

## **Niedokrwistość stanu zapalnego osób starszych Część I. Znaczenie kliniczne, kluczowa rola hepcydyny w patogenezie**

### ***Anemia of inflammation in older persons Part I. Clinical significance, crucial role of hepcidin in the pathogenesis***

**Arkadiusz Styszyński**

Katedra i Zakład Patofizjologii, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

#### **Streszczenie**

Niedokrwistość jest zaburzeniem często występującym w podeszłym wieku. Nawet niewielka niedokrwistość wiąże się ze zwiększoną śmiertelnością, pogorszoną sprawnością motoryczną i upośledzeniem funkcji poznawczych. Niedokrwistość stanu zapalnego stanowi jedną z głównych postaci anemii w populacji geriatrycznej. Jej patomechanizm obejmuje takie zjawiska, jak oporność komórek progenitorowych linii czerwonej na erytropoetynę, jej zmniejszone wydzielanie, skrócenie czasu życia erytrocytów oraz czynnościowy niedobór żelaza. U podstawy tego ostatniego zjawiska leży działanie hepcydyny, hormonu regulującego homeostazę żelaza, wykazującego hamujący wpływ na główny eksporter żelaza z komórek do osocza – ferroportynę. Starzenie się prowadzi do przewlekłego stanu zapalnego o niskim nasileniu, co może skutkować wzrostem produkcji hepcydyny i zahamowaniem wchłaniania żelaza z jelit oraz jego uwalniania z magazynów wewnątrzkomórkowych. Niska biodostępność żelaza prowadzi do upośledzenia erythropoezy i niedokrwistości. *Geriatrics 2013; 7: 33-42.*

*Słowa kluczowe: niedokrwistość stanu zapalnego, starzenie się, hepcydyna*

#### **Abstract**

Anemia is frequent disturbance of the elderly. Even mild anemia is related to increased mortality, poorer physical performance and cognitive impairment. Anemia of inflammation is one of the main types of anemia in the geriatric population. Its pathomechanism involves: resistance of erythroid progenitors to erythropoietin, decreased secretion of that hormone, decline of erythrocytes' life span, and functional iron depletion. That last disturbance is a consequence of hepcidin's activity. This hormone regulates iron homeostasis by inhibition of the main iron exporter from the cells to the plasma, referred to as ferroportin. The process of aging leads to low intensity inflammatory reaction, which may lead to the increased hepcidin synthesis and in consequence decreased iron intestinal absorption as well as inhibition of iron release from the intracellular stores. Low iron bioavailability leads to the erythropoiesis impairment and anemia. *Geriatrics 2013; 7: 33-42.*

*Keywords: anemia of inflammation, aging, hepcidin*

#### **Wstęp**

Celem niniejszej pracy jest przybliżenie zagadnienia niedokrwistości chorób przewlekłych, określanej również jako niedokrwistość stanu zapalnego, w związku z jej wysokim występowaniem w podeszłym wieku. Ze względu na rozległość tematu opracowanie

zostało podzielone na dwie części. W pierwszej autor porusza zagadnienia występowania niedokrwistości w populacji geriatrycznej, znaczenia klinicznego tego zaburzenia, zwłaszcza zwiększonej śmiertelności i wysokiego odsetka niepełnosprawności, oraz przybliża patofizjologię niedokrwistości stanu zapalnego ze

szczególne uwzględnieniem zaburzonej homeostazy żelaza i kluczowej roli hepcydyny w tym procesie. W części drugiej opisane zostały mechanizmy, w jakich choroby związane z wiekiem prowadzą do niedokrwistości stanu zapalnego, jak również opcje diagnostyczne i terapeutyczne w świetle wyników badań z ostatnich kilku lat dotyczących tego zaburzenia.

## **Niedokrwistość w podeszłym wieku – definicja, występowanie, znaczenie kliniczne, etiologia**

### **Definicja niedokrwistości**

Zgodnie z definicją WHO niedokrwistość rozpoznaje się przy obniżeniu stężenia hemoglobiny we krwi poniżej 12 g/dl u kobiet i poniżej 13 g/dl u mężczyzn [1]. Niektórzy autorzy podkreślają, że kryteria te, ogłoszone ponad 40 lat temu, oparte były na mało wiarygodnych danych oraz postulują przyjęcie nowych zakresów referencyjnych, jednakże większość badaczy przyjmuje nadal wyżej podane wartości jako dolną granicę normy dla stężenia hemoglobiny we krwi [2]. Pojawiają się również głosy sugerujące, że kryteria rozpoznania niedokrwistości wymagają uwzględnienia wieku, zwłaszcza w odniesieniu do mężczyzn, u których w starości obserwuje się niższe wartości stężenia hemoglobiny [3].

### **Częstość występowania niedokrwistości w podeszłym wieku**

Gaskell i wsp. dokonali przeglądu systematycznego prac z lat 1980-2007 poświęconych częstości występowania niedokrwistości u osób po 65 roku życia. W 34 analizowanych badaniach uczestniczyło w sumie ponad 85 tys. osób starszych. Średnia częstość występowania niedokrwistości w całej analizowanej grupie wynosiła 17%, przy czym wśród osób przebywających w placówkach opiekuńczo-pielęgnacyjnych sięgała aż 47%, podczas gdy u ludzi starszych mieszkających poza tymi placówkami tylko 12%, a wśród osób hospitalizowanych 40% [4].

W przeprowadzonym w Polsce programie badawczym PolSenior obejmującym populację geriatryczną oceniono częstość występowania niedokrwistości na 17,4%, przy czym występowała ona znamiennej częściej u mężczyzn (20,8%) niż u kobiet (13,6%). U większości osób z niedokrwistością (ok. 70%) jej nasilenie było niewielkie (tzn. wartość stężenia hemoglobiny we krwi stanowiła co najmniej 90% dolnej granicy normy).

W badaniu tym zaobserwowano ponadto wyższą częstość występowania niedokrwistości w późnej starości (tj. po 80 r.ż.), gdzie wynosiła ona 32,3% u mężczyzn i 20,7% u kobiet [5].

### **Znaczenie kliniczne niedokrwistości**

Liczne badania wskazują na zwiększoną śmiertelność wśród osób starszych z niedokrwistością. Culleton i wsp. analizowali ryzyko śmierci w trzyletniej obserwacji ponad 17 tysięcy osób w podeszłym wieku zamieszkujących rejon Calgary (Kanada) i nieprzebywających w placówkach pielęgnacyjno-opiekuńczych. Zaobserwowali oni, że niedokrwistość zwiększa ogólną śmiertelność i prawdopodobieństwo hospitalizacji [6]. Zwiększoną śmiertelność w związku z niedokrwistością zaobserwowano również w badaniu EPESE (*Established Populations for Epidemiologic Studies of the Elderly*) przeprowadzonym w Stanach Zjednoczonych podczas 4-letniej obserwacji ponad 3,5-tysięcznej grupy osób starszych [7]. Podobne obserwacje pochodzą z dużego prospektywnego badania populacyjnego starszych mieszkańców prowincji Biella we Włoszech. W grupie ponad 7500 osób w podeszłym wieku stwierdzono wyższą śmiertelność i ryzyko hospitalizacji w trzyletniej obserwacji wśród osób z obniżonym stężeniem hemoglobiny w porównaniu z osobami, u których ten parametr był prawidłowy. Ten niekorzystny wpływ niedokrwistości dotyczył również przypadków niewielkiego obniżenia stężenia hemoglobiny we krwi, tzn. w zakresie 10,0-11,9 g/dl dla kobiet oraz 10,0-12,9 g/dl dla mężczyzn [8].

W wielu badaniach dowiedziono niekorzystnego wpływu niedokrwistości na sprawność ruchową osób starszych. Ograniczenie mobilności zależne od stężenia hemoglobiny we krwi zaobserwowano m.in. w grupie ponad 600 kobiet w wieku 70-80 lat zamieszkujących Baltimore w Stanach Zjednoczonych. Co ciekawe prawidłowość ta dotyczyła nie tylko osób z niedokrwistością, ale również tych, które znajdowały się w dolnym przedziale normy dla stężenia hemoglobiny we krwi, tj. 12,0-13,0 g/dl [9]. Badania InCHIANTI przeprowadzone wśród starszych mieszkańców rejonu Chianti we Włoszech ujawniły związek niedokrwistości ze zmniejszoną sprawnością fizyczną i siłą mięśniową [10]. We wspomnianym wcześniej badaniu EPESE stwierdzono, że niedokrwistość usposabia do upadków [11], podobne obserwacje dotyczą również osób w podeszłym wieku z niedokrwistością rozpoznaną podczas hospitalizacji [12].

Niektóre badania wskazują również na związek niedokrwistości z upośledzeniem funkcji poznawczych. Zależność taką zaobserwowano we wspomnianych wyżej badaniach EPESE i InCHIANTI oraz w prowadzonym w Szwecji projekcie Kungsholmen, w którym oceniano wpływ niedokrwistości na trzyletnie ryzyko wystąpienia otępienia u osób starszych bez zaburzeń funkcji poznawczych [13]. Ponadto badanie GIFA (*Gruppo Italiano di Farmacovigilanza nell'Anziano*) przeprowadzone we Włoszech w oparciu o ocenę funkcji poznawczych i parametrów hematologicznych przy przyjęciu do szpitala, w którym uczestniczyło ponad 13 tys. starszych pacjentów, potwierdziło związek pomiędzy niedokrwistością i pogorszeniem tych funkcji [14].

Nieznane są swoiste mechanizmy leżące u podstaw niekorzystnego wpływu niedokrwistości na śmiertelność, pogorszenie funkcji ruchowych i poznawczych oraz na inne aspekty chorobowości osób starszych. Teoretycznie można przypuszczać, że niedokrwistość prowadzi do upośledzenia zaopatrzenia w tlen mięśnia sercowego, mózgu oraz mięśni szkieletowych, co skutkuje upośledzonym funkcjonowaniem tych narządów, a w konsekwencji zwiększoną śmiertelnością, upośledzeniem czynności poznawczych i motorycznych. Z drugiej strony można postrzegać niedokrwistość jako jedynie wskaźnik stanów chorobowych o złożonej etiologii występujących ze zwiększoną częstością w tej grupie wiekowej, które to choroby bezpośrednio są odpowiedzialne za utratę sprawności. U uczestników przytaczanych powyżej badań niejednokrotnie współwystępowały choroby mogące prowadzić do pogorszenia sprawności. Jednakże w tych badaniach, gdzie przeprowadzono analizę wieloczynnikową, wykazano, że niekorzystny wpływ niedokrwistości był niezależny od tych chorób. Potwierdzają to wyniki dziesięcioletniej obserwacji populacji zdrowych osób po 85 roku życia mieszkających w holenderskiej Lejdie, gdzie stężenie hemoglobiny poniżej dolnej granicy referencyjnej na początku obserwacji wiązało się ze zwiększoną śmiertelnością [15]. Jeśli przyjąć założenie, że niedokrwistość, jako potencjalnie odwracalny czynnik, jest bezpośrednio odpowiedzialna za utratę sprawności osób starszych, to daje ono geriatrom ważne narzędzie do osiągnięcia głównego celu medycyny wieku podeszłego – prewencji i leczenia niepełnosprawności. Wobec powyższych faktów prawidłowe rozpoznawanie i leczenie niedokrwistości w podeszłym wieku wydaje się bardzo istotnym zadaniem lekarzy zajmujących się osobami starszymi.

### **Klasyfikacja etiologiczna niedokrwistości w podeszłym wieku**

Właściwa diagnostyka niedokrwistości w podeszłym wieku wymaga uwzględnienia jej złożonej etiologii. Badacze realizujący amerykański program NHANES III (*National Health and Nutrition Examination Survey*), który obejmował swym zasięgiem ok. 4,2 tys. osób po 65 roku życia, w tym ok. 10% z niedokrwistością, przypisali przypadki tego zaburzenia do trzech głównych grup etiologicznych o zbliżonej liczebności: 1) niedokrwistości niedoborowych, 2) niedokrwistości chorób przewlekłych (zwanej również, zdaniem wielu – bardziej adekwatnie, niedokrwistością stanu zapalnego [NSZ]) klasyfikowanej wspólnie z niedokrwistością w przebiegu przewlekłej choroby nerek (PChN) oraz 3) niedokrwistości o niewyjaśnionej przyczynie, w tej ostatniej grupie umieszczając również przypadki zespołów mielodysplastycznych i inne typy niedokrwistości niesklasyfikowane w dwóch poprzednich grupach [16]. Wśród niedokrwistości niedoborowych blisko 60% stanowiły przypadki niedoboru żelaza (występującego zarówno wyłącznie, jak i wspólnie z niedoborami witaminy B<sub>12</sub> oraz kwasu foliowego), definiowanego jako obecność co najmniej dwu z następujących kryteriów: saturacja transferyny < 15%, stężenie ferrytyny w surowicy krwi < 12 ng/ml, stężenie protoporfiryn w erytrocytach > 0,24 μmol/l. Należy zaznaczyć, że o ile część z przypadków niedoboru żelaza może być skutkiem nieprawidłowej diety, to jednak większość jest odzwierciedleniem utraty krwi na skutek uszkodzenia błony śluzowej przewodu pokarmowego. W badaniu NHANES III niedokrwistość była przypisywana przewlekłej chorobie nerek w sytuacji, gdy szacowany klirens kreatyniny był niższy niż 30 ml/min. Z kolei NSZ stwierdzano w przypadku niskiego stężenia żelaza w surowicy krwi (<60 μg/dl) i jednoczesnego niespełniania kryteriów niedoboru tego pierwiastka [16]. Występowanie tego typu niedokrwistości określono na ok. 24% wszystkich jej przypadków. Należy dodać, że kryteria niedokrwistości w przebiegu PChN oraz niedokrwistości stanu zapalnego nie wykluczają się wzajemnie i w ocenie badaczy realizujących omawiane badanie u ponad 4% wszystkich osób z niedokrwistością mogą one współistnieć.

W poniższej pracy szczególny nacisk został położony na niedokrwistość stanu zapalnego u osób w podeszłym wieku, złożone mechanizmy leżące u jej podstaw (ze szczególnym uwzględnieniem funkcjonalnego niedoboru żelaza), wątpliwości diagnostyczne

oraz trudności terapeutyczne związane z postępowaniem w tym zaburzeniu.

### **Patofizjologia niedokrwistości stanu zapalnego**

Niedokrwistość stanu zapalnego (zwana również niedokrwistością chorób przewlekłych) może wystąpić na skutek infekcji bakteryjnych, wirusowych oraz grzybiczych. Może się rozwinąć również w przebiegu chorób autoimmunologicznych, takich jak toczeń układowy czy reumatoidalne zapalenie stawów. Może wreszcie wynikać z przewlekłych chorób przebiegających ze stanem zapalnym o łagodnym nasileniu. Do takich chorób można zaliczyć nowotwory złośliwe, przewlekłą chorobę nerek oraz przewlekłą niewydolność serca. Nie bez znaczenia dla rozwoju NSZ jest też prozapalny charakter procesu starzenia [17].

Liczba erytrocytów krążących we krwi jest pochodną czterech niezależnych zjawisk: zdolności proliferacyjnej komórek prekursorowych linii czerwono-krwinkowej szpiku kostnego, aktywności czynników pobudzających erytropoezę, dostępności składników pokarmowych niezbędnych do tworzenia krwinek czerwonych oraz czasu przeżycia erytrocytów [18]. Każdy z tych procesów może ulec zaburzeniu na skutek przewlekłego stanu zapalnego. Po pierwsze zapalenie hamuje proliferację i różnicowanie komórek prekursorowych linii czerwono-krwinkowej oraz zmniejsza ich odpowiedź na erytropoetynę (EPO) prawdopodobnie poprzez zmniejszenie gęstości receptorów dla EPO na ich powierzchni, co określa się mianem oporności na erytropoetynę. Prawdopodobnie taką zaobserwowano u pacjentów z PChN i podwyższonym stężeniem białka C-reaktywnego (CRP) w surowicy, u których dawka EPO konieczna do utrzymania określonego poziomu hemoglobiny była o 30-70% wyższa w porównaniu z chorymi na PChN z prawidłowym stężeniem CRP [19]. Po drugie stan zapalny zmniejsza fizjologiczną odpowiedź nerek na hipoksję będącą skutkiem niedokrwistości. Odpowiedź ta polega na zwiększeniu wytwarzania EPO. Wpływ hamujący na syntezę EPO wykazują takie cytokiny prozapalne jak interleukina-1 (IL-1), IL-6 oraz czynnik martwicy guza- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) [20]. Po trzecie stres oksydacyjny związany z zapaleniem skraca czas życia erytrocytów w mechanizmie zjawiska określanego mianem „eryptozy”, analogicznego do apoptozy obserwowanej w odniesieniu do komórek jądrzastych [21].

Wreszcie po czwarte, stan zapalny prowadzi do tzw. funkcjonalnego niedoboru żelaza, którego biochemicznym wykładnikiem jest niskie stężenie żelaza w surowicy krwi, niska zdolność wiązania żelaza oraz podwyższone lub prawidłowe stężenie ferrytyny we krwi. W takiej sytuacji wewnętrzne zapasy żelaza są znaczne, ale jego dostępność dla erytropoezy jest ograniczona na skutek sekwestracji tego pierwiastka w makrofagach tkankowych i hepatocytach. Upośledzone zostaje również wchłanianie żelaza z przewodu pokarmowego. Fizjologiczne znaczenie tego procesu upatrywane jest w fakcie, że zmniejszona biodostępność żelaza ogranicza zdolność proliferacyjną większości patogennych mikroorganizmów. O ile w stanach ostrej infekcji, zjawisko to może mieć korzystne znaczenie dla zainfekowanego organizmu, o tyle w przewlekłym stanie zapalnym prowadzi do niedokrwistości wraz z wszystkimi jej negatywnymi konsekwencjami. Centralną rolę w utrzymaniu prawidłowego stężenia żelaza we krwi w stanie fizjologii odgrywa hepcydyna, ale może ona również być czynnikiem odpowiedzialnym za jego funkcjonalny niedobór stanowiący istotny składnik patogenezy NSZ.

### **Regulacja stężenia żelaza we krwi w stanie fizjologii**

Żelazo stanowi ważny element białek przenoszących tlen oraz odgrywa istotną rolę w metabolizmie wewnątrzkomórkowym. Precyzyjna regulacja stężenia żelaza we krwi jest kluczowa z uwagi na jego znaczną toksyczność. Organizm człowieka nie dysponuje fizjologicznym mechanizmem zapewniającym wydalanie żelaza w dużych ilościach. Dzienna utrata żelaza w ilości 1-2 mg zachodzi na drodze złuszczenia się enterocytów jelitowych i komórek naskórka oraz poprzez obecność krwi w stolcu. Kobiety w wieku reprodukcyjnym dodatkowo tracą znaczącą ilość żelaza z krwią menstruacyjną [22]. Te codzienne straty żelaza muszą zostać pokryte przez jego absorpcję jelitową. Dzienne spożycie żelaza w prawidłowej diecie wynosi 10-15 mg, z czego wchłaniane jest ok. 10% i ta ilość zwykle wystarcza na pokrycie strat.

W warunkach fizjologicznych organizm człowieka zawiera ok. 4 g żelaza, ok. 65% z tej ilości znajduje się w krwinkach czerwonych pod postacią hemoglobiny, a 15% w komórkach mięśni szkieletowych jako mioglobina i w enzymach łańcucha oddechowego innych tkanek. Pozostała jego część stanowi pulę magazynową w hepatocytach, makrofagach śledzionowych

i szpiku kostnym. Poniżej 1% żelaza ustrojowego krąży w osoczu w połączeniu z transferyną lub pod postacią ferrytyny. Proces erytropoezy wymaga 20-36 mg żelaza dziennie. Zapotrzebowanie to jest pokrywane poprzez żelazo pozyskane z rozpadających się erytrocytów oraz z tkankowych magazynów. Wynika stąd, że duża część przemian żelaza zachodzi w układzie zamkniętym.

W pożywieniu człowieka żelazo występuje w postaci dwu- i trójwartościowej. Postać  $Fe^{2+}$  jest rozpuszczalna w wodzie i podlega wchłanianiu jelitowemu przy optymalnym pH. Postać  $Fe^{3+}$  w zasadowym środowisku ulega strąceniu pod postacią nierozpuszczalnych (a zatem niewchłanianych) kompleksów. Wchłanianie żelaza odbywa się przy udziale enterocytów dwunastniczych i czczych. Błona szczytowa tych komórek, określana mianem rąbka szczotczkowego, zawiera białko importujące żelazo, określane jako transporter metali dwuwartościowych (DMT1 – *divalent metal transporter*), które przy współudziale cytochromu b redukującego żelazo pokarmowe, przenosi jony żelaza do wnętrza enterocytów. Natomiast błona podstawno-boczna enterocytów wyposażona jest w białko eksportujące żelazo – ferroportynę (Fpn) i współpracującą z nią hefajstynę utleniającą jony  $Fe^{2+}$  do  $Fe^{3+}$ , co umożliwia przejście żelaza do krwi. Część żelaza w enterocytach łączy się z apoferrytiną tworząc ferrytinę stanowiącą formę magazynową żelaza. Żelazo związane przez ferrytinę w enterocycie może zostać uwolnione do krwi lub ulec wydaleniu ze stolcem na skutek złuszczenia się tej komórki.

Żelazo we krwi łączy się z białkiem transportującym, transferyną (Tf), która może związać dwa jony  $Fe^{3+}$ . Komórki szpiku kostnego i większość innych komórek ustroju wychwytyją transferynę wysyconą żelazem (określaną jako holotransferyna) za pośrednictwem swoistego receptora (TfR). Kompleks receptor-Tf ulega internalizacji na drodze endocytozy. W obrębie wytworzonego endosomu dochodzi do obniżenia pH, co umożliwia uwolnienie żelaza z połączenia z Tf. Następnie kompleks receptor-Tf pozbawiony już żelaza ponownie łączy się z błoną komórkową, a Tf odłącza się od receptora jako cząsteczka ponownie zdolna do związania żelaza. W cytoplazmie komórek żelazo jest magazynowane pod postacią ferrytyny. Pojedyncza cząsteczka apoferrytyny jest w stanie związać do 4500 jonów żelaza. Innym białkiem magazynującym żelazo w komórkach jest hemosyderyna, stanowiąca prawdopodobnie produkt degradacji ferrytyny. O ile żelazo związane przez ferrytinę może zostać szybko

uwolnione, o tyle z hemosyderyny żelazo uwalniane jest znacznie trudniej [23].

Zawartość żelaza w komórkach podlega kontroli poprzez białka IRP-1 i IRP-2 (*iron regulatory protein*). Białka te wiążą się do swoistych niekodujących sekwencji w mRNA m.in. ferrytyny i receptora transferyny. Sekwencje te są określane jako IRE (*iron regulatory element*). W przypadku niskiego stężenia żelaza w cytoplazmie IRP wiążą się z IRE, czego skutkiem jest zahamowanie translacji mRNA ferrytyny oraz stabilizacja mRNA receptora transferyny (TfR). Prowadzi to zwiększonej absorpcji żelaza przez komórkę. W komórkach o dużym stężeniu żelaza ze względu na brak wiązania IRP-1 i IRP-2 przez IRE dochodzi do degradacji mRNA dla TfR oraz translacji mRNA dla ferrytyny. Skutkuje to zmniejszeniem absorpcji żelaza przez komórkę i wiązaniem jego nadmiaru przez nowo syntetyzowaną ferrytinę. Mechanizm ten zapewnia utrzymanie stałego stężenia żelaza w komórkach [24]. Do komórek o najwyższym zapotrzebowaniu na żelazo zaliczamy komórki prekursorowe linii erytroidalnej. Erytroblasty, będące jądrzastymi prekursorami erytrocytów, charakteryzują się wysoką ekspresją receptora dla transferyny na powierzchni błony komórkowej. Zapewnia to odpowiednio wysoki dokomórkowy import żelaza koniecznego do syntezy hemoglobiny w tych komórkach. Po wyprodukowaniu odpowiedniej ilości hemoglobiny erytroblasty tracą TfR, który przyjmuje postać rozpuszczalnego receptora dla transferyny (sTfR) przedostającego się do krwi [17].

Z kolei ogólnoustrojowa regulacja gospodarki żelazowej ma za zadanie utrzymanie stałego stężenia kompleksu żelazo-transferyna w osoczu, co jest możliwe dzięki napływowi żelaza do osocza. Dokonuje się to trzema głównymi drogami: poprzez wchłanianie żelaza pokarmowego przy udziale enterocytów dwunastnicy i jelita czczego, uwalnianie żelaza składowanego w hepatocytach oraz przejście do osocza żelaza magazynowanego w makrofagach układu siateczkowo-śródbłonkowego. Te trzy rodzaje komórek używają tej samej cząsteczki pozwalającej na przejście żelaza do przestrzeni zewnątrzkomórkowej – ferroportyny. Jej internalizacja skutkować będzie zmniejszonym wpływem żelaza, a zatem jego sekwestracją w tych komórkach, co doprowadzi do jego mniejszej biodostępności [22]. W niedoborze żelaza zwiększa się jego wchłanianie jelitowe, ponieważ mniej żelaza łączy się apoferrytiną, a więcej przechodzi z enterocytów do krwi. Ponadto makrofagi i hepatocyty uwalniają wtedy

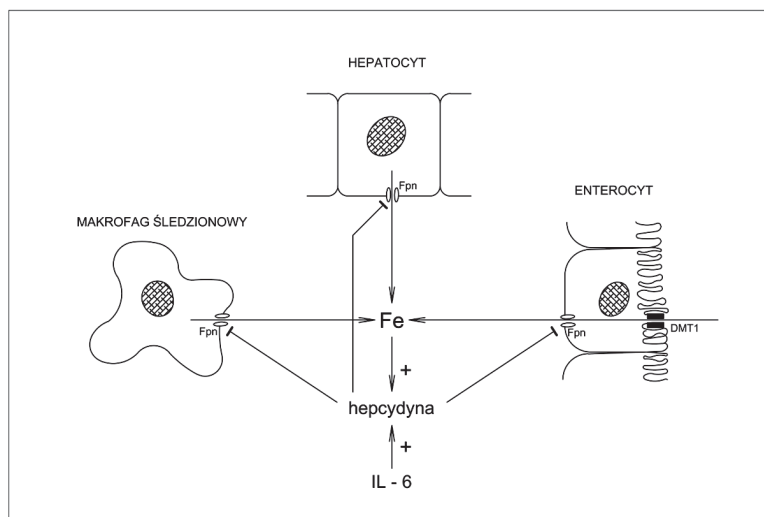
żelazo zmagazynowane. Przy nadmiarze żelaza większość jonów  $Fe^{2+}$  wchłoniętych przez enterocyty łączy się z apoferrytyną i jest usuwane wraz ze złuszczającym się nabłonkiem jelitowym, a makrofagi i hepatocyty zmniejszają uwalnianie żelaza do krwi. Procesy te regulowane są przez hepcydynę.

### Rola hepcydyny w regulacji ogólnoustrojowej żelaza

Hepcydyna (ang. *hepcidin*) to hormon peptydowy uczestniczący zarówno w regulacji metabolizmu żelaza, jak i będący mediatorem reakcji zapalnych. Po raz pierwszy peptyd ten został zidentyfikowany przez Park i wsp. w 2001 roku [25]. Autorzy ci zaobserwowali, że hormon ten jest syntetyzowany w wątrobie (stąd pierwszy człon nazwy: *hep-*) oraz że wykazuje działanie antybakteryjne w warunkach *in vitro* (na co wskazuje drugi człon nazwy: *-cidin*). W liczącym 25 aminokwasów peptydzie występują cztery mostki dwusiarczkowe. Zapewnia to określoną strukturę przestrzenną cząsteczki hepcydyny, w wyniku której część hydrofobowa jest oddalona od części hydrofilowej obdarzonej ładunkiem dodatnim. Taka budowa ułatwia przerwanie ciągłości błon bakteryjnych [26]. Hepcydynę u ludzi wykrywa się w osoczu, w surowicy krwi i w moczu. Zaobserwowano również jej obecność w żółci, płynie opłucnowym i otrzewnowym, gdzie ma stanowić składową procesów odporności nieswoistej [27]. Oprócz wątroby do narządów posiadających

zdolność produkcji hepcydyny zalicza się tkankę tłuszczową, serce, łożysko oraz nerki, jak również komórki  $\beta$  wysp trzustkowych [28]. Jedynie produkcja wątrobowa hepcydyny jest regulowana poziomem żelaza, pozostałe narządy, jak się wydaje, produkują hepcydynę w odpowiedzi na reakcję zapalną, w mechanizmie regulowanym poprzez IL-6 [26]. Należy tutaj zaznaczyć, że aktywnością hormonalną charakteryzuje się jedynie hepcydyna o strukturze złożonej z 25 aminokwasów, określana jako hepcydyna-25. Zarówno prekursor hepcydyny złożony z 84 aminokwasów – prohepcydyna, jak i jej metabolit zbudowany z 20 aminokwasów – hepcydyna-20, działania hormonalnego nie wykazują.

Hepcydyna kontroluje napływ żelaza do osocza poprzez regulację ferroportyny. Gdy hepcydyna wiąże się z ferroportyną ich kompleks ulega internalizacji do cytoplazmy, a następnie degradacji przy udziale lizosomów. Wątrobowa produkcja hepcydyny jest regulowana przez kilka czynników: poziom żelaza, niedokrwistość, hipoksję oraz zapalenie. Wpływ żelaza na transkrypcję genu kodującego hepcydynę oraz jej wydzielanie obejmuje interakcję między holotransferyną (transferyną wysyconą żelazem) a jej receptorem. Przy niskim stężeniu żelaza we krwi, a więc i niskim wysyceniu transferyny produkcja hepcydyny ulega zahamowaniu, co prowadzi do zwiększonej ilości ferroportyny w błonie podstawno-bocznej enterocytów dwunastniczych oraz w błonie komórkowej hepato-



Rycina 1. Rola hepcydyny w homeostazie żelaza  
Figure 1. Role of hepcidin in iron homeostasis

cytów i makrofagów śledzionowych. W efekcie biodostępność żelaza się zwiększa. Przy wysokim stężeniu żelaza wydzielanie hepcydyny ulega zwiększeniu, co skutkuje internalizacją ferroportyny i zahamowaniem wypływu żelaza z wyżej wymienionych komórek do osocza. Schematycznie ten układ regulacyjny został przedstawiony na rycinie 1.

Żelazo w przewodzie pokarmowym jest wchłaniane przez enterocyty dwunastnicze. Komórki te importują żelazo ze światła jelita przy pomocy transportera metali dwuwartościowych (DMT1), a następnie uwalniają je do osocza za pomocą ferroportyny (Fpn). To samo białko eksportujące znajduje się w błonie komórek magazynujących żelazo – hepatocytów i makrofagów śledzionowych. Wysokie stężenie żelaza w osoczu oraz cytokiny prozapalne, np. interleukina-6 (IL-6) stymulują produkcję hepcydyny. Hormon ten wiąże się z ferroportyną (Fpn). Kompleks hepcydyna-ferroportyna ulega internalizacji i rozkładowi wewnątrzkomórkowemu. Skutkuje to zmniejszeniem wchłaniania żelaza z przewodu pokarmowego i uwalniania z komórek magazynujących.

Wydzielanie hepcydyny przez hepatocyty regulowane jest na drodze transkrypcyjnej. W procesie tym współuczestniczy między innymi białko morfogenetyczne kości-6 (BMP6) oraz jego receptor. Przy wysokim stężeniu wewnątrz- i zewnątrzkomórkowym żelaza hepatocyty wydzielają więcej BMP6. Białko to wiąże się ze swoistym receptorem na zewnętrznej powierzchni błony hepatocytów przy współdziałaniu kompleksu holotransferyna-TfR oraz takich białek, jak produkt genu hemochromatozy (HFE), hemojuwelina, proteaza TMPRSS6 i neogenina. Prowadzi to do pobudzenia wewnątrzkomórkowej ścieżki sygnałowej ostatecznie prowadzącej do zwiększenia transkrypcji genu kodującego hepcydynę [29]. Dokładny opis procesów regulacji wydzielania hepcydyny w zależności od stężenia żelaza przekracza ramy tego opracowania. Należy jednak nadmienić, że złożoność tego procesu skutkuje niejednorodnym obrazem klinicznym dziedzicznej hemochromatozy, gdyż mutacje wielu genów kodujących wymienione białka mogą prowadzić do niedostatecznego wydzielania hepcydyny lub jej braku, a w konsekwencji do przeładowania organizmu żelazem.

W niedokrwistości z niedoboru żelaza, nieskie stężenie kompleksu  $Fe^{2+}$ -Tf w osoczu hamuje wydzielanie hepcydyny, co umożliwia większe wchłanianie żelaza z przewodu pokarmowego i jego uwal-

nianie z magazynów wewnątrzkomórkowych. W niedokrwistości hemolitycznej lub pokrwotocznej przy względnie prawidłowym stężeniu żelaza w osoczu również dochodzi do wzrostu absorpcji żelaza z dwunastnicy oraz jego zwiększonego uwalniania z magazynów wewnątrzustrojowych. Wynika to prawdopodobnie z hamowania produkcji hepcydyny poprzez czynniki indukowane hipoksją przy możliwym współdziałaniu substancji produkowanych w szpiku kostnym [30].

Wpływ zapalenia na produkcję hepcydyny został zbadany w warunkach *in vitro* na hodowli ludzkich hepatocytów [31]. Dowiedziono, że IL-6 oraz supernatant z makrofagów stymulowanych lipopolisacharydem (LPS) stymuluje hepatocyty do produkcji hepcydyny. Podobne zjawisko zaobserwowano u zdrowych ochotników, u których w kilka godzin po podaniu IL-6 lub LPS doszło do ok. siedmiokrotnego wzrostu stężenia hepcydyny we krwi oraz towarzyszącego spadku stężenia żelaza. Sekwestracja żelaza w makrofagach wynikająca z wpływu hepcydyny na jego zmniejszone uwalnianie z tych komórek jest dodatkowo nasilana przez zwiększoną zdolność makrofagów do absorpcji żelaza indukowaną stanem zapalnym. Zaobserwowano, że czynniki prozapalne – interferon  $\gamma$ , IL-10 i TNF- $\alpha$  wywołują nadekspresję białka transportującego metale dwuwartościowe-1 (DMT-1, *divalent metal transporter*) oraz ferrytyny w makrofagach, co skutkuje zwiększonym wiązaniem żelaza przez te komórki, a w konsekwencji zmniejszoną dostępnością tego pierwiastka dla komórek erytropoetycznych [32].

### Starzenie się jako proces sprzyjający niedokrwistości stanu zapalnego

W roku 2000 Franceschi i wsp. ukuli pojęcie „*inflammaging*” na określenie stanu prozapalnego o niewielkim nasileniu pojawiającego się w procesie starzenia [33]. Prozapalny fenotyp starzejącego się organizmu obejmuje zwiększoną ekspresję genów związanych z zapaleniem i odpowiedzią immunologiczną, podwyższonymi osoczwymi stężeniami cytokin takich, jak IL-6 i TNF- $\alpha$  oraz aktywacją szlaku sygnałowego czynnika jądrowego NF- $\kappa$ B, głównego regulatora odpowiedzi zapalnej [18]. Jednym z mechanizmów odpowiedzialnych za to zjawisko jest związane z wiekiem upośledzenie degradacji reaktywnych form tlenu prowadzące do uszkodzeń oksydacyjnych inicjujących proces zapalny. Wzrost masy tkanki

tłuszczowej również skutkuje zwiększeniem produkcji cytokin prozapalnych, co zaobserwowano u osób otyłych. Stąd też w zależnych od wieku zmianach w stosunkowym składzie masy ciała wynikających ze zmniejszenia masy beztłuszczowej można upatrywać przyczyny obserwowanego w starości nasilenia aktywności markerów zapalnych. Ponadto wiadomo, że aktywność szlaku NF- $\kappa$ B i wynikająca z niej ekspresja mediatorów zapalnych, w tym IL-6, jest hamowana przez estrogeny i testosteron. Należy się zatem spodziewać, że zmiany hormonalne związane z menopauzą i andropauzą mogą skutkować trwale podwyższonym stężeniem tych czynników zapalnych [34].

Wiele badań populacyjnych wykazało związek z wiekiem wzrost stężeń cytokin prozapalnych we krwi, występujący nawet u osób starszych bez klinicznych cech procesu chorobowego. We wspomnianym badaniu InCHIANTI obserwowano istotnie wyższe stężenia IL-6 i CRP u osób po 85 roku życia w porównaniu z osobami młodymi [35]. Badania te wykazały również występowanie wyższych stężeń IL-6 u osób z otyłością i współwystępującą sarkopenią, co potwierdza koncepcję udziału zależnych od wieku zmian w składzie masy ciała w prozapalnym fenotypie starości. W badaniu EPESE także zaobserwowano narastanie stężenia IL-6 z wiekiem wśród populacji osób po 70 roku życia [36].

Dane dotyczące wzrostu stężenia hepcydyny u zdrowych osób w podeszłym wieku są niejednoznaczne. W badaniach populacji ogólnej mieszkańców Nijmegen w Holandii oznaczono stężenie hepcydyny u trzech tysięcy osób w wieku 25-81 lat i zaobserwowano wyższe stężenia hepcydyny u kobiet w wieku pomenopauzalnym w porównaniu z młodszymi kobietami, nie zaobserwowano natomiast zmian w stężeniu hepcydyny u mężczyzn [37]. Podobne wyniki uzyskano w badaniu populacyjnym mieszkańców rejonu Val Borbera, przy czym dodatkowo zaobserwowano tu narastające z wiekiem stężenie izoformy hepcydyny składającej się z 20 aminokwasów [38]. Z kolei w polskich badaniach przeprowadzonych na grupie zdrowych ochotników, gdzie oceniano stężenie we krwi prohepcydyny (będącej prekursorem aktywnego 25-aminokwasowego hormonu), zaobserwowano, że w grupie osób w wieku 58-88 lat było ono wyższe niż w młodszych grupach wiekowych, a obserwacja ta dotyczyła zarówno mężczyzn, jak i kobiet [39].

Mimo pewnych przesłanek skłaniających do uznania procesu starzenia przynajmniej częściowo winnym niedokrwistości stanu zapalnego, bezpośrednie dowody na udział hepcydyny w tym mechanizmie nie są przekonujące. We wspomnianych badaniach InCHIANTI oceniono parametry prozapalne, w tym stężenie IL-6 oraz hepcydyny oraz skonfrontowano te wyniki z występowaniem niedokrwistości. O ile zaobserwowano wyższe stężenia IL-6 i CRP we krwi osób, u których występowała NSZ, o tyle średnie stężenie hepcydyny w tej grupie nie różniło się ani od grupy osób bez niedokrwistości, ani od grup z innymi postaciami niedokrwistości. Jedynie te osoby, u których stwierdzono niedokrwistość z niedoboru żelaza miały niższe stężenie hepcydyny niż pozostałe grupy [40]. Można jednak podejrzewać, że uwarunkowany wiekiem stan zapalny w pewien sposób zaburza homeostazę żelaza w tej grupie, gdyż u pacjentów z niedokrwistością fizjologiczna reakcja na hipoksję obejmowałaby również zahamowanie wydzielania hepcydyny. Powyższe wątpliwości dotyczące wpływu starzenia się na niedokrwistość stanu zapalnego i roli hepcydyny w tym procesie wymagają dalszych badań ze starannym wybraniem grupy badanej osób starszych nieobciążonych przewlekłym procesem chorobowym bezpośrednio wpływającym na homeostazę żelaza.

W drugiej części pracy autor omawia mechanizmy w jakich przewlekłe choroby uwarunkowane wiekiem sprzyjają niedokrwistości stanu zapalnego. Opisane zostały w niej również opcje diagnostyczne tego zaburzenia oraz stosowane strategie terapeutyczne, jak i spodziewane postępy w rozpoznawaniu i leczeniu NSZ.

#### Konflikt interesów / Conflict of interest

Adres do korespondencji:

✉ Arkadiusz Styszynski

Katedra i Zakład Patofizjologii

Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

ul. Święcickiego 6; 60-781 Poznań

☎ (+48 61) 854 65 73

✉ astyszyn@ump.edu.pl



**Piśmiennictwo**

1. Blanc B, Finch CA, Hallberg L i wsp. Nutritional anaemias. Report of a WHO Scientific Group. WHO Tech Rep Ser 1968;405:1-40.
2. Beutler E, Waalen J: The definition of anemia: what is the lower limit of normal of the blood hemoglobin concentration? *Blood* 2006;107(5):1747-50.
3. Hollowell JG, Van Assendelft OW, Gunter EW i wsp. Hematological and iron-related analytes: reference data for persons aged 1 year and over: United States, 1988-94. *Vital Health Stat* 2005;11:1-156.
4. Gaskell H, Derry S, Moore RA, McQuay HJ. Prevalence of anaemia in older persons: systematic review. *BMC Geriatr* 2008;8:1-8.
5. Wieczorowska-Tobis K, Czepulis N, Mossakowska M i wsp. Występowanie niedokrwistości w populacji starszych Polaków. W: *Aspekty medyczne, psychologiczne, socjologiczne i ekonomiczne starzenia się ludzi w Polsce*. Red: Mossakowska M, Więcek A, Błędowski P. Poznań: Wydawnictwo Termedia; 2012. str. 251-64.
6. Culleton BF, Manns BJ, Zhang J i wsp. Impact of anemia on hospitalization and mortality in older adults. *Blood* 2006;107(10):3841-6.
7. Penninx BW, Pahor M, Woodman RC, Guralnik JM: Anemia in old age is associated with increased mortality and hospitalization. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2006;61(5):474-9.
8. Riva E, Tettamanti M, Mosconi P i wsp. Association of mild anemia with hospitalization and mortality in the elderly: the Health and Anemia population-based study. *Haematologica* 2009;94(1):22-8.
9. Chaves PH, Ashar B, Guralnik JM, Fried LP. Looking at the relationship between hemoglobin concentration and prevalent mobility difficulty in older women. Should the criteria currently used to define anemia in older people be reevaluated? *J Am Geriatr Soc* 2002; 50(7): 1257-64.
10. Penninx BW, Pahor M, Cesari M i wsp. Anemia is associated with disability and decreased physical performance and muscle strength in the elderly. *J Am Geriatr Soc* 2004;52(5):719-24.
11. Denny SD, Kuchibhatla MN, Cohen HJ. Impact of anemia on mortality, cognition, and function in community-dwelling elderly. *Am J Med* 2006;119(4):327-34.
12. Dharmarajan TS, Avula S, Norkus EP: Anemia increases risk for falls in hospitalized older adults: an evaluation of falls in 362 hospitalized, ambulatory, long-term care, and community patients. *J Am Med Dir Assoc* 2006;7(5):287-93.
13. Atti AR, Palmer K, Volpato S i wsp. Anaemia increases the risk of dementia in cognitively intact elderly. *Neurobiol Aging* 2006;27(2):278-84.
14. Zamboni V, Cesari M, Zuccalà G i wsp. Anemia and cognitive performance in hospitalized older patients: results from the GIFA study. *Int J Geriatr Psychiatry* 2006;21(6):529-34.
15. Izaks GJ, Westendorp RG, Knook DL. The definition of anemia in older persons. *JAMA* 1999;281(18):1714-7.
16. Guralnik JM, Eisenstaedt RS, Ferrucci L i wsp. Prevalence of anemia in persons 65 years and older in the United States: evidence for a high rate of unexplained anemia. *Blood* 2004;104(8):2263-8.
17. Roy CN. Anemia of inflammation. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2010;2010:276-80.
18. Macciò A, Madeddu C. Management of anemia of inflammation in the elderly. *Anemia* 2012;563251:1-20.
19. van der Putten K, Braam B, Jie KE, Gaillard CA. Mechanisms of Disease: erythropoietin resistance in patients with both heart and kidney failure. *Nat Clin Pract Nephrol* 2008;4(1):47-57.
20. Jelkmann W. Proinflammatory cytokines lowering erythropoietin production. *J Interferon Cytokine Res* 1998;18(8):555-9.
21. Lang KS, Lang PA, Bauer C i wsp. Mechanisms of suicidal erythrocyte death. *Cell Physiol Biochem* 2005;15(5):195-202.
22. Tussing-Humphreys L, Pusatcioglu C, Nemeth E, Braunschweig C. Rethinking iron regulation and assessment in iron deficiency, anemia of chronic disease, and obesity: introducing hepcidin. *J Acad Nutr Diet* 2012;112(3):391-400.
23. Artym J. Udział laktoferyny w gospodarce żelazem w organizmie. *Postępy Hig Med Dosw* 2008;62:599-611.
24. Wang J, Pantopoulos K. Regulation of cellular iron metabolism. *Biochem J* 2011;434(3):365-81.
25. Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 2001;276(11):7806-10.
26. Ganz T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003;102(3):783-8.
27. Arnold J, Sangwaiya A, Manglam V i wsp. Presence of hepcidin-25 in biological fluids: bile, ascitic and pleural fluids. *World J Gastroenterol* 2010;16(17):2129-33.
28. Kulaksiz H, Fein E, Redecker P i wsp. Pancreatic beta-cells express hepcidin, an iron-uptake regulatory peptide. *J Endocrinol* 2008;197(2):241-9.
29. Ganz T. Hepcidin and iron regulation, 10 years later. *Blood* 2011;117(17):4425-33.
30. Peyssonnaud C, Nizet V, Johnson RS. Role of the hypoxia inducible factors HIF in iron metabolism. *Cell Cycle* 2008;7(1):28-32.
31. Nemeth E, Valore EV, Territo M i wsp. Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood* 2003;101(7):2461-3.
32. Tilg H, Ulmer H, Kaser A, Weiss G. Role of IL-10 for Induction of Anemia During Inflammation. *J Immunol* 2002;169(4):2204-9.
33. Franceschi C, Bonafè M, Valensin S i wsp. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence. *Ann N Y Acad Sci* 2000;908:244-54.
34. Maggio M, Guralnik JM, Longo DL, Ferrucci L. Interleukin-6 in aging and chronic disease: a magnificent pathway. *J Gerontol A Biol Sci*

- Med Sci 2006;61(6):575-84.
35. Ferrucci L, Corsi A, Lauretani F i wsp. The origins of age-related proinflammatory state. *Blood* 2005;105(6):2294-9.
  36. Cohen HJ, Pieper CF, Harris T i wsp. The association of plasma IL-6 levels with functional disability in community-dwelling elderly. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 1997;52(4):M201-8.
  37. Galesloot TE, Vermeulen SH, Geurts-Moespot AJ i wsp. Serum hepcidin: reference ranges and biochemical correlates in the general population. *Blood* 2011;117(25):e218-25.
  38. Campostrini N, Traglia M, Martinelli N i wsp. Serum levels of the hepcidin-20 isoform in a large general population: the Val Borbera study. *J Proteomics* 2012;76:28-35.
  39. Żekanowska E, Boińska J, Kwapisz J i wsp. Ocena stężenia prohepcydyny na tle wybranych parametrów gospodarki żelazem w surowicy krwi ludzi zdrowych. *Przegl Lek* 2011;68(2):82-6.
  40. Ferrucci L, Semba RD, Guralnik JM i wsp. Proinflammatory state, hepcidin, and anemia in older persons. *Blood* 2010;115(18):3810-6.