

# Demir Homeostazının Yeni Düzenleyicisi Hepsidin

## Hepcidin, A New Regulator of Iron Homeostasis

Güneş Başol

Burcu Barutçuoğlu

A. Erkin Bozdemir

Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı, Klinik Biyokimya Bilim Dalı, İzmir

### ÖZET

Son yıllarda keşfedilmiş, peptid yapıda bir hormon olan hepsidin, barsaklardaki demir emiliminin, makrofajlardaki demir döngüsünün ve hepatik depolardan demir salınımının homeostatik düzenleyicisi olarak tanımlanmaktadır. Hepsidin hücrel demir çıkışını, ferroportine bağlanarak ve onun yıkımını uyararak inhibe etmektedir. Hepsidin sentezi demir yüklenmesi ile artarken, anemi ve hipoksi durumlarında azalmaktadır. Ayrıca, hepsidin sentezi inflamasyon sırasında uyanılarak, makrofajlarda demirin tutulmasına, plazma demir düzeylerinin azalmasına ve inflamasyon anemisine yol açmaktadır. Son yıllarda yapılan çalışmalar herediter hemokromatozisin bilinen birçok formundan hepsidin eksikliğinin sorumlu olabileceğini göstermiştir. Hepsidin ve demir metabolizmasındaki rolünün keşfi, inflamasyon anemisi ve hemokromatozis için yeni tedavi olanaklarına yol açabilecektir.

**Anahtar Sözcükler:** Hepsidin, demir homeostazi, inflamasyon anemisi, hemokromatozis

### ABSTRACT

Hepcidin, a recently discovered peptide hormone, is the homeostatic regulator of intestinal iron absorption, iron recycling by macrophages and iron mobilization from hepatic stores. Hepcidin inhibits the cellular efflux of iron by binding to and inducing the degradation of ferroportin. Hepcidin synthesis is increased by iron loading and decreased by anemia and hypoxia. Additionally, hepcidin synthesis is greatly induced during inflammation, trapping iron in macrophages, decreasing plasma iron concentrations and causing anemia of inflammation. Recent studies indicate that hepcidin deficiency underlies most known forms of hereditary hemochromatosis. The discovery of hepcidin and its role in iron metabolism could lead to new therapies for anemia of inflammation and hemochromatosis.

**Key Words:** Hepcidin, iron homeostasis, anemia of inflammation, hemochromatosis

### GİRİŞ

Son yıllarda yapılan çalışmalar sonucunda demir homeostazının düzenlenmesinde rol alan yeni moleküllerin tanımlanması ile demir metabolizması hakkındaki bilgiler güncellenmiştir. Peptid yapısında küçük bir hormon olan hepsidin, demir metabolizmasının düzen-

lenmesinde merkezi bir rol oynadığının ve vücut savunmasında, inflamasyonda aracı olarak görev aldığının 2000 yılında keşfi ile birlikte herediter hemokromatozisin (HH) çeşitli tiplerinin patogenezi ışık tutulmuş ve inflamasyon anemisinin patofizyolojisine bakış değişmiştir (1,2). Hepsidin demir

homeostazındaki rolünü ve etki mekanizmasını anlayabilmek için öncelikle demir metabolizmasını hatırlamak uygun olacaktır.

### DEMİR METABOLİZMASI

Tüm canlı organizmalar için esansiyel bir element olan demirin, insanlarda yaklaşık üçte ikisi hemoglobin yapısında, kalanı miyoglobinde, solunum zinciri enzimlerinde ve hepatik ferritin olarak depo halinde bulunur. İnsanlarda demir, yaşanan eritrositlerden (yaklaşık 20 mg/gün) ve diğer kaynaklardan geri dönüşüm ile sıkı bir şekilde korunmaktadır. Plazmadaki demirin çoğu eritropoez için kemik iliğine yönlendirilmektedir. Günlük demir kaybı ise, günde sadece 1-2 mg demirin absorbe olması ile karşılanacak kadar azdır ve modern batı diyetleri, insanlardaki günlük demir ihtiyacının çok üzerinde demir içermektedir (3,4).

Demir, reaktif özelliğinden dolayı organizmada hasar oluşturabildiğinden, canlılar esansiyel fonksiyonları yerine getirecek ama hasar oluşturmayacak kadar demirin sağlanabilmesi için çeşitli mekanizmalar geliştirmiştir. İnsanlarda demir yüklenmesi durumlarında demir atılımını arttıran fizyolojik bir yol bulunmadığından, demir metabolizması sıkı bir şekilde kontrol edilmektedir (4,5). Sistemik demir homeostazının, barsaklarda demir emiliminin sıkı bir şekilde düzenlenmesi ile sağlandığı yıllardır bilinmektedir (2). Hepsidin gibi önemli homeostatik mekanizmalar, duodenumdan aşırı demir emilimini önlemekte ve makrofajlardan demir salınım hızını düzenlemektedir. Diğer ferroproteinlerce kullanılmayan hücrese demir, demir kapasitesi sınırlı olan ferritinin yapısında birikmektedir. Demir emiliminin bozulduğu, ihtiyaçtan daha fazla demirin emildiği ve total vücut demirinin normalin 5-10 katı düzeylerde olduğu HH'li veya demir yüklenmesi olan hastalarda, aşırı demir yaygın organ hasarına yol açmaktadır (6).

Demir metabolizmasının sıkı bir şekilde düzenlenmesinin bir diğer nedeni, enfeksiyona direncini, invaze olan bakteri ile vücut savun-

ması arasındaki mücadele sonucuna bağlı olmasıdır. Demir miktarının çok olduğu ortamlarda bakteriler daha hızlı çoğaldığından, aşırı demir yüklenmesi olan hastalar patojenlere karşı daha savunmasızdır ve demir alımındaki orta dereceli artış bile enfeksiyona vücut direncini azaltmaktadır (7).

### Demir emilimi

Büyük bir bölümü duodenumda gerçekleşen demir emilimi, ferrik demirin ( $Fe^{+3}$ ) ferröz demire ( $Fe^{+2}$ ) indirgenmesi, apikal alım, hücre içi depolama veya hücreler arası etkileşim ve basolateral salınım gibi çeşitli basamaklardan oluşmaktadır. Diyetle alınan  $Fe^{+3}$ , duodenumun fırçamsı kenarında Dcytb (duodenal ferric reductase) ile  $Fe^{+2}$ 'ye indirgenmekte ve DMT1 (divalent metal transporter 1) aracılığı ile fırçamsı kenar membranından enterositlere alınmaktadır.  $Fe^{+2}$  hücrede ferritin olarak depolanıp, dökülen enterositlerle birlikte atılmakta ya da ferroportin (FPN) aracılığı ile basolateral membrandan plazmaya transfer olmaktadır.  $Fe^{+2}$  hephaestin (Heph) aracılığı ile  $Fe^{+3}$  olarak dolaşıma salınmaktadır. Demirin, demir transfer eden hücreler olan enterosit, hepatosit ve makrofajlardan çıkışını sağlayan tek protein olan ferroportin aracılı salınımı, demir homeostazının önemli bir belirteçidir. Dolaşıma salınan demir transferrine bağlanmakta, demir ihtiyacı olan hücrelerin yüzeyinde bulunan transferrin reseptörü 1 (TfR1) aracılığı ile hücrelere alınmaktadır (8). Karaciğer ve retiküloendoteliyal (RE) makrofajlar temel demir depoları olarak işlev görmektedir (5). RE makrofajlar demiri yüzey TfR aracılığı ile veya yaşanan eritrositlerin fagositozu ile elde etmektedir. Hem oksijenaz ile açığa çıkan demir, ferritin olarak depolanmakta ya da gerektiğinde FPN1 aracılığı ile plazmaya salınmaktadır.

### HEPSİDİNİN KEŞFİ

2001 yılında Park ve ark. (9) çeşitli insan vücut sıvılarının antimikrobiyal özelliklerini incelerken, idrarda karaciğer kaynaklı (hep-) ve in vitro antibakteriyel özelliklere (-cidin)

sahip yeni bir peptid bulmuş ve onu hepsidin (hepatik bactericidal protein) olarak adlandırmıştır. Eş zamanlı fakat bağımsız olarak 2000'de Krause ve ark. (10) aynı peptidi plazma ultrafiltratından izole etmiş ve LEAP-1 (liver-expressed antimicrobial peptide) olarak adlandırmıştır. Antimikrobiyal peptid olarak keşfedilen hepsidin, sistemik demir homeostazındaki rolü ise diyetle demir yüklenen farelerin karaciğerlerinde hepsidin mRNA'sının aşırı eksprese olduğunun gözlenmesi ile farkedilmiştir (11). Günümüzde hepsidin, demir metabolizmasının düzenlenmesindeki temel hormon olarak kabul edilmektedir (8).

### HEPSİDİNİN YAPISI

19q13.1 kromozomunda yer alan insan hepsidin geni (HAMP; OMIM 606464), 84 aminoasidlik (aa) öncü protein pre-prohepsidini kodlar. Pre-prohepsidin, enzimatik ayrılma sonrası 64 aa'lık pro-hepsidin peptidi olarak endoplazmik retikulum lümenine aktarılır. 39 aa'lık öncü peptidin posttranslasyonel olarak ayrılması sonucu, 25 aa'lık matür biyoaktif hepsidin-25 oluşur. Karaciğerde sentezlenen, plazmada bulunan ve idrarla atılan hepsidin 25 aa'lık formun yanı sıra idrarda, muhtemelen 25 aa'lık formun yıkım ürünleri olan 20 ve 22 aa'lık formları da bulunur (5, 12). Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi ile yapılan çalışmalarda biyoaktif hepsidin, 4 disülfid bağı ile stabilize olan -tabaka firkete yapısına sahip olduğu ve bu bağlardan birinin alışılmışın dışında, dönüşte yer alan, komşu bir disülfid bağı olduğu gösterilmiştir (13).

### HEPSİDİNİN BİYOLOJİK İŞLEVLERİ

Hepsidin vücutta en az iki farklı işlevi vardır.

#### Antimikrobiyal işlev

İnsan hepsidini in vitro olarak, 10-30 µM gibi çok yüksek konsantrasyonlarda antibakteriyel ve antifungal özellikler göstermektedir. İdrar hepsidin konsantrasyonları 3-30 nM (10-100 ng/mL) aralığındadır ve infeksiyonlar sıra-

sında 10 kata kadar artabilmektedir. Bu yüzden hepsidin idrarda antimikrobiyal etki göstermesi olası değildir (1).

#### Demir-düzenleyici işlev

Diyetsel demir ile hepsidin sentezinin artmasının gözlenmesi ile hepsidin demir metabolizmasında yer aldığı düşünülmüş ve transgenik fare modellerinde hepsidin eksikliği ve fazlalığının etkileri incelenerek hepsidin spesifik rolü araştırılmaya başlanmıştır. Yapılan çalışmaların sonuçları, fare hepsidin, barsakta demir emiliminin, plasentadan demir taşınmasının ve makrofajlardan demir salımının negatif düzenleyicisi olduğunu göstermiştir (1).

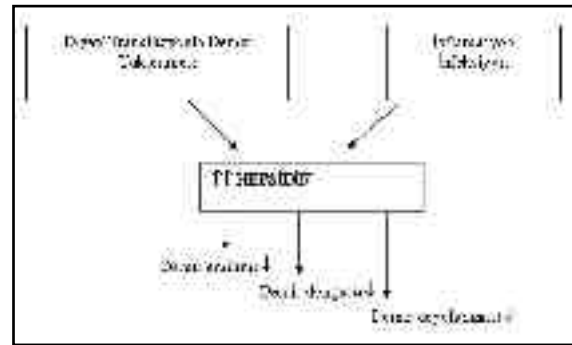
### HEPSİDİN SENTEZİNİN DÜZENLENMESİ

#### Demir ile hepsidin sentezinin düzenlenmesi

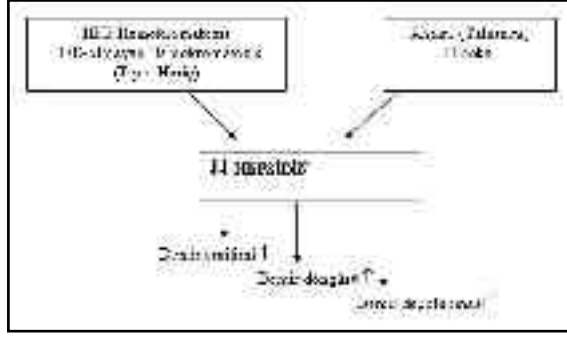
Plazma demir düzeylerinin ve dokulardaki demir depolarının artışı ile sentezi uyarılan hepsidin, makrofajlardan ve duodenal enterositlerden plazmaya demir salımını azaltmaktadır (Şekil 1). Bu homeostatik döngü, plazma demirinin sabit bir aralıkta tutulmasını sağlarken, aşırı demir emilimini ve dokularda demir birikimini önlemektedir (14).

#### Anemi ve hipoksi ile hepsidin sentezinin düzenlenmesi

Diyetle alınan veya hemoglobinden açığa çıkan demirin büyük bir kısmı, kan kaybı veya



**Şekil 1.** Hepsidin sentezinin artması enterositlerden, makrofajlardan ve hepatositlerden demir çıkışını azaltır.



**Şekil 2.** Hepsidin sentezinin azalması enterositlerden, makrofajlardan ve hepatositlerden demir çıkışı artırır.

hipoksi gibi eritropoetik uyarıcıların ardından üretimi artan eritrositlere yönelir (1). Bu uyarılar hepsidin üretimini azaltıp, hepsidin demir emilimi ve makrofajlardan demir salınımı üzerine olan inhibitör etkisini ortadan kaldırarak, daha fazla demirin eritropoez için kullanılmasını sağlar (Şekil 2). Ancak anemi ve hipoksinin hepsidin üretimini baskılamada rol aldığı moleküler mekanizmalar tam olarak bilinmemektedir. Aneminin, hepsidini iki yolla regüle edebileceği düşünülmektedir. Bunlar, hepsidin gen ekspresyonunu düzenleyen muhtemel bir hipoksi ile indüklenen faktörün (HIF) yer aldığı doku hipoksisi ve eritropoezi uyararak indirekt olarak hepsidin sentezini baskılayan transferrin saturasyonunun azalmasıdır. Hangi yolla olursa olsun, hepsidin sentezi talasemiler gibi ineffektif eritropoezle giden hastalıklarda eşlik eden demir yüklenmesine rağmen azalmış olarak bulunur. Bu durum hepsidin üretiminin anemi ile baskılanmasının, hepsidin sentezinin demir yüklenmesi ile uyarılmasına kıyasla daha güçlü bir etkiye sahip olduğunu göstermektedir (7). Bu hastalardaki düşük hepsidin düzeyleri, demirin aşırı emilimine ve organ hasarı ile sonuçlanan sistemik demir yüklenmesine sebep olmaktadır. Talaseminin ciddi formlarında, tekrarlanan kan transfüzyonları demir yükünü artırır. Bu hastalarda göreceli hepsidin eksikliği, demiri toksik olmayan makrofaj havuzundan, demir toksisitesine karşı savunmanın daha az etkin olduğu diğer

hücre tiplerine ve dokulara dağıtarak, demir toksisitesini arttırmaktadır (12).

### **İnflamasyon ile hepsidin sentezinin düzenlenmesi**

Hepsidin, vücut savunması, inflamasyon ve demir metabolizması arasında önemli bir bağ oluşturur. Enfeksiyon ve inflamasyonla hepsidin sentezinin belirgin olarak arttığı ve IL-6'nın bu artıştan sorumlu uyarıcı olduğu çeşitli hayvan ve insan çalışmalarında gösterilmiştir. IL-6 infüzyonu yapılan gönüllü kişilerde saatler içerisinde idrarda hepsidin atılımının 7.5 kat arttığı, bu artışa serum demirinde ve transferrin saturasyonunda %30 azalmanın eşlik ettiği görülmüştür. Benzer şekilde subkutan turpentin (terebentin, neft yağı) enjeksiyonu ile oluşturulan inflamasyon sırasında, normal farelerin serum demirinde belirgin azalma görülürken, hepsidinden yoksun ve IL-6'dan yoksun farelerde bu cevabın kaybolduğu gözlenmiştir (4,7). Nemeth ve ark. (15)'nin 2003 yılında yaptığı bir çalışmada transfüzyonla indüklenmiş demir yüklenmesi, enfeksiyonu ve inflamatuvar hastalığı olan hastalarda idrarda hepsidin atılımının belirgin olarak arttığı, in vitro IL-6 ile hepsidin mRNA'sının belirgin olarak indüklendiği, IL-1 ve tümör nekrozis faktör- (TNF- ) ile indüklenmediği gözlenmiştir. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, insan hepsidinin bir tip 2 akut-faz proteini olduğunu göstermiştir. Kemna ve ark. (16) 2005 yılında 10 sağlıklı gönüllüye lipopolisakkarid enjeksiyonu yaparak oluşturdukları in vivo insan endotoksemi modelinde, enjeksiyon sonrası 3 saatte IL-6 düzeylerinin, 6 saatte idrar hepsidin düzeylerinin arttığını, bunu takiben serum demir düzeylerinin belirgin olarak azaldığını gözlemlemiştir.

İnflamasyon sırasında artan hepsidin düzeyleri, makrofajlar, hepatositler ve duodenal enterositlerde ferroportinin hücre içine alınımını ve yıkımını uyarmakta, böylece demirin bu hücrelerde tutulmasına ve plazmaya demir akışının önlenmesine yol açmaktadır

(Şekil I). Saatler içerisinde, genç eritrositler tarafından demirin sürekli kullanılması plazma demirini azaltarak, hipoferremiye yol açmaktadır (12). Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar, IL-6-hepsidin aksının hipoferremik cevapta kritik bir öneme sahip olduğunu ve hepsidin inflamasyondaki hipoferremide rol alan temel aracı olduğunu göstermektedir.

### HEPSİDİNİN ETKİ MEKANİZMALARI

Hepsidin etki mekanizmalarını tanımlayabilmek için, ilk kez 2000 yılında tanımlanan bir protein olan ferroportinin fonksiyonunu anlamak gerekir. Ferroportin, plazmaya demir salımında rol alan temel hücreler olan enterositler, makrofajlar, hepatositler, plasental trofoblastların yüzeyinde bulunan ve demirin bu hücrelerden atılımını sağlayan transmembran yerleşimli bir proteindir. Demir döngüsünün merkezinde kemik iliği, hepatik Kupffer hücreleri ve dalakta bulunan RE makrofajlar tarafından yaşanan eritrositlerin yıkımı yer almaktadır. Bu makrofajlardan demirin çıkışı ferroportin tarafından kontrol edilir. Hepatositler vücudun demir durumuna göre hepsidin salınımını arttırmakta ya da azaltmakta olduğundan, ferroportinin etkisinde merkezi bir işleve sahiptir. Hepsidin ferroportin ile etkileşime geçerek hücrel demir salınımını düzenlemektedir (17). Nemeth ve ark. (18) hepsidin ferroportine direkt olarak bağlandığına, bu bağlanmanın ferroportinin internalize olup, yıkılmasına yol açtığına ve ferroportinin hücre membranından kaybının hücrel demir atılımını sonlandırdığına dair bir rapor yayınlamıştır. Demir depoları yeterli veya yüksek olduğunda, karaciğer hepsidin üretimini artırır. Hepsidin, ince bağırsakta ferroportini internalize ederek demiri enterositlerden plazmaya taşıyan tek yolu bloke eder. Demir depoları düşük olduğunda ise, hepsidin üretimi azalır, ferroportin molekülleri enterositlerin bazolateral membranlarında yer alarak, demiri enterosit sitoplazmasından plazma trans-

ferrinine aktarır. Benzer şekilde hepsidin-ferroportin etkileşimi makrofajlardaki demir döngüsünün nasıl düzenlendiğini açıklık getirir ve hepsidin üretiminin yüksek olduğu inflamatuvar durumlarda demir-yüklü makrofajların varlığına işaret eder. Hepsidin varlığında ferroportin internalize olur ve demir makrofajlar içerisinde hapis olur (1,4).

### HEPSİDİNİN HASTALIKLARDAKİ ROLÜ

#### İnflamasyon Anemisi

Kronik hastalık anemisi olarak da bilinen inflamasyon anemisi, infeksiyon, artrit, malignite, travma ve organ yetmezliği gibi klinik durumlarda sıklıkla gözlenen edinilmiş bir durumdur. Başlangıçta hafif olan anemi zamanla hipokrom mikrositer eritrositlerle karakterize olarak, altta yatan hastalığın morbiditesini artırır. Vücut savunma mekanizmasının bir parçası olduğu düşünülen inflamasyon anemisi, azalmış demir ve demir bağlama kapasitesi (transferrin), artmış ferritin ve kemik iliği makrofajlarında demirin varlığı ile karakterizedir. Bu durum depolardan demir mobilizasyonunun bozulmuş olduğunun bir göstergesidir. İnflamasyon anemisinin patogenezinde demir dengesinde meydana gelen değişikliklerle kısmen açıklanabilir (19). Yapılan çalışmalarla inflamasyonun, sitokin aracılı hepsidin üretimindeki artış ile hipoferremiye yol açtığı gösterilmiştir. Hipoferremi, makrofajlardan, hepatositlerdeki demir depolarından, enterositlerden demirin plazmaya taşınmasının hepsidin-aracılı inhibisyonu sonucu meydana gelir. Sonuçta infeksiyon ve inflamasyona hipoferremik cevabın bir yan etkisi olarak, hemoglobin sentezi ve eritrosit üretimi için gerekli olan demir miktarı azalır ve inflamasyon anemisi meydana gelir (1,20). İnsan karaciğer hücre kültürleri, fareler ve gönüllülerde yapılan bir çalışmada, IL-6'nın inflamasyon sırasında hepsidin üretimi için gerekli bir sitokin olduğu ve IL-6-hepsidin aksının inflamasyondaki hipoferremiden sorumlu olduğu gösterilmiştir (21).

### **Hereditör Hemokromatozis**

HH, aşırı demir emilimi, transferrin, ferritin ve diğer demir bağlayıcı proteinlerin saturasyonu ve vital organlarda demir birikimi ile karakterize bir grup bozukluğu içermektedir. Serbest demir, reaktif oksijen türlerinin üretimini katalize ettiğinden, toksik bir maddedir. Bu nedenle hemokromatozis, karaciğer yetmezliği, kardiyomyopati, endokrin bezlerin yıkımı ve eklem hasarına yol açabilmektedir. Günümüzde HH'den sorumlu spesifik genler belirlenmiştir. En sık görülen formu olan Tip 1 HH, HFE genindeki mutasyonlar sonucu meydana gelen otozomal resesif bir bozukluktur (1,4,22). HH'lu hastaların çoğu HFE genindeki C282Y mutasyonu için homozigottur. HFE dışındaki başka bazı genlerin de mutasyona uğradığında hepsidin ekspresyonunda azalmaya ve klinik olarak hereditör hemokromatozise yol açtığı bilinmektedir. Bu genlerden biri hepatositlerce aşırı eksprese olan transferrin reseptörü 2'yi kodlayan TFR2'dir (Tip 3 HH). TFR2, dolaşımdaki demir miktarını algılayarak, hepsidin ekspresyonuna etki eder. Diğer bir gen olan hemojuvelin (HJV) ise HH'un klinik olarak en ciddi ve erken başlangıçlı formu olan juvenil hemokromatozisli (Tip 2) birçok kişide mutasyona uğramıştır. Juvenil hemokromatozis ayrıca hepsidini kodlayan gen olan HAMP genindeki mutasyonlara bağlı olarak da meydana gelebilmektedir (8). Ferroportin genindeki mutasyon sonucu meydana gelen otozomal dominant hemokromatozis (Tip 4) diğer hemokromatozis türlerinden demir birikiminin hepatositler yerine Kupffer hücrelerinde olması ile ayırt edilir (4).

HH'li hastalarda hepsidin düzeylerine yönelik geniş çaplı sistematik çalışmalar rapor edilmemiş olmasına rağmen, hemokromatozisin birçok formunun hepsidin eksikliği sonucu meydana geldiği ve hastalığın şiddetinin hepsidin düzeyleriyle bağıntılı olduğu yapılan çalışmalarla desteklenmiştir (4,12). Sık yapılan transfüzyonlar sonucu oluşan kazanılmış demir yüklenmesi durumlarında

ise idrarla hepsidin atılımı ve hepsidin üretimi artmaktadır (15). HFE genindeki mutasyonlar sonucu meydana gelen HH'in sık görülen formunda ise hepsidin düzeylerinin düşük olduğu yapılan çalışmalarla gösterilmiştir. Hastalığın daha ciddi formu olan ve hepsidin geni (HAMP) veya HJV genindeki defekt sonucu meydana gelen juvenil hemokromatozisde ise idrarda hepsidin bulunmamaktadır. Ferroportin mutasyonu sonucu meydana gelen formunda ise bazı hastalarda idrarda hepsidin düzeylerinin artmış olduğu gözlenmiştir (1,4). Tüm bu çalışmalar bize HFE, TFR2 ve HJV'nin hepsidin ekspresyonunu düzenleyen bir yolda rol aldığını düşündürmektedir. Ancak bu genlerin hepsidin ekspresyonunu hangi moleküler mekanizmalarla etkilediği bilinmemektedir (8).

### **$\beta$ -Talasemi**

Demir yüklenmesi sonucu meydana gelen komplikasyonlar,  $\beta$ -talasemi'lerde temel morbidite ve mortalite sebebidir. Talasemia intermedialı hastalarda demir yüklenmesi, talasemia majörlü hastalara göre daha yavaş gelişmektedir. Bu durum kronik anemi ve efektif olmayan eritropoeze bağlı olarak artmış intestinal emilim nedeniyledir. Talasemia intermedialıdaki artmış demir emilimi, demir düzenleyici hormon olan hepsidin eksikliğine bağlı olarak gelişiyor olabilir. Origa ve ark. (23)'ün yaptığı bir çalışmada, talasemia intermedialı hastalarda talasemia majörlü hastalara kıyasla daha düşük hepsidin düzeyleri tespit edilmiştir ki bu durum, artmış eritropoezin hepsidin regülasyonunda dominant bir baskılayıcı etkisi olduğunu göstermektedir. Talasemia majörlü hastalarda ise daha yüksek hepsidin seviyelerinin gözlenmesi, sık yapılan transfüzyon tedavilerinin eritropoezi baskılayıp, vücudun demir yükünü arttırması nedeniyledir. Talasemi sendromlarında hepsidin ölçümünün tanıl ve prognostik değerlendirmede rol alacağı ve ekzojen hepsidin uygulamalarının talasemia intermedialı hastalarda demir homeostazının

sağlanmasında yararlı olabileceği öngörülmektedir.

## HEPSİDİNİN KLİNİK KULLANIMI

### İnsanlarda İdrar ve Serumda Hepsidin Ölçümü

Plazma veya idrarda hepsidin düzeylerinin ölçümü, inflamasyon anemisi ile demir eksikliği anemisinin ayırıcı tanısına veya hemokromatozin tanısına katkı sağlamasına rağmen (Tablo 1), henüz yaygın olarak kullanılan bir yöntem bulunmamaktadır. Hayvan ve hücre kültür çalışmalarında en çok tercih edilen yöntem olan hepsidin mRNA ekspresyonu, invazif örnekleme gerektirdiğinden insan çalışmalarında çok nadir olarak kullanılmaktadır. Spesifik anti-hepsidin antikor kullanımına dayalı immuno-histokimyasal doku boyama, SDS-PAGE ve Western Blot (24) gibi immünokimyasal yöntemler, uygun antikorların elde edilmesindeki zorluk nedeniyle problemlidir.

### Antikora dayalı hepsidin ölçümü

Günümüzde klinik çalışmalarda kullanılan, idrarda hepsidin kantitasyonunu başarılı bir şekilde yapan ve dünyada sadece tek bir laboratuvarında uygulanan tek bir immünokimyasal yöntem bulunmaktadır (15). Protein ekstraksiyonu gibi analiz öncesi fazlarda hepsidin kaybının kontrol edilememesinden dolayı bu yöntem semikantitatif bir yöntem olarak değerlendirilmektedir.

Hepsidin pro-peptid bölgesine karşı antikorlar kullanılarak, hepsidin öncülü olan prohepsidin ölçümü yapan bir ELISA kiti

rapor edilmiştir (25). Ancak yapılan çalışmalarda hepsidin ve diğer demirle ilişkili parametreler arasında belirgin bir bağlantı bulunmadığından, bu yöntemin tanısal amaçlı kullanımını tartışmalıdır.

### Kütle spektrometrik hepsidin ölçümü

Son yıllarda surface-enhanced laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (SELDI-TOF-MS) gibi kütle spektrometrik ölçüm yöntemlerinin (26-28) geliştirilmesi ile serum ve idrarda hepsidin ölçümü daha hızlı, basit ve erişilebilir olmuş, antikor ve antijen üretiminde karşılaşılan zorlukların da önüne geçilmeye çalışılmıştır. SELDI teknolojisi, ön işlem gerektirmeksizin minimal miktarda biyolojik sıvı ile klasik solid-faz ekstraksiyon kromatografisinin direkt lazer desorpsiyon/iyonizasyon kütle spektrofotometrik ölçümü ile kombine edilmesi temeline dayanmaktadır (27).

Serum hepsidin analizi üzerine likid kromatografi tandem mass spektrometri (LC-MS/MS) yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen bir başka rapor da Murphy ve ark. (29) tarafından bildirilmiştir.

Günümüzde kütle spektrometri temeline dayalı serum ve idrarda hepsidin ölçümleri çekici bir opsiyon olarak gözükmekte birlikte, klinik çalışmalarda araştırma amaçlı olarak tüm dünyada sadece birkaç laboratuvarında uygulanabilmektedir. Hepsidin düzeylerinin ve izoformlarının doğru bir şekilde ölçülebilmesi için analitik tekniklerin sürekli olarak yenilenmesi gerekmektedir.

**Tablo 1.** Demir metabolizması ile ilgili çeşitli bozukluklarda plazma veya idrar hepsidini.

Hastalık	Hepsidin	Serum demiri	Ferritin
İnflamasyon anemisi			
Demir eksikliği			
Transfüzyonel demir yüklenmesi			
HH (Tip 1, 2, 3)	/yok		
HH (Tip 4)		Normal, yaşla	

### Hepsidin Tedavi Amaçlı Kullanımı

Tanısıl amaçlı kullanımının yanısıra hepsidin gelecekte demir metabolizması ile ilişkili çeşitli hastalıkların tedavisinde yer alacağı düşünülmektedir. Örneğin hepsidin agonistleri, HH tedavisinde ve ayrıca talasemi hastalarında olduğu gibi hipoksik veya anemik bir uyarana ikincil olarak hepsidin baskılandığı durumlarda demir yükünün azaltılmasında terapötik bir ajan olarak kullanılabilir (30).

Hepsidin aşırı ekspresyonu ve retiküloendothelial sistem hücrelerinde hepsidin aracılı demir sekestrasyonu sonucu meydana gelen inflamasyon anemisinde, hepsidin antagonistlerinin kullanımı demir biyoyararlanımının azalmasını sınırlandırarak inflamasyon anemisinin geriye döndürülmesinde etkili olabilir (2,31). Eritropoetin (EPO) üretiminin bozulduğu ve özellikle rekombinan EPO'ya cevabı düşük olan kronik böbrek yetmezlikli anemik hastalarda, hepsidin antagonistleri EPO tedavisini desteklemek amacı ile kullanılabilir (32).

Sonuç olarak, hepsidin keşfi normal demir metabolizmasının fizyolojisine ve demir metabolizma anormallikleri ile ilişkili hastalıkların patofizyolojisine yeni bir bakış açısı getirmiştir. Ancak hepsidin ile ilişkili yanıtlanması gereken birçok soru daha vardır. Bu konunun aydınlatılması, hepsidin demirle ilişkili hastalıkların tanı ve tedavisindeki potansiyelinin değerlendirilmesine olanak sağlayacaktır.

### KAYNAKLAR

1. Ganz T. Hepsidin-a regulator of intestinal iron absorption and iron recycling by macrophages. *Best Practice & Research Clinical Haematology* 2005; 18 (2): 171-82.
2. Atanasiu V, Manolescu B, Stoian I. Hepsidin- central regulator of iron metabolism. *European Journal of Haematology* 2007; 78: 1-10.
3. Ganz T. Hepsidin in iron metabolism. *Current Opinion in Hematology* 2004; 11: 251-4.
4. Ganz T. Hepsidin and Its Role in Regulating Systemic Iron Metabolism. *Hematology* 2006; 29-35.

5. Kemna EH, Tjalsma H, Willems HL, Swinkels DW. Hepsidin: from discovery to differential diagnosis. *Haematologica* 2008; 93(1): 90-7.
6. Beutler E. Iron storage disease: facts, fiction and progress. *Blood Cells Mol Dis* 2007; 39(2): 140-7.
7. Ganz T. Hepsidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003; 102(3): 783-8.
8. Fleming RE, Bacon BR. Orchestration of Iron Homeostasis. *New England Journal of Medicine* 2005; 352(17): 1741-4.
9. Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Hepsidin, a Urinary Antimicrobial Peptide Synthesized in the Liver. *The Journal of Biological Chemistry* 2001 276(11): 7806-10.
10. Krause A, Neitz S, Magert HJ, et al. LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Letters* 2000; 480: 147-50.
11. Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, et al. A new mouse liver-specific gene, encoding a protien homologous to human antimicrobial peptide hepsidin, is over-expressed during iron overload. *Journal of Biological Chemistry* 2001; 276: 7811-9.
12. Ganz T, Nemeth E. Regulation of iron acquisition and iron distribution in mammals. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1763(7): 690-9.
13. Hunter HN, Fulton DB, Ganz T, Vogel HJ. The solution structure of human hepsidin, a peptide hormone with antimicrobial activity that is involved in iron uptake and hereditary hemochromatosis. *J Biol Chem* 2002; 277(40): 37597-603.
14. Anderson GJ, Darshan D, Wilkins SJ, Frazer DM. Regulation of systemic iron homeostasis: how the body responds to changes in iron demand. *Biomaterials* 2007; 20: 665-74.
15. Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G, Lichtenstein A, Ganz T. Hepsidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood* 2003; 101(7): 2461-3.
16. Kemna E, Pickkers P, Nemeth E, van der Hoeven H, Swinkels D. Time-course analysis of hepsidin, serum iron, and plasma cytokine levels in humans injected with LPS. *Blood* 2005; 106(5): 1864-6.
17. Rossi E. Hepsidin-the iron regulatory hormone. *Clin Biochem Rev* 2005; 26(3): 47-9.
18. Nemeth E, Tuttle MS, Powelson J, Vaughn MB, Donovan A, Ward DM, et al. Hepsidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science* 2004; 306(5704): 2090-3.
19. Roy CN, Andrews NC. Anemia of inflammation: the hepsidin link. *Current Opinion in Hematology* 2005; 12: 107-11.
20. Nemeth E, Ganz T. Hepsidin and iron-loading anemias. *Haematologica* 2006; 91(6): 727-32.



21. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, et al. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest* 2004; 113(9): 1271-6.
22. Fleming RE, Sly WS. Mechanisms of Iron Accumulation in Hereditary Hemochromatosis. *Annu Rev Physiol* 2002; 64: 663-80.
23. Origa R, Galanello R, Ganz T, Giagu N, Maccioni L, Faa G, et al. Liver iron concentrations and urinary hepcidin in beta-thalassemia. *Haematologica/The Hematology Journal* 2007; 92(5): 583-8.
24. Dallalio G, Fleury T, Means RT. Serum hepcidin in clinical specimens. *Br J Haematol* 2003; 122(6): 996-1000.
25. Kulaksiz H, Gehrke SG, Janetzko A, Rost D, Bruckner T, Kallinowski B, et al. 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: 735-43.
26. Kemna E, Tjalsma H, Laarakkers C, Nemeth E, Willems H, Swinkels D. Novel urine hepcidin assay by mass spectrometry. *Blood* 2005; 106(9): 3268-70.
27. Tomosugi N, Kawabata H, Wakatabe R, Higuchi M, Yamaya H, Umehara H, et al. Detection of serum hepcidin in renal failure and inflammation by using Protein Chip System. *Blood* 2006; 108(4): 1381-7.
28. Kemna EH, Tjalsma H, Podust VN, Swinkels DW. Mass spectrometry-based hepcidin measurements in serum and urine: analytical aspects and clinical implications. *Clin Chem* 2007; 53(4): 620-8.
29. Murphy AT, Witcher DR, Luan P, Wroblewski VJ. Quantitation of hepcidin from human and mouse serum using liquid chromatography tandem mass spectrometry. *Blood* 2007; 110(3): 1048-54.
30. Hugman A. Hepcidin: an important new regulator of iron homeostasis. *Clin Lab Haem* 2006; 28: 75-83.
31. Loréal O, Haziza-Pigeon C, Troadec MB, Detivaud L, Turlin B, Courselaud B, et al. Hepcidin in iron metabolism. *Curr Protein Pept Sci* 2005; 6(3): 279-91.
32. Vyoral D, Petrak J. Hepcidin: A direct link between iron metabolism and immunity. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 2005; 37: 1768-73.

---

**Yazışma adresi:**

Dr. Güneş Başol  
 Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi  
 Biyokimya Anabilim Dalı, Klinik Biyokimya Bilim Dalı  
 Bornova, İzmir  
 Tel : 0.232 390 43 16  
 GSM : 0.542 323 88 94  
 E-posta: gunes.basol@ege.edu.tr

---