andersona mechanizm, w którym to raczej hepatocyty, a nie komórki Kupffera odgrywają kluczową rolę w indukcji syntezy hepcydyny przez żelazo. Co więcej niektóre badania wskazują, że to właśnie hepatocyty są dominującym miejscem ekspresji HFE [94]. Prawdopodobnie zarówno hepatocyty, jak i makrofagi (oba typy komórek wykazują ekspresję HFE) mogą uczestniczyć w indukcji syntezy hepcydyny przez żelazo w wątrobie.

Stwierdzono, że mutacje w *HAMP* mogą wpływać na fenotyp osobników z mutacją w *HFE* (C282Y), powodując nasilenie objawów HH [35,56]. Kolejne badania potwierdziły, że hepcydyna może być czynnikiem nasilającym objawy HH. Wiadomo, że myszy z nokautem *hfe* (*hfe*^{-/-}) lub brakiem ekspresji genu hepcydyny wykazują podobny stopień



RYCINA 2. Mechanizmy indukcji biosyntezy hepcydyny i jej działanie na komórki docelowe: enterocyty, makrofagi i hepatocyty; IL-6 – interleukina 6, IL-6R – receptor IL-6, gp130 – glikoproteina stanowiąca podjednostkę receptora IL-6, JAK – kinaza Janusa, STAT3 – czynnik transkrypcyjny, który po ufosforylowaniu reszty tyrozynowej indukuje transkrypcję genu hepcydyny, HFE – białko homologiczne z białkami należącymi do klasy I głównego układu zgodności tkankowej (MHC), Tf-Fe₂ – wysyciona żelazem transferyna, TFR1 i -2 – receptor transferyny 1 i 2, HJV – hemojuwelina, BMP – białka morfogenetyczne kości, BMPR-I i -II – receptory BMP I i II o aktywności kinazy tyrozynowej, Smad1,5,8 – białka stanowiące wtórne przekaźniki wewnątrzkomórkowego sygnału BMP, które po fosforylacji przez BMPR-I wiążą się z białkiem Smad 4 i przechodzą do jądra komórkowego, gdzie regulują transkrypcję genów, w tym genu hepcydyny, Dcytb – cytochrom b dwunastnicy, DMT1 – transporter metali dwuwartościowych [1]

akumulacji żelaza w organizmie jak pacjenci z HH. Wykazano, że u myszy z nokautem *hfe* i brakiem pojedynczego allela dla hepcydyny dochodzi do większej akumulacji żelaza w wątrobie niż u myszy z brakiem tylko samego *hfe*. Potwierdza to, że zaburzenia ekspresji genu hepcydyny są związane z zaostrzeniem objawów HH [68].

Mutacje w *HAMP* są dość rzadkie wśród pacjentów z HH, częściej natomiast są wykrywane u pacjentów z hemochromatozą wieku młodzieńczego (JH) [11,12,22,45,48,-52,56,80,81]. Okazało się, że poza mutacją w genie *HFE2*, znajdującym się na chromosomie 1q (Typ2A), JH może być spowodowana również mutacją w genie *HAMP* (Typ2B). Gen *HFE2*, podobnie jak gen hepcydyny, ulega dominującej ekspresji w wątrobie, sugerowano więc, że *HFE2*, odgrywa rolę w indukcji biosyntezy hepcydyny [75]. Istotnie mutacja lub brak genu *hfe2* u myszy powoduje, oprócz nadmiernej akumulacji żelaza w organizmie, znaczny spadek ekspresji hepcydyny, co wskazuje, że

hemojuwelina, będący produktem tego genu, wpływa na ekspresję *hamp* [32,74]. Babbitt i wsp. [10] sugerują, że hemojuwelina indukuje ekspresję genu hepcydyny działając jako koreceptor białek BMP (białka morfogenetyczne kości), które stanowią ligandy wiążące się z dwoma różnymi receptorami o aktywności kinaz serynowo-treoninowych. Wtórnymi przekaźnikami sygnału są białka Smad. Smad 1/5/8 po ufosforylowaniu przez receptory typu I wiążą się ze Smad 4 i ulegają translokacji do jądra, gdzie regulują transkrypcję odpowiednich genów, w tym również transkrypcję genu hepcydyny (ryc. 2).

VI. WPŁYW ANEMII I HIPOKSJI NA SYNTEZĘ HEPCYDYNY

Ekspresja genu kodującego hepcydynę jest również regulowana przez anemię i hipoksję [71]. Stwierdzono, że wyindukowana eksperymentalnie anemia ma wpływ na ekspresję tego genu. Szczury pozostające na diecie z niedoborem żelaza oraz myszy z defektem w genach hefastyny, DMT1 lub transferyny (mysie modele anemii) wykazywały zmniejszoną ekspresję hepcydyny [27,90]. Ostra hemoliza, wyindukowana przez fenylohydrazynę lub przez utratę krwi na skutek powtarzanej flebotomii u myszy, również prowadzi do znacznego spadku ekspresji peptydu. Podobne wyniki otrzymano w przypadku myszy z talasemią [1,44,71]. Zasugerowano, że odwrotna sytuacja, a więc zwiększona ekspresja hepcydyny będzie prowadziła do zmniejszonego uwalniania żelaza z komórek układu siateczkowo-śródbłonkowego oraz do zmniejszonego wchłaniania żelaza w jelicie, a więc do fenotypu przypominającego niedokrwistość chorób przewlekłych (ACD) [24]. Pojawiły się również przypuszczenia, że peptyd ten może odgrywać istotną rolę w patogenezie ACD, często spotykanej u pacjentów hospitalizowanych z powodu takich schorzeń, jak: nowotwory, przewlekłe infekcje lub choroby autoimmunologiczne [91]. Istotnie transgeniczne myszy ze zwiększoną ekspresją hepcydyny w wątrobie umierały w kilka godzin po urodzeniu na skutek ostrej anemii z niedoboru żelaza [70]. Hepcydyna jest również negatywnym regulatorem łożyskowego transportu żelaza, ponieważ ostry niedobór żelaza zaobserwowano u myszy już w okresie płodowym.

Potwierdzenie zależności pomiędzy hepcydyną a anemią uzyskano również na podstawie badań przeprowadzonych na pacjentach z chorobą spichrzeniową glikogenu typu 1a, u których rozwija się, m.in. anemia oporna na leczenie żelazem i gruczolak wątroby. Wykazano nieadekwatnie zwiększoną ekspresję hepcydyny w gruczolakach pochodzących od tych pacjentów i zasugerowano, że to właśnie niepodlegająca regulacji, zwiększona ekspresja peptydu jest przyczyną anemii w tym schorzeniu. Istotnie po usunięciu gruczolaka dochodziło do spontanicznego ustąpienia objawów niedokrwistości [90]. Uzyskane dane oraz kolejne badania potwierdzają rolę hepcydyny w patogenezie niedokrwistości chorób przewlekłych [83,90,91].

Hipoksja również hamowała ekspresję mRNA hepcydyny zarówno w hodowli ludzkich komórek *hepatoma*, jak i u myszy hodowanych w komorach z wytworzeniem warunków hipoksji i hipobarii [71]. Wiadomo, że hipoksja jest sygnałem indukującym produkcję erytropoetyny w wątrobie płodowej oraz w nerce dorosłego osobnika.

Stwierdzono, że iniekcja samej erytropoetyny również spowodowała znaczny spadek ekspresji genu hepcydyny w wątrobie myszy [72]. Co więcej, w warunkach *in vitro*, przy niskich stężeniach erytropoetyny hepcydyna hamowała proliferację i przeżywalność prekursorów komórek szeregu czerwonekrwinkowego, co stanowi kolejny dowód na rolę tego peptydu w patogenezie ACD [19].

VII. HEPCYDYNA A INFEKCJA I ZAPALENIE

Wzrost ekspresji genu hepcydyny w wątrobie myszy zaobserwowano w przebiegu zapalenia wyindukowanego przez lipopolisacharyd, olejek terpentynowy i kompletny adjuwant Freund [4,71,78]. Iniekcja olejku terpentynowego, związku indukującego odpowiedź ostrej fazy, doprowadziła u myszy do wzrostu ekspresji mRNA hepcydyny i spadku poziomu żelaza w surowicy. Natomiast u myszy z brakiem ekspresji genu hepcydyny w tych samych warunkach, nie zaobserwowano spadku stężenia żelaza w surowicy [71]. Wykazano również 3-krotny wzrost ekspresji hepcydyny u myszy w odpowiedzi na infekcję *Escherichia coli* [60]. Znacznie zwiększony poziom hepcydyny stwierdzono także w moczu pacjentów z anemią, spowodowaną przewlekłą infekcją oraz ostrymi stanami zapalnymi. Badania *in vitro* przeprowadzone z wykorzystaniem hodowli ludzkich hepatocytów dowiodły, że ekspresja hepcydyny wzrasta pod wpływem, indukowanej przez LPS, IL-6, cytokiny stymulującej odpowiedź ostrej fazy typu II. Około 25-krotny w stosunku do kontroli wzrost ekspresji hepcydyny pod wpływem IL-6 wskazuje, że hepcydyna jest białkiem ostrej fazy typu II [67]. Dalsze badania pokazały, że podobna sytuacja ma miejsce w warunkach *in vivo*. Doświadczenia przeprowadzono na modelu myszy z nokautem genu dla IL-6 (*il-6*^{-/-}), u których zapalenie wyindukowano przez olejek terpentynowy. Stwierdzono, że myszy bez nokautu, traktowane olejkiem terpentynowym wykazywały zwiększoną ekspresję hepcydyny i zmniejszone stężenie żelaza w surowicy, natomiast u myszy z nokautem IL-6 dochodziło do spadku ekspresji peptydu [64]. Badania przeprowadzone *in vivo* potwierdziły udział IL-6 w indukcji ekspresji hepcydyny w stanach zapalnych. Wykazano również, że regulacja ekspresji mRNA hepcydyny przez żelazo nie wymaga działania IL-6, ponieważ podawanie żelaza w diecie myszom *il-6*^{-/-} spowodowało wzrost ekspresji peptydu w stopniu zbliżonym jak u myszy kontrolnych [64]. Kolejne badania wskazują, że regulacja syntezy hepcydyny przez IL-6 jest związana z inną ścieżką sygnałową niż regulacja przez żelazo. Potwierdzenie tego faktu uzyskano w doświadczeniach przeprowadzonych na modelach myszy z nokautem genów *hfe*, *tfr2*, β_2 -*m* oraz myszy z mutacją genu *tfr2*. Stwierdzono, że u tych myszy IL-6 spowodowała wzrost ekspresji genu hepcydyny wskazując, że indukcja biosyntezy tego peptydu przez IL-6 nie wymaga ani HFE, ani TfR2 [28,36,46]. Najnowsze badania Wrighting i Andrews [92] dowodzą, że IL-6 indukuje ekspresję hepcydyny przez aktywację czynnika transkrypcyjnego STAT3 (ryc. 2). Wykazano, że oprócz IL-6 również IL-1 może indukować transkrypcję tego genu [47].

VIII. MECHANIZM DZIAŁANIA HEPCYDYNY

Badania dowiodły, że istnieje odwrotna korelacja pomiędzy ekspresją hepcydyny a jelitowymi transporterami żelaza (Dcytb, DMT1 i ferroportyną) [4]. U szczurów stwierdzono zwiększoną ekspresję genów kodujących białka uczestniczące w transporcie żelaza w dwunastnicy: Dcytb, DMT1 i ferroportyny, przy jednoczesnym spadku ekspresji genu hepcydyny zarówno w przypadku diety z niedoborem żelaza, jak i w czasie ciąży [27,57]. W ostatnich latach badania nad regulacją transportu żelaza przez hepcydynę skupiły się głównie na ferroportynie. Odwrotną zależność pomiędzy poziomem hepcydyny a ferroportyną zaobserwowano po podaniu LPS, który stymulował ekspresję hepcydyny w wątrobie i hamował ekspresję ferroportyny w wątrobie i jelicie szczura [93]. Iniekcja syntetycznej hepcydyny myszom pozostającym na diecie z niedoborem żelaza i myszom z nokautem *hfe* doprowadziła do hamowania wchłaniania żelaza w dwunastnicy w porównaniu z myszami kontrolnymi. Wpływ hepcydyny był niezależny od poziomu żelaza w organizmie myszy i nie wymagał produktu genu *hfe* [43].

Kolejne badania potwierdziły, że hepcydyna reguluje transport żelaza poprzez oddziaływanie z ferroportyną – białkiem znajdującym się w błonach makrofagów, enterocytów i hepatocytów (ryc. 2) [21,38,58,88]. Wykazano również, że w hodowli ludzkich komórek nerkowych z ekspresją genu mysiej ferroportyny, hepcydyna wchodzi w bezpośrednią interakcję z ferroportyną indukując jej internalizację i lizosomalną degradację [66]. Co więcej u myszy *usf2*^{-/-} (z brakiem hepcydyny) stwierdzono wzrost poziomu ferroportyny nie tylko w dwunastnicy, ale również w wątrobie i śledzionie [87]. Badanie z egzogennie podaną myszom hepcydyną dowiodło również, że peptyd ten jest preferencyjnie wychwytywany przez komórki z ekspresją genu ferroportyny, takie jak enterocyty i makrofagi [79]. Ostatnie doniesienia wskazują, że w interakcji z ferroportyną istotną rolę odgrywa N-końcowy fragment hepcydyny [63].

IX. HEPCYDYNA – SUGEROWANE ZASTOSOWANIE DIAGNOSTYCZNE I TERAPEUTYCZNE

Zastosowanie hepcydyny w diagnostyce i/lub terapii takich schorzeń, jak: hemochromatoza, niedokrwistość chorób przewlekłych, czy przewlekła niewydolność nerek, wydaje się kwestią najbliższej przyszłości. Dotychczasowe badania sugerują, że peptyd ten może posłużyć do oceny narażenia pacjentów na nadmierne gromadzenie się żelaza w organizmie. Wykazano, że krzyżowanie myszy *hfe*^{-/-} z myszami z konstytutywnie zwiększoną ekspresją hepcydyny pozwoliło na uzyskanie potomstwa, u którego akumulacja żelaza została zahamowana [73]. Podawanie hepcydyny lub jej analogów mogłoby więc być pomocne w leczeniu pacjentów z hemochromatozą spowodowaną niedoborem hepcydyny [30]. Poziom wysycenie żelazem transferyny wydaje się być głównym modulatorem stężenia hepcydyny [31]. Z kolei erytropoetyna prowadzi do spadku wysycenia transferyny na skutek zwiększonego wykorzystania żelaza w procesie erythropoezy. Może to mieć znaczenie dla pacjentów z przewlekłymi chorobami nerek

poddawanych terapii erytropoetyną. Niedobór żelaza i chroniczne zapalenie to główne przyczyny oporności tych pacjentów na erytropoetynę. Oba te stany modulują również ekspresję genu hepcydyny, co sugeruje, że poziom hepcydyny lub prohepcydyny (której stężenie wzrasta u osób z niewydolnością nerek) może być potencjalnym markerem funkcjonalnego niedoboru żelaza w przewlekłych chorobach nerek. Co więcej zastosowanie hepcydyny lub jej analogów u tych pacjentów może przeciwdziałać skutkom niedokrwistości [20,40,85]. Wydaje się, że hepcydyna może też znaleźć zastosowanie w diagnostyce i leczeniu niedokrwistości chorób przewlekłych [67]. Stwierdzono jednak, że stężenie hepcydyny w surowicy koreluje z kliniczną diagnozą anemii w mniejszym stopniu niż stężenie w moczu. Hepcydyna jest dość małym peptydem, ulegającym prawdopodobnie całkowitej filtracji w nerkach, co czyni próbki moczu bardziej użytecznymi do oceny stężenia tego peptydu w organizmie niż próbki surowicy [8,18]. Diagnostyczne i terapeutyczne zastosowanie hepcydyny jest jeszcze przedmiotem spekulacji, ale wydaje się, że w najbliższym czasie może stać się faktem.

X. PIŚMIENNICTWO

- [1] ADAMSKY K, WEIZER O, AMARIGLION N, BREDA L, HARMELIN A, RIVELLA S, RACHMILEWITZ E, REHAVI G. Decreased hepcidin mRNA expression in thalassemic mice. *Br J Haematol* 2004; **124**: 123–124.
- [2] AHMAD KA, AHMANN JR, MIGAS MC, WAHEED A, BRITTON RS, BACON BR, SLY WS, FLEMING RE. Decreased liver hepcidin expression in the Hfe knockout mouse. *Blood Cells Mol Dis* 2002; **29**: 361–366.
- [3] AISEN P, ENNS C, WESSLING-RESNICK M. Chemistry and biology of eukaryotic iron metabolism. *Int J Biochem Cell Biol* 2001; **33**: 940–959.
- [4] ANDERSON GJ, FRAZER DM, WILKINS SJ, BECKER EM, MILLARD KN, MURPHY TL, MCKIE AT, VULPE CD. Relationship between intestinal iron-transporter expression, hepatic hepcidin levels and the control of iron absorption. *Biochem Soc Trans* 2002; **30**: 724–726.
- [5] ANDREWS NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med* 1999; **341**: 1986–1995.
- [6] ANDREWS NC. Iron metabolism: iron deficiency and iron overload. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2000; **1**: 75–98.
- [7] ANDREWS NC. Metal transporters and disease. *Curr Opin Chem Biol* 2002; **6**: 181–186.
- [8] ANDREWS NC. Anemia of inflammation: the cytokine-hepcidin link. *J Clin Invest* 2004; **113**: 1251–1253.
- [9] ASHRAFIAN H. Hepcidin: the missing link between hemochromatosis and infections. *Infect Immun* 2003; **71**: 6693–6700.
- [10] BABITT JL, HUANG FW, WRIGHTING DM, XIA Y, SIDIS Y, SAMAD TA, CAMPAGNA JA, CHUNG RT, SCHNEYER AL, WOOLF CJ, ANDREWS NC, LIN HY. Bone morphogenetic protein signaling by hemojuvelin regulates hepcidin expression. *Nat Genet* 2006; **38**: 531–539.
- [11] BIASIOTTO G, BELLOLI S, RUGGERI G, ZANELLA I, GERARDI G, CORRADO M, GOBBI E, ALBERTINI A, AROSIO P. Identification of New Mutations of the HFE, Hepcidin, and Transferrin Receptor 2 Genes by Denaturing HPLC Analysis of Individuals with Biochemical Indications of Iron Overload. *Clin Chem* 2003; **49**: 1981–1988.
- [12] BIASIOTTO G, ROETTO A, DARAIO F, POLOTTI A, GERARDI GM, GIRELLI D, CREMONESI L, AROSIO P, CAMASCHELLA C. Identification of new mutations of hepcidin and hemojuvelin in patients with HFE C282Y allele. *Blood Cells Mol Dis* 2004; **33**: 338–343.
- [13] BOMFORD A. Genetics of haemochromatosis. *Lancet* 2002; **360**: 1673–1681.
- [14] BRIDLE KR, FRAZER DM, WILKINS SJ, DIXON JL, PURDIE DM, CRAWFORD DH, SUBRAMANIAM VN, POWELL LW, ANDERSON GJ, RAMM GA. Disrupted hepcidin regulation in HFE-associated haemochromatosis and the liver as a regulator of body iron homeostasis. *Lancet* 2003; **361**: 669–673.

- [15] CHUNG J, WESSLING-RESNICK M. Molecular mechanisms and regulation of iron transport. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2003; **40**: 151–182.
- [16] COURSELAUD B, PIGEON C, INOUE Y, INOUE J, GONZALEZ FJ, LEROYER P, GILOT D, BOUDJEMA K, GUGUEN-GUILLOUZO C, BRISSOT P, LOREAL O, ILYIN G. C/EBP α regulates hepatic transcription of hepcidin, an antimicrobial peptide and regulator of iron metabolism. Cross-talk between C/EBP pathway and iron metabolism. *J Biol Chem* 2002; **277**: 41163–41170.
- [17] COURSELAUD B, TROADEC MB, FRUCHON S, ILYIN G, BOROT N, LEROYER P, COPPIN H, BRISSOT P, ROTH MP, LOREAL O. Strain and gender modulate hepatic hepcidin 1 and 2 mRNA expression in mice. *Blood Cells Mol Dis* 2004; **32**: 283–289.
- [18] DALLALIO G, FLEURY T, MEANS RT. Serum hepcidin in clinical specimens. *Br J Haematol* 2003; **122**: 996–1000.
- [19] DALLALIO G, LAW E, MEANS RT, Jr. Hepcidin inhibits *in vitro* erythroid colony formation at reduced erythropoietin concentrations. *Blood* 2006; **107**: 2702–2704.
- [20] DEICHER R, HORL WH. Hepcidin: a molecular link between inflammation and anaemia. *Nephrol Dial Transplant* 2004; **19**: 521–524.
- [21] DELABY C, PILARD N, GONCALVES AS, BEAUMONT C, CANONNE-HERGAUX F. Presence of the iron exporter ferroportin at the plasma membrane of macrophages is enhanced by iron loading and down-regulated by hepcidin. *Blood* 2005; **106**: 3979–3984.
- [22] DELATYCKI MB, ALLEN KJ, GOW P, MACFARLANE J, RADOMSKI C, THOMPSON J, HAYDEN MR, GOLDBERG YP, SAMUELS ME. A homozygous HAMP mutation in a multiply consanguineous family with pseudo-dominant juvenile hemochromatosis. *Clin Genet* 2004; **65**: 378–383.
- [23] DOUGLAS SE, GALLANT JW, LIEBSCHER RS, DACANAY A, TSOI SC. Identification and expression analysis of hepcidin-like antimicrobial peptides in bony fish. *Dev Comp Immunol* 2003; **27**: 589–601.
- [24] FLEMING RE and SLY WS. Hepcidin: a putative iron-regulatory hormone relevant to hereditary hemochromatosis and the anemia of chronic disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; **98**: 8160–8162.
- [25] FLEMING RE, SLY WS. Mechanisms of iron accumulation in hereditary hemochromatosis. *Annu Rev Physiol* 2002; **64**: 663–680.
- [26] FRAZER DM, ANDERSON GJ. The orchestration of body iron intake: how and where do enterocytes receive their cues? *Blood Cells Mol Dis* 2003; **30**: 288–297.
- [27] FRAZER DM, WILKINS SJ, BECKER EM, VULPE CD, MCKIE AT, TRINDER D, ANDERSON GJ. Hepcidin expression inversely correlates with the expression of duodenal iron transporters and iron absorption in rats. *Gastroenterology* 2002; **123**: 835–844.
- [28] FRAZER DM, WILKINS SJ, MILLARD KN, MCKIE AT, VULPE CD, ANDERSON GJ. Increased hepcidin expression and hypoferraemia associated with an acute phase response are not affected by inactivation of HFE. *Br J Haematol* 2004; **126**: 434–436.
- [29] GANZ T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003; **102**: 783–788.
- [30] GANZ T. Hepcidin – a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling by macrophages. *Best Pract Res Clin Haematol* 2005; **18**: 171–182.
- [31] GEHRKE SG, KULAKSIZ H, HERRMANN T, RIEDEL HD, BENTS K, VELTKAMP C, STREMMEL W. Expression of hepcidin in hereditary hemochromatosis: evidence for a regulation in response to the serum transferrin saturation and to non-transferrin-bound iron. *Blood* 2003; **102**: 371–376.
- [32] HUANG FW, PINKUS JL, PINKUS GS, FLEMING MD, ANDREWS NC. A mouse model of juvenile hemochromatosis. *J Clin Invest* 2005; **115**: 2187–2191.
- [33] HUNTER HN, FULTON DB, GANZ T, VOGEL HJ. The solution structure of human hepcidin, a peptide hormone with antimicrobial activity that is involved in iron uptake and hereditary hemochromatosis. *J Biol Chem* 2002; **277**: 37597–37603.
- [34] ILYIN G, COURSELAUD B, TROADEC MB, PIGEON C, ALIZADEH M, LEROYER P, BRISSOT P, LOREAL O. Comparative analysis of mouse hepcidin 1 and 2 genes: evidence for different patterns of expression and co-inducibility during iron overload. *FEBS Lett* 2003; **542**: 22–26.
- [35] JACOLOT S, LE GAC G, SCOTET V, QUERE I, MURA C, FEREC C. HAMP as a modifier gene that increases the phenotypic expression of the HFE pC282Y homozygous genotype. *Blood* 2004; **103**: 2835–2840.
- [36] KAWABATA H, FLEMING RE, GUI D, MOON SY, SAITOH T, O'KELLY J, UMEHARA Y, WANO Y, SAID JW, KOEFFLER HP. Expression of hepcidin is down-regulated in Tfr2 mutant mice manifesting a phenotype of hereditary hemochromatosis. *Blood* 2004; **105**: 376–381.

- [37] KNUTSON M, WESSLING-RESNICK M. Iron metabolism in the reticuloendothelial system. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 2003; **38**: 61–88.
- [38] KNUTSON MD, OUKKA M, KOSS LM, AYDEMIR F, WESSLING-RESNICK M. Iron release from macrophages after erythrophagocytosis is up-regulated by ferroportin 1 overexpression and down-regulated by hepcidin. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; **102**: 1324–1328.
- [39] KRIJT J, CMEJLA R, SYKORA V, VOKURKA M, VYORAL D, NECAS E. Different expression pattern of hepcidin genes in the liver and pancreas of C57BL/6N and DBA/2N mice. *J Hepatol* 2004; **40**: 891–896.
- [40] KULAKSIZ H, GEHRKE SG, JANETZKO A, ROST D, BRUCKNER T, KALLINOWSKI B, STREMMEL W. Pro-hepcidin: expression and cell specific localisation in the liver and its regulation in hereditary haemochromatosis, chronic renal insufficiency, and renal anaemia. *Gut* 2004; **53**: 735–743.
- [41] KULAKSIZ H, THEILIG F, BACHMANN S, GEHRKE SG, ROST D, JANETZKO A, CETIN Y, STREMMEL W. The iron-regulatory peptide hormone hepcidin: expression and cellular localization in the mammalian kidney. *J Endocrinol* 2005; **184**: 361–370.
- [42] KUSHNER JP, PORTER JP, OLIVIERI NF. Secondary iron overload. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2001: 47–61.
- [43] LAFTAH AH, RAMESH B, SIMPSON RJ, SOLANKY N, BAHRAM S, SCHUMANN K, DEBNAMES, SRAI SK. Effect of hepcidin on intestinal iron absorption in mice. *Blood* 2004; **103**: 3940–3944.
- [44] LATUNDE-DADA GO, VULPE CD, ANDERSON GJ, SIMPSON RJ, MCKIE AT. Tissue-specific changes in iron metabolism genes in mice following phenylhydrazine-induced haemolysis. *Biochim Biophys Acta* 2004; **1690**: 169–176.
- [45] LEE P, GELBART T, WEST C, HALLORAN C, BEUTLER E. Seeking candidate mutations that affect iron homeostasis. *Blood Cells Mol Dis* 2002; **29**: 471–487.
- [46] LEE P, PENG H, GELBART T, BEUTLER E. The IL-6- and lipopolysaccharide-induced transcription of hepcidin in HFE-, transferrin receptor 2-, and beta 2-microglobulin-deficient hepatocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; **101**: 9263–9265.
- [47] 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.
- [48] LEE PL, GELBART T, WEST C, HALLORAN C, FELITTI V, BEUTLER E. A study of genes that may modulate the expression of hereditary hemochromatosis: transferrin receptor-1, ferroportin, ceruloplasmin, ferritin light and heavy chains, iron regulatory proteins (IRP)-1 and -2, and hepcidin. *Blood Cells Mol Dis* 2001; **27**: 783–802.
- [49] LIU XB, NGUYEN NB, MARQUESS KD, YANG F, HAILE DJ. Regulation of hepcidin and ferroportin expression by lipopolysaccharide in splenic macrophages. *Blood Cells Mol Dis* 2005; **35**: 47–56.
- [50] LOU DQ, LESBORDES JC, NICOLAS G, VIATTE L, BENNOUN M, VAN ROOIJEN N, KAHN A, RENIA L, VAULONT S. Iron- and inflammation-induced hepcidin gene expression in mice is not mediated by Kupffer cells *in vivo*. *Hepatology* 2005; **41**: 1056–1064.
- [51] LOU DQ, NICOLAS G, LESBORDES JC, VIATTE L, GRIMBER G, SZAJNERT MF, KAHN A, VAULONT S. Functional differences between hepcidin-1 and -2 in transgenic mice. *Blood* 2003; **103**: 2816–2821.
- [52] MAJORE S, BINNI F, PENNESE A, DE SANTIS A, CRISI A, GRAMMATICO P. HAMP gene mutation c.208T>C (p.C70R) identified in an Italian patient with severe hereditary hemochromatosis. *Hum Mutat* 2004; **23**: 400.
- [53] MAKUI H, SOARES RJ, JIANG W, CONSTANTE M, SANTOS MM. Contribution of Hfe expression in macrophages to the regulation of hepatic hepcidin levels and iron loading. *Blood* 2005; **106**: 2189–2195.
- [54] MARRIF H. Is hepcidin an iron cluster peptide? *Med Hypotheses* 2004; **62**: 554–555.
- [55] MAZUR A, FEILLET-COUDRAY C, ROMIER B, BAYLE D, GUEUX E, RUIVARD M, COUDRAY C, RAYSSIGUIER Y. Dietary iron regulates hepatic hepcidin 1 and 2 mRNAs in mice. *Metabolism* 2003; **52**: 1229–1231.
- [56] MERRYWEATHER-CLARKE AT, CADET E, BOMFORD A, CAPRON D, VIPRAKASIT V, MILLER A, MCHUGH PJ, CHAPMAN RW, POINTON JJ, WIMHURST VL, LIVESEY KJ, TANPHAICHITR V, ROCHETTE J, ROBSON KJ. Digenic inheritance of mutations in HAMP and HFE results in different types of haemochromatosis. *Hum Mol Genet* 2003; **12**: 2241–2247.
- [57] MILLARD KN, FRAZER DM, WILKINS SJ, ANDERSON GJ. Changes in the expression of intestinal iron transport and hepatic regulatory molecules explain the enhanced iron absorption associated with pregnancy in the rat. *Gut* 2004; **53**: 655–660.

- [58] MOK H, JELINEK J, PAI S, CATTANACH BM, PRCHAL JT, YOUSSEOUFIAN H, SCHUMACHER A. Disruption of ferroportin 1 regulation causes dynamic alterations in iron homeostasis and erythropoiesis in polycythaemia mice. *Development* 2004; **131**: 1859–1868.
- [59] MONTOSI G, CORRADINI E, GARUTI C, BARELLI S, RECALCATI S, CAIRO G, VALLI L, PIGNATTI E, VECCHI C, FERRARA F, PIETRANGELO A. Kupffer cells and macrophages are not required for hepatic hepcidin activation during iron overload. *Hepatology* 2005; **41**: 545–552.
- [60] MOTLEY ST, MORROW BJ, LIU X, DODGE IL, VITIELLO A, WARD CK, SHAW KJ. Simultaneous analysis of host and pathogen interactions during an *in vivo* infection reveals local induction of host acute phase response proteins, a novel bacterial stress response, and evidence of a host-imposed metal ion limited environment. *Cell Microbiol* 2004; **6**: 849–865.
- [61] MUCKENTHALER M, ROY CN, CUSTODIO AO, MINANA B, DEGRAAF J, MONTROSS LK, ANDREWS NC, HENTZE MW. Regulatory defects in liver and intestine implicate abnormal hepcidin and *Cybrd1* expression in mouse hemochromatosis. *Nat Genet* 2003; **34**: 102–107.
- [62] MUCKENTHALER MU, RODRIGUES P, MACEDO MG, MINANA B, BRENNAN K, CARDOSO EM, HENTZE MW, DE SOUSA M. Molecular analysis of iron overload in beta2-microglobulin-deficient mice. *Blood Cells Mol Dis* 2004; **33**: 125–131.
- [63] NEMETH E, PREZA GC, JUNG CL, KAPLAN J, WARING AJ, GANZ T. The N-terminus of hepcidin is essential for its interaction with ferroportin: structure-function study. *Blood* 2006; **107**: 328–333.
- [64] NEMETH E, RIVERA S, GABAYAN V, KELLER C, TAUDORF S, PEDERSEN BK, GANZ T. IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest* 2004; **113**: 1271–1276.
- [65] NEMETH E, ROETTO A, GAROZZO G, GANZ T, CAMASCHELLA C. Hepcidin is decreased in TFR2-Hemochromatosis. *Blood* 2004; **105**: 1803–1806.
- [66] NEMETH E, TUTTLE MS, POWELSON J, VAUGHN MB, DONOVAN A, WARD DM, GANZ T, KAPLAN J. Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004; **306**: 2090–2093.
- [67] NEMETH E, VALORE EV, 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.
- [68] NICOLAS G, ANDREWS NC, KAHN A, VAULONT S. Hepcidin, a candidate modifier of the hemochromatosis phenotype in mice. *Blood* 2004; **103**: 2841–2843.
- [69] 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.
- [70] 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.
- [71] NICOLAS G, CHAUVET C, VIATTE L, DANAN JL, BIGARD X, DEVAUX I, BEAUMONT C, KAHN A, VAULONT S. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest* 2002; **110**: 1037–1044.
- [72] NICOLAS G, VIATTE L, BENNOUN M, BEAUMONT C, KAHN A, VAULONT S. Hepcidin, a new iron regulatory peptide. *Blood Cells Mol Dis* 2002; **29**: 327–335.
- [73] NICOLAS G, VIATTE L, LOU DQ, BENNOUN M, BEAUMONT C, KAHN A, ANDREWS NC, VAULONT S. Constitutive hepcidin expression prevents iron overload in a mouse model of hemochromatosis. *Nat Genet* 2003; **34**: 97–101.
- [74] NIEDERKOFER 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.
- [75] PAPANIKOLAOU G, SAMUELS ME, LUDWIG EH, MACDONALD ML, FRANCHINI PL, DUBE MP, ANDRES L, MACFARLANE J, SAKELLARPOULOS N, POLITOU M, NEMETH E, THOMPSON J, RISLER JK, ZABOROWSKA C, BABAKAUFF R, RADOMSKI CC, PAPE TD, DAVIDAS O, CHRISTAKIS J, BRISSOT P, LOCKITCH G, GANZ T, HAYDEN MR, GOLDBERG YP. Mutations in HFE2 cause iron overload in chromosome 1q-linked juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 2004; **36**: 77–82.
- [76] PARK CH, VALORE EV, WARING AJ, GANZ T. Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 2001; **276**: 7806–7810.
- [77] PIETRANGELO A. Non-HFE hemochromatosis. *Hepatology* 2004; **39**: 21–29.

- [78] PIGEON C, ILYIN G, COURSELAUD B, LEROYER P, TURLIN B, BRISSOT P, LOREAL 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.
- [79] RIVERA S, NEMETH E, GABAYAN V, LOPEZ MA, FARSHIDI D, GANZ T. Synthetic hepcidin causes rapid dose-dependent hypoferrremia and is concentrated in ferroportin-containing organs. *Blood* 2005; **106**: 2196–2199.
- [80] ROETTO A, DARAIIO F, PORPORATO P, CARUSO R, COX TM, CAZZOLA M, GASPARINI P, PIPERNO A, CAMASCHELLA C. Screening hepcidin for mutations in juvenile hemochromatosis: identification of a new mutation (C70R). *Blood* 2004; **103**: 2407–2409.
- [81] ROETTO A, PAPANIKOLAOU G, POLITOU M, ALBERTI F, GIRELLI D, CHRISTAKIS J, LOUKOPOULOS D, CAMASCHELLA C. Mutant antimicrobial peptide hepcidin is associated with severe juvenile hemochromatosis. *Nat Genet* 2003; **33**: 21–22.
- [82] ROUAULT TA. Hepatic iron overload in alcoholic liver disease: why does it occur and what is its role in pathogenesis? *Alcohol* 2003; **30**: 103–106.
- [83] ROY CN, WEINSTEIN DA, ANDREWS NC. 2002 E. Mead Johnson Award for Research in Pediatrics Lecture: the molecular biology of the anemia of chronic disease: a hypothesis. *Pediatr Res* 2003; **53**: 507–512.
- [84] SHIKE H, LAUTH X, WESTERMAN ME, OSTLAND VE, CARLBERG JM, VAN OLST JC, SHIMIZU C, BULET P, BURNS JC. Bass hepcidin is a novel antimicrobial peptide induced by bacterial challenge. *Eur J Biochem* 2002; **269**: 2232–2237.
- [85] TAES YE, WUYTS B, BOELAERT JR, DE VRIESE AS, DELANGHE JR. Prohepcidin accumulates in renal insufficiency. *Clin Chem Lab Med* 2004; **42**: 387–389.
- [86] TSOI SC, EWART KV, PENNY S, MELVILLE K, LIEBSCHER RS, BROWN LL, DOUGLAS SE. Identification of Immune-Relevant Genes from Atlantic Salmon Using Suppression Subtractive Hybridization. *Mar Biotechnol* (NY) 2004; **6**: 199–214.
- [87] VIATTE L, LESBORDES-BRION JC, LOU DQ, BENNOUN M, NICOLAS G, KAHN A, CANONNE-HERGAUX F, VAULONT S. Deregulation of proteins involved in iron metabolism in hepcidin-deficient mice. *Blood* 2005; **105**: 4861–4864.
- [88] VIATTE L, NICOLAS G, LOU DQ, BENNOUN M, LESBORDES-BRION JC, CANONNE-HERGAUX F, SCHONIG K, BUJARD H, KAHN A, ANDREWS NC, VAULONT S. Chronic hepcidin induction causes hyposideremia and alters the pattern of cellular iron accumulation in hemochromatotic mice. *Blood* 2006; **107**: 2952–2958.
- [89] WALLACE DF, SUMMERVILLE L, LUSBY PE, SUBRAMANIAM VN. First phenotypic description of transferrin receptor 2 knockout mouse, and the role of hepcidin. *Gut* 2005; **54**: 980–986.
- [90] WEINSTEIN DA, ROY CN, FLEMING MD, LODA MF, WOLFSDORF JI, ANDREWS NC. Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: implications for the anemia of chronic disease. *Blood* 2002; **100**: 3776–3781.
- [91] WEISS G. Pathogenesis and treatment of anaemia of chronic disease. *Blood Rev* 2002; **16**: 87–96.
- [92] WRIGHTING DM, ANDREWS NC. Interleukin-6 induces hepcidin expression through STAT3. *Blood* 2006; Jul 11; [Epub ahead of print]
- [93] YEH KY, YEH M, GLASS J. Hepcidin regulation of ferroportin 1 expression in the liver and intestine of the rat. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; **286**: G385–G394.
- [94] ZHANG AS, XIONG S, TSUKAMOTO H, ENNS CA. Localization of iron metabolism-related mRNAs in rat liver indicate that HFE is predominantly expressed in hepatocytes. *Blood* 2004; **103**: 1509–1514.

Redaktor prowadzący – Bożena Kamińska-Kaczmarek

Otrzymano: 05.10. 2006 r.

Przyjęto: 24.11. 2006 r.

ul. Dębinki 1, 80-211 Gdańsk

e-mail: sokole@amg.gda.pl