

INTERRELASI BESI DENGAN SITOKIN DAN *VICE VERSA*

Ketut Suega

Divisi Hematologi – Onkologi Medik

Bagian/SMF Ilmu Penyakit Dalam FK Unud/RSUP Sanglah Denpasar

Email: ksuega@yahoo.com

ABSTRACT

Iron is an essential substance needed for metabolism process, such as for transporting oxygen to the tissues for energy production in cells. Iron is also important for transporting electrons in the mitochondria for cell respiration process, and for synthesizing Deoxyribo Nucleic Acid (DNA). In addition to its role in oxygen transport and metabolic pathways, iron plays a pivotal role in immune function by promoting lymphocyte activation and proliferation. On the other hand, iron over-load can have immune disorders and yet pathogenic microorganism require iron for their growth and proliferation. Therefore iron homeostasis must be maintained through careful regulation of duodenal absorption and recycling of iron stores since human body has no ideal excretory system for iron. Discovery of hepcidin peptide help clarify molecular based of cellular interaction between duodenal iron absorption capacity and iron stores cells. Hepcidin a putative negative humoral regulator of iron homeostasis by inhibiting iron absorption and couple with ferroportin preventing iron exported from intracellular iron stores. Hepatic hepcidin expression is increased in iron overload and decreased in iron deficiency. In addition to regulation by body iron needs, hepcidin is increased during an acute phase response of inflammation processed. When an inflammation is initiated, liberation of proinflammatory cytokine IL-6 stimulate hepcidin expression causing iron absorption and iron release from the macrophage of the reticuloendothelial system are decreased. Many other studies on humans and experimental animals have shown significant change of the levels of certain cytokines in iron deficiency state such as IL-2; IL-4; IL-6; IL-10; IL-12; IFN gamma. As summarized, cytokines influence iron homeostasis and in the other way iron influences activity of cytokines and immune effector mechanism of macrophages, and all these affect the level of immune defence against invading pathogens.

Keywords: Iron, cytokine, immune response, hepcidin.

PENDAHULUAN

Besi merupakan senyawa yang terbanyak didapat di bumi yang merupakan nutrisi esensial yang diperlukan oleh semua sel-sel tubuh manusia. Perannya dalam proses metabolisme tubuh menjadi penting karena sifat alami dari senyawa besi yang mempunyai kemampuan untuk mengikat oksigen, sebagai katalisator untuk oksigenasi, hidrosilasi dan proses metabolisme penting lainnya, serta mampu menerima atau melepaskan elektron dengan cepat seperti perubahan dari Ferri (Fe^{2+}) menjadi

Ferrous (Fe^{3+}) atau sebaliknya. Kemampuan tersebut membuatnya menjadi komponen sitokrom yang berguna untuk metabolisme oksidatif, pertumbuhan dan proliferasi sel-sel tubuh. Besi bebas sangat toksik terhadap sel karena dapat mengkatalisis perubahan H_2O_2 menjadi radikal bebas yang merusak membran sel, protein dan DNA sehingga besi yang disimpan tidak dalam bentuk kation bebas, tetapi sebagai kompleks besi.¹⁻³ Beberapa kebutuhan tubuh yang memerlukan besi antara lain untuk mengangkut oksigen ke jaringan (transportasi oksigen), untuk

sintesis DNA dan untuk mengangkut elektron-elektron yang dibutuhkan sel. Defisiensi besi pada anak-anak menyebabkan pertumbuhan kurang optimal, kemampuan belajar jadi menurun dan dihubungkan dengan *Intelligence Quotient* (IQ) yang rendah.⁴ Di Inggris dan Amerika ditemukan skor IQ yang lebih rendah pada gadis-gadis remaja yang menderita defisiensi besi. Besi juga merupakan nutrisi yang penting untuk kehidupan organisme, sebab merupakan bahan untuk berbagai proses metabolisme seperti transport oksigen, sintesis DNA dan transport elektron.^{3,4} Selain itu besi juga penting sebagai kofaktor enzim-enzim pada respirasi mitokondrial. Proliferasi dan aktivasi dari sel T, sel B dan sel NK juga memerlukan besi.⁵

Namun demikian fungsi terpenting dari besi adalah sebagai bahan pembentuk darah (eritrosit) dimana kebutuhan besi sehari untuk membuat eritrosit jauh lebih banyak dari besi yang bisa diabsorpsi lewat duodenum yaitu sekitar 20 – 25 mg/hari sedangkan besi yang diserap hanya sekitar 1 – 2 mg/hari, sehingga sumber utama besi adalah hasil pemecahan eritrosit yang sudah tua.^{6,7} Pada orang yang kekurangan besi akan timbul anemia defisiensi besi dengan segala konsekuensinya. Wanita hamil dengan cadangan besi yang rendah berisiko tinggi menderita anemia defisiensi besi karena kehamilan meningkatkan kebutuhan besi. Wanita dengan anemia defisiensi besi 2 – 3 kali lebih sering melahirkan bayi prematur atau bayi dengan berat badan rendah dibandingkan dengan wanita sehat. Defisiensi besi juga menimbulkan gangguan respon tubuh terhadap infeksi karena terjadi penurunan fungsi netrofil dan gangguan proliferasi sel T. Penelitian-penelitian juga menunjukkan bahwa anemia defisiensi besi dapat menurunkan kapasitas kerja dan menyebabkan prestasi kerja yang buruk.⁵ Pada sisi lain kadar besi yang rendah ini juga memberi manfaat karena dapat menurunkan virulensi beberapa jenis patogen karena patogen jenis ini memerlukan besi untuk pertumbuhannya.⁸

Beberapa penelitian mengenai pengaruh besi terhadap sitokin dan respon imun serta terhadap timbulnya infeksi, baik pada binatang maupun pada manusia mendapatkan hasil yang bervariasi. Penelitian pada tikus mendapatkan defisiensi besi akan menyebabkan penurunan fungsi sistem imunitas melalui penurunan fungsi thymus, proliferasi sel T dan proliferasi thymosit sel T sedikit menurun pada defisiensi besi yang murni dan kelainan ini dapat dikoreksi dengan pemberian besi. Penelitian lain mendapatkan adanya peningkatan limfosit T dari 55,1 – 66,0% pada ADB sebelum dan setelah diberikan besi.⁹ Penelitian sitokin pada mereka dengan defisiensi besi juga mendapatkan hasil yang cukup bervariasi termasuk variasi jenis sitokin yang diperiksa yaitu: IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-18, IFN gamma dan lain sebagainya.¹⁰⁻¹⁶

Metabolisme besi

Absorpsi besi

Manusia tidak mempunyai mekanisme khusus yang efektif untuk mengeluarkan besi tubuh yang berlebihan, sehingga keseimbangan besi dalam tubuh secara fisiologis diatur dengan mengendalikan absorpsinya, yaitu bila cadangan besi tubuh sudah cukup maka absorpsinya akan menurun, dan sebaliknya bila cadangan besi tubuh menurun absorpsinya akan segera meningkat beberapa kali lipat. Secara normal pertukaran besi dengan lingkungan sangat terbatas yaitu kurang dari 0,05% dari besi tubuh total, baik yang diserap ataupun yang hilang tiap hari melalui deskuamasi epitel kulit, saluran gastrointestinal dan traktus urinarius.¹⁷

Epitel duodenum merupakan tempat utama absorpsi besi yang mengendalikan homeostasis besi pada organisme. Pada bagian kriptepitel duodenum terdapat sel prekursor multipoten, selanjutnya beberapa diantaranya akan bermigrasi ke bagian villi dan berdiferensiasi menjadi enterosit. Enterosit inilah yang berperan penting

untuk regulasi absorpsi dan transpor besi.¹⁸ Sel-sel kripte ini akan memperoleh informasi tentang kebutuhan besi tubuh dari berbagai sumber, yaitu *stores regulator*, yang mengatur kebutuhan besi tubuh yang normal dan cadangan besi tubuh serta *erythropoietic regulator* yang mengatur kebutuhan besi untuk eritopoiesis serta *dietary regulator* yang mengatur jumlah besi yang dapat diserap oleh epitel duodenum. Pada anemia akibat perdarahan, *stores regulator* akan mengirimkan signal ke enterosit untuk meningkatkan absorpsi besi untuk mengatasi kehilangan besi melalui peredaran, sedangkan pada anemia akibat eritropoiesis yang inefektif, *erythropoietic regulator* akan bekerja sehingga absorpsi besi meningkat. Kapasitas *stores regulator* untuk mengatur absorpsi besi lebih rendah dibandingkan *erythropoietic regulator*.^{19,20}

Regulasi absorpsi besi terjadi pada 2 permukaan enterosit, yaitu membran apikal dan membran basolateral. Membran apikal enterosit berperan untuk transpor besi dari lumen intestinal ke dalam sel enterosit, di mana molekul transporter yang terpenting adalah DMT1 (yang sebelumnya dikenal sebagai Nramp2 dan DCT1). Dalam sel enterosit, besi dapat disimpan dalam enterosit sebagai ferritin atau ditranspor ke plasma melalui membran basolateral. Membran basolateral enterosit berperan untuk transpor besi dari sel epitel duodenum ke seluruh tubuh, di mana ferroportin (Ireg1) adalah molekul transporter yang penting. Setelah diabsorpsi di duodenum, besi akan beredar di sirkulasi dalam bentuk terikat transferrin dan awalnya menuju sistem porta hepatic, yang merupakan tempat penyimpanan besi yang utama. Sel hepatosit akan mengikat besi melalui TfR1 (*Transferrin Receptor 1*) yang klasik, namun sebagian besar melalui TfR2 yang tersedia dalam jumlah lebih besar.^{18,19}

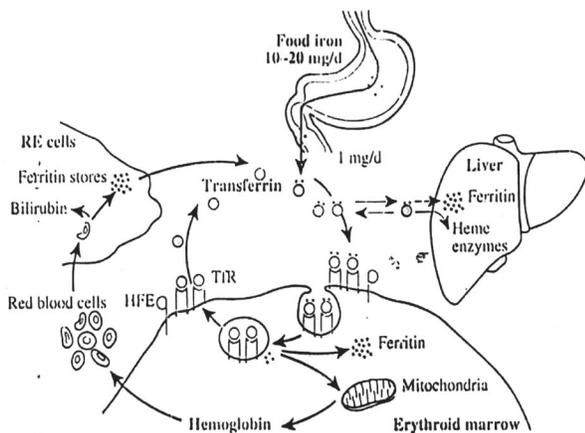
Besi terutama digunakan oleh sumsum tulang sumsum tulang, di mana besi diikat oleh TfR pada sel prekursor eritrosit dan digunakan untuk sintesis heme. Besi pada heme selanjutnya akan didaur

ulang melalui proses tertangkapnya eritrosit yang sudah tua pada makrofag sistem retikuloendotelial. Besi dalam makrofag sesuai dengan ketersediaan dan kebutuhan besi, dapat tersimpan di makrofag sebagai ferritin atau dilepaskan ke plasma, yang kemudian akan terikat transferrin dan beredar di plasma untuk digunakan kembali. Hati dan sistem retikuloendotelial merupakan tempat utama penggunaan cadangan besi.¹⁹

Pengaturan besi di dalam tubuh

Besi yang telah diabsorpsi, di dalam plasma akan diikat oleh apotransferin menjadi transferin untuk diedarkan ke seluruh sel yang membutuhkan atau disimpan di dalam sel dalam bentuk feritin dan hemosiderin.¹ Apotransferin / transferin merupakan protein *transport* yang terdiri dari 2 lobus yang masing-masing mampu mengikat 2 ion ferri (Fe^{2+}) yang kemudian membentuk kompleks transferin-besi yang akan ditangkap oleh reseptor transferin. Semua sel berinti mempunyai reseptor transferin dengan jumlah terbesar (300.000 – 400.000/sel) dimiliki oleh eritroblas.^{1,21} Melalui proses endositosis, kompleks transferin-besi yang telah ditangkap oleh reseptor tersebut masuk ke dalam sel, selanjutnya ikatan besi, transferin dan reseptor akan terlepas karena pengaruh penurunan pH. Besi akan dipakai oleh sel sedangkan reseptor dan transferin dikeluarkan dan dipakai ulang, seperti terlihat pada gambar 1.¹⁷

Siklus pertukaran besi di dalam tubuh sangat efisien, sekitar 80% besi plasma (24 mg/hari) diambil oleh sistem eritoid di sumsum tulang, yang sebagian besar (17 mg/hari) dipakai untuk membentuk hemoglobin. Sel-sel darah merah akhirnya akan difagositir oleh makrofag sumsum tulang, lien dan hati, besi dilepas dari hemoglobin untuk dipakai kembali melalui transferin. Makrofag juga memperoleh besi dari katabolisme sel-sel eritroid yang tidak sempurna sekitar 7 mg/hari. Akhirnya makrofag mengembalikan besi ke dalam



Gambar 1. Pengaturan besi dalam tubuh¹⁷

plasma yang diikat transferin sebesar 22 mg/hari untuk dimanfaatkan kembali yang jumlahnya hampir sama dengan kebutuhan sistim eritroid (Adamson, 2001; Roy, 2010; Bobbit dan Lin 2010).^{1, 7, 22}

Konsentrasi besi dalam tubuh normalnya sekitar 40 – 50 mg/kgbb, wanita premenopause mempunyai cadangan besi lebih rendah dari laki-laki oleh karena siklus menstruasi,²¹ dengan distribusi seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Distribusi besi pada orang dewasa²¹

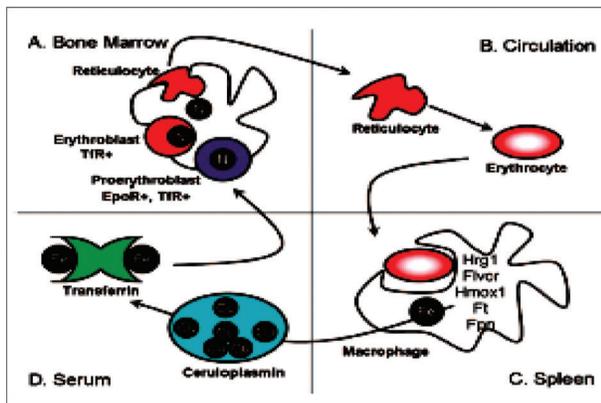
Jenis besi	Konsentrasi (mg/kgbb)	
	Pria	Wanita
Besi fungsional		
- Hemoglobin	31	28
- Myoglobin	5	4
- Enzim heme	1	1
- Enzim non-heme	1	1
Besi transport		
- Transferin	< 1 (0,2)	< 1 (0,2)
Besi simpanan		
- Ferritin	8	4
- Hemosiderin	4	2
Total	50	40

Siklus hidup eritrosit umumnya, terdiri dari 6 tahap maturasi sel induk eritroid yaitu pronormoblas, basofilik normoblas, polikromatik normoblas, ortokromatik normoblas, retikulosit dan eritrosit matur. Diawali dengan perkembangan dan proliferasi sel induk eritroid dalam proses yang

tergantung eritropoetin, yang diikuti oleh fase yang tidak tergantung eritropoetin yang terutama berfokus pada produksi hemoglobin. Eritroblas (normoblas), sel prekursor eritroid berinti, mengekspresikan reseptor transferin dalam kadar yang tinggi, dimana reseptor ini dibutuhkan untuk mengikat besi dari transferin serum. Setelah tercapai kadar hemoglobin yang cukup, reseptor transferin dipecah membentuk reseptor transferin yang larut dalam plasma, diikuti oleh pengeluaran nukleus dari eritroblas dan selanjutnya memasuki sirkulasi sebagai retikulosit. Maturasi retikulosit berlanjut di sirkulasi dengan hilangnya mitokondria dan penurunan kadar mRNA, sehingga terbentuk eritrosit yang klasik yang akan bersirkulasi di darah manusia selama 120 hari.^{7, 23}

Proses fagositosis oleh makrofag, khususnya di limpa lebih ditujukan untuk eritrosit yang tua. Karena masukan besi yang berasal dari diet (1 – 2 mg/hari) tidak cukup untuk memenuhi kebutuhan eritropoesis (20 mg/hari), maka besi yang terkandung dalam eritrosit yang tua yang akan difagosit oleh makrofag harus diproses ulang untuk menghasilkan besi sekitar 20 – 25 mg/hari. Sebagian besar heme didegradasi oleh enzim heme oksigenase, selanjutnya besi yang diproduksi dapat disimpan di ferritin makrofag atau dilepaskan ke plasma. Besi di ferritin makrofag kemudian akan dilepaskan dalam bentuk Fe^{2+} , sehingga di sini dibutuhkan peran seruloplasmin untuk mengubah Fe^{2+} menjadi Fe^{3+} yang dapat terikat pada transferin. Daur ulang besi dari eritrosit yang sudah tua merupakan sumber utama besi untuk proses eritropoesis.^{6, 7}

Homeostasis besi yang terganggu dapat menimbulkan keadaan seperti hemokromatosis (siderosis) yaitu adanya timbunan simpanan besi pada jaringan tubuh seperti paru, jantung, pancreas dan lainnya. Disamping itu juga dapat timbul keadaan yang disebut anemia penyakit kronik, ditandai oleh peningkatan *uptake* dan retensi besi dalam sel-sel di sistem retikuloendotelial. Hal ini akhirnya menyebabkan pergeseran besi dari



Gambar 2. Siklus hidup eritrosit dan daur ulang besi⁷

sirkulasi ke tempat penyimpanannya di sistem retikuoendotelial, keterbatasan penyediaan besi untuk sel-sel induk eritroid dan eritropoiesis dengan besi yang terbatas.²⁴

Besi merupakan elemen yang penting dan dibutuhkan oleh hampir semua organisme, baik mikroba, tanaman, hewan maupun manusia. Besi merupakan komponen dari hemoglobin, mioglobin, dan enzim-enzim yang mengkatalisir reaksi redoks untuk pembentukan energi (misalnya sitokrom), serta berperan dalam proses sintesis DNA, transpor oksigen dan elektron serta proses respirasi. Pada manusia, proses daur ulang besi dari hemoglobin eritrosit yang sudah tua (sekitar 20 mg/hari) akan menyediakan cukup besi untuk sintesis eritrosit yang baru, dibandingkan dengan asupan besi dari diet (1 – 2 mg/hari).^{18,25,26} Sebagian kecil besi, sekitar 3 mg/hari, akan beredar di sirkulasi dalam bentuk terikat transferrin dan mengalami daur ulang tiap beberapa jam, untuk memastikan penyediaan besi yang cukup untuk proses eritropoiesis.²²

Hepcidin

Menurut Fleming and Slay¹⁴ cakrawala baru tentang hemostasis besi mulai terbuka setelah ditemukannya molekul peptide hepcidin oleh Nicholas, et al. tahun 2001, yang merupakan molekul yang bekerja sebagai alat komunikasi antara cadangan besi tubuh dengan sel entrosit, yang juga

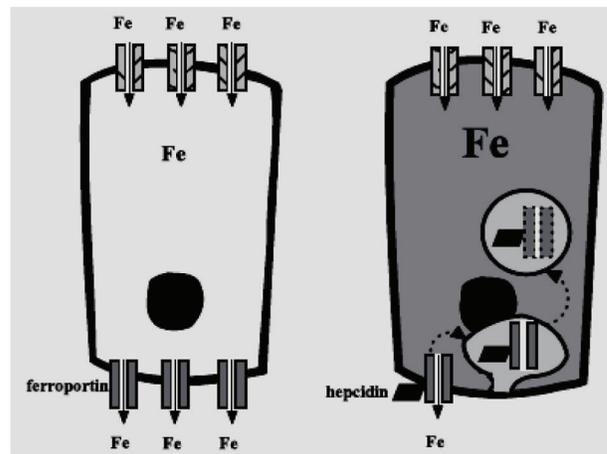
pada awalnya dikenal sebagai peptide antimikroba. Penemuan hepcidin merupakan hal yang penting sebagai suatu penjelasan molekuler tentang regulasi absorpsi dan distribusi besi khususnya pada anemia penyakit kronik.²⁵⁻²⁷ Meskipun hepcidin yang pertama diisolasi dari urine dan plasma, namun ekspresi mRNA hepcidin terutama dijumpai di hati baik pada tikus maupun manusia.^{26,38} Studi oleh Pinto, et al.²⁹ juga mendapatkan bahwa sel limfosit ternyata mengekspresikan hepcidin dan ekspresi ini akan meningkat setelah limfosit ini teraktivasi. Hal ini pula yang menjelaskan komunikasi antara simpanan besi tubuh dan kemampuan absorpsi besi di duodenum bisa dikerjakan dengan lebih efektif dan efisien mengingat sel limfosit merupakan sel yang dapat beredar kemana-mana termasuk kedalam jaringan.

Hepcidin merupakan suatu hormon pengatur metabolisme besi.³⁰ Mengingat lokasi organ tubuh tempat terjadinya absorpsi, daur ulang, penyimpanan dan penggunaan besi, saling berjauhan, maka dibutuhkan suatu bahan yang larut dalam plasma, yang berfungsi sebagai sarana komunikasi antara masing-masing organ tersebut.^{25,28} Di samping itu, hepcidin juga berperan sebagai protein fase akut pada kondisi infeksi dan inflamasi. Sebagai peptida antimikroba, hepcidin dapat merusak membran sel bakteri dan menyediakan lingkungan pertumbuhan yang tidak sesuai untuk mikroorganisme. Mikroorganisme membutuhkan besi untuk memproduksi enzim superoxide dismutase yang dapat melindungi mereka terhadap radikal oksigen dari *host*. Dengan merangsang sekuestrasi besi di makrofag, hepcidin mengurangi ketersediaan besi untuk mikroorganisme, sehingga menghambat pertumbuhan bakteri intraseluler maupun bakteri di aliran darah. Salah satu bukti yang telah dilaporkan adalah hubungan terbalik antara insiden tuberkulosis dan RA (Rheumatoid Arthritis), dimana keterbatasan penyediaan besi pada RA akan melindungi terhadap infeksi tuberkulosis.³⁰ Pada studi lain tikus

transgenik dengan peningkatan ekspresi hepcidin di hati ditemukan meninggal saat lahir dengan defisiensi besi berat, hal ini menunjukkan peran hepcidin sebagai regulator negatif pada transpor besi melalui plasenta menuju janin. Oleh karena itu hepcidin dianggap sebagai regulator negatif dari homeostasis besi.^{25,30}

Berbagai sel tubuh, seperti enterosit duodenum, sinsitiotrofoblas plasenta, hepatosit, makrofag di hati dan limpa, dapat mengekspor besi intraseluler ke plasma. Ferroportin adalah satu-satunya molekul transmembran untuk mengekspor besi pada mamalia.^{6,31} Ferroportin berperan untuk mengekspor besi intraseluler ke plasma dan diekspresikan dalam konsentrasi tinggi di sel-sel tubuh yang mampu mengekspor besi. Studi pada tikus menunjukkan peran penting ferroportin untuk transpor besi dari ibu ke janin, absorpsi besi di duodenum, dan ekspor besi dari makrofag ke plasma.⁶ Ferroportin bekerja dengan bantuan enzim ferroxidase (hephaestin di enterosit dan seruloplasmin di makrofag) untuk mengoksidasi Fe^{2+} menjadi Fe^{3+} yang kemudian ditranspor ke transferrin plasma.^{19,26} Studi terbaru menunjukkan bahwa hepcidin bekerja mengatur homeostasis besi dengan terikat pada ferroportin, dan diikuti oleh internalisasi dan degradasi ferroportin di lisosom, seperti terlihat pada Gambar 3. Dengan hilangnya ferroportin dari membran sel, ekspor besi intraseluler ke plasma akan menurun.²⁶

Dengan demikian, pada kondisi cadangan besi normal atau meningkat, hati akan memproduksi hepcidin, yang akan beredar di sirkulasi menuju duodenum. Kemudian hepcidin akan terikat pada ferroportin, diikuti internalisasi ferroportin, sehingga transpor besi dari enterosit duodenum ke plasma akan terhambat. Sebaliknya, ketika cadangan besi menurun, produksi hepcidin di hati akan menurun, molekul ferroportin diekspresikan pada membran basolateral enterosit untuk meningkatkan transpor besi dari sitoplasma enterosit ke transferrin plasma.



Gambar 3. Pengaruh hepcidin pada ekspresi ferroportin.²⁶

Interaksi hepcidin-ferroportin juga dijumpai pada makrofag, di mana pada konsentrasi hepcidin yang tinggi, hepcidin akan terikat pada ferroportin dan diikuti internalisasi ferroportin, sehingga ekspor besi ke plasma akan terhambat dan besi terperangkap dalam makrofag, terutama makrofag di limpa.⁶

Fungsi sitokin dalam sistem imun

Seperti diketahui hampir semua sistem biologi memerlukan komunikasi antar sel untuk pertumbuhan dan pengaturannya. Pada sistem imun komunikasi antar sel umumnya melibatkan sitokin. Mediator ini diperlukan untuk proliferasi dan diferensiasi sel-sel hematopoietik dan untuk mengatur dan menentukan respon imun. Sitokin dalam menjalankan fungsinya sebagai mediator saling berinteraksi antara sitokin sendiri dan interaksi ini dapat berjalan sinergis atau antagonis. Oleh karena interaksi tersebut, konsep kerja sitokin sebagai suatu *network*. Ada tiga sifat dari sitokin yaitu: pleiomorfik artinya sitokin tertentu dapat bekerja pada beberapa sel yang berbeda, *redundant* (berlebihan) sejumlah sitokine mempunyai fungsi yang sama, multifungsi artinya sitokine yang sama dapat mengatur beberapa fungsi yang berbeda.^{32,33}

Sitokin bisa berefek lokal atau sistemik, lokal bekerja pada sel yang memproduksinya (*autocrine*

action) atau bekerja pada sel sekelilingnya (*paracrine action*). Bila diproduksi dalam jumlah banyak, sitokin dapat masuk kedalam sirkulasi dan bekerja jauh dari sel yang memproduksinya (*endocrine action*) Oleh karena sitokin sebagai mediator atau pembawa pesan maka ia mempunyai reseptor untuk menerima pesan tersebut, dan klasifikasi sitokin didasarkan dari reseptornya pada membran sel.³⁴

Ada dua macam respon imun yang terjadi apabila ada mikroba yang masuk ke dalam tubuh, yaitu *innate* dan *adaptive responses*. Sel yang berperan dalam *innate response* adalah sel fagosit (netropil, monosit dan makrofag), sel yang melepaskan mediator inflamasi (basofil, sel mast dan eosinofil) serta sel *natural killer*. Komponen lain dalam *innate response* ini adalah komplemen, *acute-phase protein* dan sitokin seperti interferon. *Adaptive response* meliputi proliferasi *antigen-specific* sel T dan sel B, yang terjadi apabila reseptor permukaan sel ini berikatan dengan antigen. Sel khusus yang disebut dengan *Antigen-Presenting Cells* (APC) mempresentasikan antigen pada MHC dan berikatan dengan reseptor limfosit. Sel B akan memproduksi imunoglobulin, yang merupakan antibodi yang spesifik terhadap antigen yang dipresentasikan oleh sel APC. Sedangkan sel T dapat melakukan eradikasi mikroba intraseluler dan membantu sel B untuk memproduksi antibody.^{35,36}

Sel T CD4 merupakan *cytokine-secreting helper cells*, sedangkan sel T CD8 merupakan *cytotoxic killer cells*. Sel T CD4 secara umum dibagi menjadi dua golongan yaitu T helper tipe 1 (Th1) dan T helper tipe 2 (Th2). Sitokin yang disekresi oleh Th1 adalah IL-2 dan IFN- γ sedangkan sitokin yang disekresi Th2 adalah IL-4, IL-5, IL-6 dan IL-10. Sitokin-sitokin ini juga mempunyai peranan dalam sistem kontrol. Sekresi IFN- γ akan menghambat sel Th-2 sedangkan sekresi IL-10 akan menghambat sel Th1.^{13,37}

Sitokin mempunyai peranan yang penting untuk menentukan tipe respon imunitas tubuh yang

efektif untuk melawan agen infeksius. Sekresi IL-12 oleh APC akan menyebabkan sekresi IFN- γ dari Th1. Sitokin akan mengaktivasi makrofag dengan efisien untuk membunuh kuman intraseluler. Secara sederhana digambarkan bahwa produksi sitokin oleh Th1 memfasilitasi CMI termasuk aktivasi makrofag dan *T-cell-mediated cytotoxicity*.³⁶

Ada tiga kategori fungsi sitokin dalam sistem imun yaitu: a) Sitokin sebagai mediator dan regulator respon imun alami, b) Sitokin sebagai mediator dan regulator respon imun didapat, c) Sitokin sebagai stimulator hematopoiesis.

Sitokin yang berperan sebagai mediator dan regulator respon imun alami dihasilkan terutama fagosit mononuklear seperti makrofag dan sel dendrit dan sebagian kecil oleh limfosit T dan sel NK.³⁴ Sitokin-sitokin tersebut diproduksi sebagai respon terhadap agen molekul tertentu seperti LPS (Lipopolysaccharide), peptidoglykan monomers, teicoid acid dan *DNA double stranded*. Beberapa sitokin yang penting adalah Tumor Necrosis Faktor (TNF), IL-1, Interferon gamma (IFN gamma), IL-6, IL-10, IL-12. Sitokin-sitokin yang berfungsi sebagai mediator dan regulator respon imun didapat terutama diproduksi oleh limfosit T yang telah mengenal suatu antigen spesifik untuk sel tersebut. Sitokine ini mengatur proliferasi dan diferensiasi limfosit pada fase pengenalan antigen dan mengaktifkan sel efektor. Bakteri atau antigen yang berbeda akan merangsang sel T helper CD4+ untuk berdeferensiasi menjadi Th1 dan Th2 yang menghasilkan sitokin yang berbeda pula. Beberapa diantaranya yang penting adalah : IL-2, IL-4, IL-5, TGF (*Transforming Growth Factor*), IFN gamma, IL-13. Sedangkan sitokin yang merangsang hematopoiesis yaitu sitokine diperlukan untuk mengatur hematopoiesis dalam sumsum tulang. Beberapa sitokin yang diproduksi selama respon imunitas alami dan didapat, merangsang pertumbuhan dan diferensiasi sel-sel progenitor sumsum tulang. CSF, IL-3, GM-CSF, G-CSF merupakan beberapa sitokin yang

penting untuk proses hemopoiesis.^{13,34,38}

Besi dan respon imun

Banyak studi pada binatang dan manusia yang menunjukkan adanya gangguan imunitas seluler dan imunitas non-spesifik lainnya pada defisiensi besi, namun hubungan antara defisiensi besi dan infeksi masih belum jelas sekali. Suseptibilitas terhadap infeksi adalah sangat kompleks dan tergantung tidak saja pada kadar besi, tapi juga pada faktor tubuh, parasit dan lingkungan. Termasuk antara lain paparan mikroorganisme, adanya faktor defisiensi nutrisi lainnya, tipe populasi (bayi, anak-anak, wanita, laki dan orang tua), beratnya dan lamanya defisiensi, tipe dan dosis dari serta lamanya terapi besi dan adanya prakondisi lainnya. Tidak diragukan lagi bahwa faktor-faktor ini akan mempengaruhi suseptibilitas dan beratnya infeksi tanpa melihat kadar besinya. Defisiensi besi akan mempengaruhi kerentanan terhadap beberapa jenis infeksi, dan beratnya serta lamanya infeksi akan tergantung pada tubuh dan parasitnya (baik mikroorganisme intra maupun ekstraseluler).³⁹

Besi mempunyai peranan penting dalam sistem imunitas, terutama dalam hal proliferasi dan aktivasi sel imun host seperti sel T, B, sel *natural killer* dan interaksi antara *cell-mediated immunity* dan sitokin. Tikus dengan kelebihan besi akan terjadi peningkatan relatif ekspansi CD8⁺. Th2 memiliki cadangan besi yang lebih besar dari Th1, oleh karena itu Th1 lebih sensitif terhadap penurunan kadar besi *host*. Sehingga pada defisiensi besi akan terjadi penurunan produksi Interferon- γ (IFN- γ), interleukin-2, *Tumour Necrosis Factor- α* (TNF- α) dan TNF- β .⁵

Kekurangan besi dan efeknya pada kejadian infeksi sangat sulit untuk dipelajari pada manusia dengan hanya studi observasional atau studi non-intervensional. Hal ini oleh karena kekurangan besi merupakan sebagian dari suatu kelompok kekurangan nutrisi dan kemiskinan serta masalah

sosial higienis lainnya yang merupakan akibat kemiskinan sehingga semua hal tersebut saling terkait satu sama lainnya. Disamping itu masalah etis pada studi penderita ADB dengan penundaan pemberian besi yang dapat memperburuk kondisi penderita. Oleh karenanya penelitian yang mencari hubungan antara infeksi dan defisiensi besi sering memberikan hasil yang tidak konsisten.⁴⁰

Mekanisme bagaimana defisiensi besi mengganggu respon imun seluler dan non-spesifik belum seluruhnya diketahui, akan tetapi diduga bersifat multifaktorial. Termasuk antara lain: berkurangnya aktivitas enzim yang mengandung besi seperti enzim ribonukleotid reduktase, mieloperoksidase, berkurangnya produksi sitokin, berkurangnya jumlah sel T yang kompeten, dan kemungkinan adanya gangguan transduksi sinyal. Tahapan dari transduksi sinyal yang dipengaruhi oleh besi masih perlu diteliti, akan tetapi aktivitas protein kinase C dan translokasinya pada membran plasma sel limfosit dan sel T lien diketahui terganggu. Hal ini ditemukan pada studi binatang maupun pada manusia. Demikian pula, pengikatan besi akan menurunkan produksi mRNA untuk protein kinase C.⁴¹ Pada awal proses aktivasi sel T, akan terjadi gangguan hidrolisis *Phosphatidyl Inositol 4,5-bisphosphate* (PIP2) oleh fosfolipase C (suatu enzim yang mengandung seng), dimana hasil akhir dari enzim ini adalah *Inositol 1,3,5-triphosphate* (IP3) dan *Diacylglycerol* (DAG) yang akan meregulasi aktivitas protein kinase C. Baik aktivasi PKC dan hidrolisis membran fosfolipid adalah sangat penting sebagai proses awal dari suatu signal transduksi yang akan menyebabkan terjadinya proses proliferasi sel T dan beberapa fungsi penting lainnya. Adanya gangguan aktivasi PKC dan hidrolisis membran fosfolipid akan menyebabkan gangguan respon imun pada mereka yang dengan defisiensi besi.³⁹

Penelitian mengenai efek dari anemia defisiensi besi pada fungsi imun dilakukan pada

32 orang penderita ADB dan 29 orang sehat sebagai kontrol. Dipelajari beda antara subset sel limfosit, aktivitas bakteriosidal dari netrofil, kadar IL-6 plasma, kadar dari imunoglobulin. Studi menyimpulkan bahwa baik respon humoral yang diwakili dengan pemeriksaan kadar IgG4, respon imun seluler dan juga respon imun non-spesifik serta aktivitas sitokin mengalami gangguan pada penderita ADB.¹² Peneliti lain mendapatkan pada pasien dengan ADB terjadi penurunan kapasitas fagositosisnya sehingga diduga hal ini menyebabkan penderita ADB rentan terhadap timbulnya infeksi.¹⁰

Pada anak dan dewasa, defisiensi besi akan menurunkan proporsi sel T dalam darah, meskipun jumlah total sel T bisa tetap ataupun berubah. Namun demikian, berdasarkan laporan Santos dan Falcao,³⁹ angka absolut dan proporsi CD4+ dan CD8+ dapat menurun atau tetap tidak berubah pada defisiensi besi.³⁹ Penelitian lainnya pada tikus, defisiensi besi menurunkan sel T total, sel T helper dan sitotoksik/supresor pada limpa. Tapi tidak merubah rasio sel T helper dan sitotoksik, seperti yang terlihat pada manusia.⁹

Interaksi antara *host* dan agent infeksius merupakan fenomena yang kompleks. Yang paling penting dari interaksi itu adalah proses respon imunitas host serta virulensi kuman. Penelitian-penelitian tentang hubungan antara defisiensi besi dengan infeksi mendapatkan hasil yang bervariasi dan saling bertentangan. Defisiensi besi dapat menurunkan kemungkinan terjadinya infeksi karena keterbatasan besi tubuh yang diperlukan untuk pertumbuhan kuman. Penelitian-penelitian lain justru mendapatkan sebaliknya, karena defisiensi besi dapat menurunkan *innate* maupun *adaptive immunity*. Disamping hal itu infeksi atau inflamasi bisa juga menyebabkan terjadinya anemia dan mengganggu metabolisme besi melalui peran sitokine.^{41,42}

Penelitian eksperimental ensefalitis autoimun pada tikus menemukan kecenderungan terjadinya

ensefalitis autoimun pada tikus yang mengalami defisiensi besi lebih rendah dibandingkan dari tikus tanpa defisiensi besi (0% berbanding 72%). Gejala klinik ensefalitis autoimun juga lebih berat pada tikus dengan kadar besi yang normal dibandingkan tikus dengan kadar besi yang rendah. Hal ini diduga karena terjadi gangguan perkembangan sel T CD4+ pada defisiensi besi. Semua sel yang berhubungan dengan CD4+ akan berkurang dengan akibat defisiensi besi tersebut. Keadaan tersebut akan membaik apabila kadar besinya dinaikkan.⁴³

Penelitian tentang pengaruh suplementasi besi terhadap pada anak-anak yang terinfeksi dan tidak terinfeksi di Sri Lanka menemukan bahwa terjadi penurunan morbiditas dari *upper respiratory tract infection* pada anak-anak yang diberikan suplemen besi. Peneliti menduga bahwa imunitas pada anak-anak yang mengalami defisiensi besi menurun sehingga morbiditasnya lebih tinggi.⁴⁴ Telaah terhadap penelitian-penelitian pada manusia maupun binatang tentang pengaruh defisiensi besi terhadap fungsi imunitas *in vivo* belum menghasilkan konsesus atau kesamaan pendapat. Masalahnya adalah hampir semua penelitian tidak dapat mengontrol secara baik defisiensi makronutrien dan mikronutrien yang ada bersama-sama dengan defisiensi besi dan nutrien-nutrien tersebut belum jelas pengaruhnya terhadap gangguan imunitas tubuh.⁴⁴

Sitokin dan besi

Perubahan karakteristik sitokin akibat adanya stimulasi terhadap respon imun dapat mempengaruhi status besi dan eritrosit. Stimulasi imun yang kronik biasanya disertai dengan penurunan serum besi. Tergantung dari penyebab stimulasi tersebut, tujuan dari penurunan serum besi ini adalah untuk mengurangi ketersediaan besi dalam usaha menghentikan proliferasi sel, mengurangi produk radikal oksigen dan/ atau mencegah pemakaian besi untuk pertumbuhan

kuman. Efek sitokin terhadap ketersediaan besi ini terutama diperantarai melalui hambatan absorpsi besi di epitel duodenum dan menghalangi keluarnya besi dari makrofag dengan tujuan agar besi tidak mudah didapatkan oleh patogen.¹⁶

Dengan adanya invasi mikroorganisme akan mengaktivasi sel limfosit T (CD3+) dan monosit, yang diikuti oleh produksi sitokin, yaitu IFN- γ (dari sel limfosit T), TNF- α , IL-1, IL-6 dan IL-10 (dari monosit). IFN- γ , TNF- α , dan lipopolisakarida akan menyebabkan peningkatan ekspresi DMT-1 (*divalent metal transporter-1*) di makrofag sehingga terjadi peningkatan *uptake* besi oleh makrofag yang aktif. Selain itu, IFN- γ dan lipopolisakarida akan menyebabkan penurunan ekspresi *ferroportin* yang menghambat pengeluaran besi dari makrofag. Pada saat yang sama, TNF- α , IL-1, IL-6 dan IL-10 akan meningkatkan ekspresi ferritin, yang diikuti peningkatan penyimpanan besi dalam makrofag. IL-10, suatu sitokin antiinflamasi, akan meningkatkan ekspresi reseptor transferin dan meningkatkan *uptake* besi yang terikat transferin oleh monosit sehingga besi dalam serum akan rendah. IL-6 dan lipopolisakarida akan merangsang produksi hepcidin, suatu protein fase akut, yang berperan menghambat absorpsi besi di duodenum serta menghambat pengeluaran besi dari makrofag, melalui hambatan ekspresi *ferroportin*, suatu molekul transmembran yang berperan untuk pengeluaran besi ke sirkulasi dari makrofag dan duodenum.²⁴

Sintesis hepcidin akan cepat meningkat pada kondisi infeksi dan inflamasi, melalui mekanisme yang tidak tergantung pada status besi tubuh dan aktivitas eritropoiesis.⁶ IL-6 telah terbukti dominan dalam meningkatkan sintesis hepcidin pada inflamasi akut, melalui mekanisme transkripsi yang tergantung STAT3 (*Signal Transducer and Activator of Transcription 3*).²⁶ Terikatnya IL-6 pada reseptornya menyebabkan aktivasi JAK (*Janus Kinase*) dan fosforilasi STAT3, suatu *signaling molecule* intraseluler. STAT3 yang terfosforilasi akan

mengalami dimerisasi dan translokasi ke nukleus, yang selanjutnya akan berinteraksi dengan elemen DNA di proksimal promoter hepcidin. Induksi sintesis hepcidin melalui IL-6 ini membutuhkan jalur BMP-Smad yang utuh, di mana mutasi pada elemen BMP proksimal akan mengganggu proses induksi sintesis hepcidin oleh IL-6.^{22,46}

Selain IL-6 diduga ada sitokin lain yang dapat mempengaruhi produksi hepcidin, yaitu IL-1 yang telah ditemukan mampu meningkatkan mRNA hepcidin melalui mekanisme yang tidak tergantung IL-6. Namun, masih diperlukan studi lebih lanjut pada manusia.²⁶ Selain IL-1, TGF- β (*Transforming Growth Factor- β*) juga ditemukan mengatur sintesis hepcidin pada tikus, namun perannya pada manusia belum berhasil dibuktikan.⁶ Studi lain pada manusia, menunjukkan bahwa kadar mRNA hepcidin dapat dihambat oleh TNF- α melalui mekanisme yang tidak melibatkan IL-6.⁴⁷ IFN- β juga ditemukan dapat menghambat transkripsi hepcidin pada sel hepatosit tikus.⁴⁸

Sitokin yang diproduksi akibat respon imun karena adanya invasi patogen akan meningkatkan ekspresi hepcidin pada sel tubuh terutama sel hati dan sel mononuklear dimana molekul peptida ini akan menghambat absorpsi besi di duodenum sekaligus juga berikatan dengan *ferroportin* sehingga mekanisme ekspor besi dari dalam sel terganggu yang pada akhirnya akan menyebabkan kadar serum besi menjadi rendah.

Besi dan produksi sitokin

Mekanisme bagaimana defisiensi besi mengganggu respon imun seluler dan non-spesifik belum seluruhnya diketahui, akan tetapi diduga bersifat multifaktorial. Termasuk antara lain: berkurangnya aktivitas enzim yang mengandung besi seperti enzim ribonukleotid reduktase, mieloperoksidase, berkurangnya produksi sitokin, berkurangnya jumlah sel T yang kompeten, dan kemungkinan adanya gangguan transduksi sinyal.

Tahapan dari transduksi sinyal yang dipengaruhi oleh besi masih perlu diteliti, akan tetapi aktivitas protein kinase C dan translokasinya pada membran plasma sel limfosit dan sel T lien diketahui terganggu. Hal ini ditemukan pada studi binatang maupun pada manusia. Demikian pula, pengikatan besi akan menurunkan produksi mRNA untuk protein kinase C.⁴¹ Pada awal proses aktivasi sel T, akan terjadi gangguan hidrolisis PIP2 oleh fosfolipase C (suatu enzim yang mengandung seng), dimana hasil akhir dari enzim ini adalah IP3 dan DAG yang akan meregulasi aktivitas protein kinase C. Baik aktivasi PKC dan hidrolisis membran fosfolipid adalah sangat penting sebagai proses awal dari suatu signal transduksi yang akan menyebabkan terjadinya proses proliferasi sel T dan beberapa fungsi penting lainnya. Adanya gangguan aktivasi PKC dan hidrolisis membran fosfolipid akan menyebabkan gangguan respon imun pada mereka yang dengan defisiensi besi.³⁹

Salah satu mekanisme penting adalah adanya gangguan sintesis DNA akibat gangguan aktivitas enzim *ribonucleotide reductase*, penurunan produksi interleukin seperti IL-2. IL-2 merupakan sitokin yang penting untuk komunikasi antara subset limfosit dan sel *natural killer*.^{42,49} Th1 lebih sensitif terhadap pemberian antibodi antitransferin reseptor dibandingkan dengan Th2. Sehingga diduga bahwa fungsi Th-1-mediated lebih sensitif terhadap hemostasis besi di tubuh.⁵

Penelitian kasus kontrol pada anak-anak tentang IL-2 dan IL-6 pada ADB memukan bahwa sekresi IL-2 lebih rendah pada anak-anak dengan defisiensi besi dibandingkan dengan kontrol dan kadar IL-2 menjadi normal setelah diberikan suplementasi besi ($p < 0,001$). Kadar IL-6 tidak mengalami perubahan sebelum dan setelah suplementasi ($p > 0,05$).⁵⁰

Penelitian lain pada 81 anak-anak yang mengalami defisiensi besi, menemukan. produksi IL-2 akibat rangsangan PHA lebih rendah pada

defisiensi besi dibandingkan tanpa defisiensi besi, tetapi kadar IL-2 tidak berbeda apabila tidak dirangsang dengan PHA. Penurunan produksi IL-2 menyebabkan gangguan sistem imun melalui gangguan pada CMI.⁵⁷

IL-10 mempunyai peranan yang penting dalam regulasi sistem imun dengan menghambat sekresi beberapa sitokin proinflamsi seperti IL-2, IFN- γ dan IL-12 serta menghambat proliferasi limfosit.^{36,37} Sekresi IL-10 ditemukan menurun pada ADB dan meningkat setelah defisiensi besinya dikoreksi. Hal ini juga terjadi pada proliferasi limfosit, ditemukan lebih rendah pada defisiensi besi dan meningkat setelah dilakukan koreksi dengan besi. Hal ini menunjukkan bahwa penurunan IL-10 pada ADB tidak mampu mengatasi penurunan proliferasi limfosit.^{11,52}

Hasil penelitian penulis nampaknya mendukung teori bahwa pada penderita ADB akan lebih mudah terkena infeksi oleh karena pada penelitian ini didapatkan kadar IL-2 baik plasma maupun supernatan serta IFN- γ plasma dan supernatan lebih rendah pada ADB dengan infeksi dibandingkan dengan ADB tanpa infeksi dan perbedaan ini secara statistik bermakna ($p < 0,05$). Demikian juga ditemukan bahwa dengan pemberian tablet besi didapatkan peningkatan kadar IL-2 dan IFN- γ meningkat secara signifikan.⁵³ Seperti diketahui respon tubuh untuk mengatasi infeksi antara lain dengan memunculkan respon imun yang memadai baik respon imun alami maupun yang adaptif. Dan untuk efektifnya respon imun terutama respon imun seluler sangat dibutuhkan aktivitas dan produksi sitokin tertentu seperti IL-2 dan IFN- γ . Penelitian ini didukung oleh penelitian di China dimana 63 penderita ADB anak dengan infeksi saluran nafas atas berulang diperiksa kadar IL-2 dan sIL-2R serta subset limfosit T. Didapatkan aktivitas IL-2, persentase CD3 dan CD4 secara signifikan lebih rendah pada anak yang menderita ADB dengan infeksi saluran nafas berulang dibandingkan dengan

kontrol orang sehat.

Banyak penelitian lainnya yang dilakukan baik pada binatang coba maupun pada manusia yang mendapatkan rendahnya kadar sitokin tertentu pada keadaan defisiensi besi.¹³⁻¹⁶ Studi oleh Bergman, *et al.*⁵⁴ pada penderita ADB dewasa mendapatkan kadar IL-2 yang lebih rendah kalau dibandingkan dengan orang normal sedang kadar sitokin lainnya seperti IL-6, IL-10, TNF alfa tidak berbeda bermakna dengan sitokin orang normal. Penelitian di Malawi Afrika mendapatkan bahwa ADB berkaitan dengan produksi IFN- γ yang lebih rendah. Juga ditemukan kadar IL-8 yang lebih rendah pada penderita ADB dibandingkan dengan penderita yang kadar besinya normal. Pada studi ini juga didapatkan adanya hubungan yang kuat antara ADB dan sel limfosit yang memproduksi IL-6.⁵⁵

Penelitian di Paris yang dikerjakan pada 53 penderita ADB dan 28 penderita dengan kadar besi normal sebagai kontrol, menemukan adanya perbedaan kadar IL-2 yang bermakna antara penderita ADB dan non-ADB.⁵¹ Penelitian pada binatang coba yang dibuat kekurangan besi juga mendapatkan kadar IL-2 yang lebih rendah.⁵⁶ Kuvibidila pada penelitian dengan tikus mendapatkan kadar IL-12p40 dan IFN- γ yang lebih rendah pada tikus yang dibuat kekurangan besi dibandingkan dengan yang mendapat diet cukup besi dengan penurunan masing-masing 64% dan 66% serta $p = < 0,05$. Didapatkan juga korelasi yang positif antara kadar sitokin dengan indikator dari status besi ($r = 0,688$, $p = < 0,05$).¹¹ Penelitian kasus kontrol pada anak-anak juga menemukan sekresi IL-2 lebih rendah pada anak-anak dengan defisiensi besi dibandingkan dengan kontrol.⁵⁰

RINGKASAN

Besi merupakan senyawa penting yang sangat dibutuhkan oleh banyak jenis metabolisme tubuh. Di sisi lain kadar besi yang berlebihan juga

sangat mengganggu metabolisme tubuh bahkan tidak jarang fatal. Sehingga dibutuhkan suatu sistem yang sangat canggih untuk mengatur kadar besi didalam tubuh kita karena kadar yang rendah sangat mengganggu demikian hal apabila kadar besi tinggi. Oleh karena tubuh manusia tidak mempunyai sistem ekskresi besi yang efisien maka jumlah besi yang masuk ke tubuh diatur sedemikian rupa sehingga bersama-sama dengan jumlah besi yang di dalam tubuh cukup memadai untuk memenuhi kebutuhan sehari-hari. Banyak sistem regulator yang bekerja seperti *dietary regulator*; *store regulator* dan *erythropoietic regulator* saling berinteraksi untuk mengatur homeostasis besi melalui molekul peptida hepcidin yang banyak ditemukan pada sebagian besar sel dalam tubuh kita. Besi yang rendah akan menurunkan respon imun melalui gangguan produksi beberapa interleukin seperti IL-2, IL 4, IL-6, IL-10, IL-14, IFN- γ dan lain sebagainya. Pada sisi lainnya gangguan profil sitokin akibat stimulasi respon imun akan mempengaruhi homeostasis besi antara lain melalui aktivasi dari molekul hepcidin. Oleh karenanya pengaruh besi terhadap respon imun pada banyak penelitian cukup bervariasi hasilnya, demikian halnya kalau dilihat pengaruh kadar besi terhadap kejadian infeksi.

DAFTAR RUJUKAN

1. Adamson, JW. Iron deficiency and other hypoproliferative anemias. In: Braunwald E, Fauci As, Kasper DL, Hauser SL, Longo DI, Jameson JL, editors. Harrison's Principles of Internal Medicine. 15th ed. New York: McGraw-Hill 2001.p.660-5.
2. Hentze MW, Muckenthaler MU, Andrews NC. Balancing acts: molecular control of mammalian iron. Cell 2004;117:285-97
3. Wang J, Pantopoulos K. Regulation of cellular iron metabolism. Biochem J 2011;434: 365-81.

4. Conrad, ME. Iron deficiency anemia. *Medicine Journal* 2002;3:114-24.
5. Weiss, G. Iron and immunity: a double-edged sword. *Eur J Clin Invest* 2002;32(1):70-8.
6. Ganz T. Heparin and its role in regulating systemic iron metabolism. In: *Iron in hematology*. New York: American Society of Hematology; 2006.p.29-34.
7. Roy CN. Anemia of inflammation. New York: American Society of Hematology; 2010.p. 276-9.
8. Oppenheimer, SJ. Iron and its relation to immunity and infectious disease. *J Nutr* 2001; 131:616S-35S.
9. Kuvibidila S, Dardenne M, Savino W, Lepault F. Influence of iron-deficiency anemia on selected thymus function in mice: thymulin biological activity, T-cell subsets and thymocyte proliferation. *Am J Clin Nutr* 1990;51:228-32.
10. Bergman M, Salman H, Pinchasi R, Straussberg R, Djaldetti M, Bessler H. Phagocytic capacity and apoptosis of peripheral blood cells from patients with iron deficiency anemia. *Biomedicine & Pharmacotherapy* 2005;59:307-11.
11. Kuvibidila S, Warriar RP. Differential effect of iron deficiency and underfeeding on serum levels of interleukin-10, interleukin-12 p40, and interferon γ in mice. *Cytokine* 2004; 26(2):73-81.
12. Ekiz C, Agaoglu L, Karakas Z, Gurel N, Yalcin I. The effect of iron deficiency anemia on the function of the immune system. *The Hematology Journal* 2005;5:579-83.
13. Leung S, Holbrook A, King B, Lu HT, Evans V, Miyamoto N, et al. Differential inhibition of inducible T cell cytokine secretion by potent iron chelators. *Biomolecular Screening* 2005; 10(2):157-66.
14. Nyokerage AM, Williams TN, Marsh K, Wambua S, Perlmann H, Gradien A. Cytokine mRNA expression and iron status in children living in a malaria. *Scandinavian Journal of Immunology* 2005;61:370-5.
15. Weiss G, Meusbürger E, Radacher G, Garimorth K, Neyer U, Mayer G. Effect of iron treatment on circulating cytokines levels in ESRD patients receiving recombinant human erythropoietin. *Kidney International* 2003;64:572-8.
16. Koorts AM, Levay PF, Becker PJ, Viljoen M. Pro- and anti-inflammatory cytokines during immune stimulation: modulation of iron status and red blood cell profile. *Mediators of Inflammation* 2011;1:1-11.
17. Hilman RS, Ault KA. *Hematology in Clinical Practice. A Guide to Diagnosis and Management*. 4th ed. New York: McGraw-Hill; 2002.p.51-61.
18. Roy CN, Enns CA. Iron homeostasis: new tales from the crypt. *Blood* 2000;96(13): 4020-7.
19. Fleming RE, Sly WS. Heparin: a putative iron-regulatory hormone relevant to hereditary hemochromatosis and the anemia of chronic disease. *Proc Natl Acad Sci* 2001;98(15): 8160-2.
20. Park M, Lopez MA, Gabayan V, Ganz T, Rivera S. Suppression of heparin during anemia requires erythropoietic activity. *Blood* 2006;108(12):3730-5.
21. Brittenham GM. Disorders of iron metabolism: iron deficiency and overload. In: Hoffman R, Benz EJ, Shattil SJ, Furie B, Cohen HJ, et al. Editors. *Hematology: Basic principles and practice*, 2nd ed. New York: Churchill Livingstone; 1995.p.492-517.
22. Babitt JL, Lin HY. Molecular mechanism of heparin regulation: implications for the anemia of CKD. *Am J Kidney Dis* 2010; 55(4):726-41.

23. Ciesla B. Red blood cell production, function, and relevant red cell morphology. *Hematology in practice*. Philadelphia: FA Davis Company; 2007.p.33-6.
24. Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. *N Engl J Med* 2005;352:1011-23.
25. Ganz T. Hepcidin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003;102(3):783-8.
26. Ganz T, Nemeth E. Regulation of iron acquisition in mammals. *Biochimica et Biophysica Acta* 2006;1763:690-9.
27. Price EA, Schrier SL. Unexplained aspects of anemia of inflammation, advances in hematology. 1st ed. New York: McGraw Hill; 2010.p.1-5.
28. Leong WI, Lonnerdal B. Hepcidin, the recently identified peptide that appears to regulate iron absorption. *The Journal of Nutrition* 2004;134:1-4.
29. Pinto JP, Dias V, Zoller H, Porto G, Carmo H, Carfvalho F, et al. Hepcidin messenger RNA expression in human lymphocytes. *Immunology* 2010;130:217-30
30. McGrath Jr. H, Rigby PG. Hepcidin: inflammation's iron curtain. *Rheumatology* 2004;43:1323-5.
31. Ramey G, Deschemin JC, Durel B, Hergaux FC, Nicolas G, Vaulont S. Hepcidin targets ferroportin for degradation in hepatocytes, *Haematologica* 2010;95(3):501-4.
32. Abbas AK, Lichtman AH. Effector mechanisms of immune responses. In: *Cellular and molecular immunology*. 5th ed. Philadelphia:Elsevier Saunders;2005.p. 298-317.
33. Lloyd E. *An immun system overview 2008*. Available from: [http // www. brighthub. com/science/medica//articles/12676.aspx](http://www.brighthub.com/science/medica//articles/12676.aspx). Accessed on 12th December 2011.
34. Kaiser GE. The adaptive immune system. A ways that cell-mediated immunity helps to depend the body. Stimulating cells to secrete cytokines (CME). Available from: [www. Medscape.com\cytokine.htm](http://www.Medscape.com/cytokine.htm). Accessed on 2nd November 2011.
35. Medzhitop R, Janeway C. Innate immunity. *N Eng J Med* 2000;343(5):338-44.
36. Delves PJ, Roit IM. The Immune system, second of two part. *N Engl J Med* 2000; 343(1):108-17.
37. Asadullah K, Sterry W, Volk HD. Interleukin-10 therapy - review of new approach. *Pharmacol Rev* 2000;55:241-69.
38. Frankenstein Z, Alon U, Coher IR. The immune-body cytokine network defines a social architecture of cell interaction. *Biology Direct* 2006;1:32-46.
39. Kuvibidila S, Baliga BS. Role of Iron in Immunity and Infection. *CAB International: Nutrition and Immune Function* 2002;15: 209-28
40. Oppenheimer SJ. Iron and its relation to immunity and infectious disease. *J Nurt* 2001; 131:616S-35S.
41. Alcantara O, Obeid L, Hannu Y, Ponka P, Boldt DH. Regulation of Protein Kinase C (PKC) expression by iron: effect of different iron compounds on PKC-gene expression and the role of the 5' flanking region of the PKC-gene in the response to ferric transferrin. *Blood* 1994;84:3510-7.
42. Walter T, Olivares M, Pizarro F, Munos C. Iron, anemia, and infection. *Nutritional review* 1997;55(4):111-24.
43. Grant SM, Wiesinger JA, Beard JL, Cantorna MT. Iron-deficient mice fail to develop autoimmune encephalomyelitis. *J Nutr* 2003; 133:2635-8.
44. De Silva A, Atukorola S, Weerasinghe I, Ahluwalia N. Iron supplementation improve iron status and reduces morbidity in children

- with or without upper respiratory tract infection: a randomized controlled study in Colombo, Sri Langka. *Am J Clin Nutr* 2003; 77:234-41.
45. Ganz T dan Nemeth E, The role of hepcidin in iron metabolism. *Acta Haematologica* 2009; 122:78-86.
 46. Cheng PP, Jiao XY, Wang XH, Lin JH, Cai YM. Hepcidin expression in anemia of chronic disease and concomitant iron-deficiency anemia. *Clin Exp Med* 2011;11: 33-42.
 47. 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. *The Journal of Clinical Investigation* 2004;113(9):1271-6.
 48. Lee P, Peng H, Gelbart T, Wang L, Beutler E. Regulation of hepcidin transcription by interleukin-1 and interleukin-6. *Proc Natl Acad Sci* 2005;102(6):1906-10.
 49. Beard JL. Iron Biology immune function, muscle metabolism and neuronal functioning. *J Nurt* 2001;131:568S-80S.
 50. Sipahi T, Akar N, Egin Y, Cin S. Serum interleukin-2 and interleukin-6 levels in iron deficiency anemia. *Pediatr hematol Oncol* 2008;15(1):69-73.
 51. Galan P, Thibault H, Preziosi P, Hercberg S. Interleukin 2 production in iron-deficiency children. *Biol Trace Elem Res* 1992;32: 421-6.
 52. Kuvibidila S, Warriar RP, Baliga BS. An overview of the role of iron in T cell activation. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine* 2003;16:219-25.
 53. Suega K. Pengaruh peningkatan cadangan besi terhadap interleukin-2 (IL-2) dan interferon gamma (IFN- γ) plasma penderita anemia defisiensi besi: kaitannya dengan infeksi. 2009. (Disertasi)
 54. Bergman M, Bessler H, Salman H, Siomin D, Straussberg R, Djaldetti M. In vitro cytokine production in patients with iron deficiency anemia. *Clinical Immunology* 2004;113: 340-4.
 55. Jason J, Archibald LK, Nwanyanwu OC, Bell M, Jensen J, Gunter E. The effect of iron defecency on lymphocyte cytokine production and activation: preservation of hepatic iron but not all cost. *Clin Exp Immunol* 2001;126:466-73.
 56. Latunde-Dada GO, Young SP, Iron deficiency and immune responses. *Scand J Immunol Suppl* 1992;11:207-9. (Abstract)