

Tinjauan pustaka

## **HEPCIDIN PADA ANEMIA OF CHRONIC DISEASE**

Ommy Agustriadi\*, Ketut Suega\*\*

\* Program Studi Kedokteran Unram \*\* Divisi Hematologi Onkologi Medik

Bagian Ilmu Penyakit Dalam FK Unud/RSUP Sanglah, Denpasar

ABSTRACT

### HEPCIDIN ON ANEMIA OF CHRONIC DISEASE

Anemia of chronic disease (ACD) induce dysregulation of iron homeostasis. A hallmark of anemia of chronic disease is the development of disturbances of iron homeostasis, with increased uptake and retention of iron within cells of the reticuloendothelial system (RES), that leads to a diversion of iron from the circulation into storage sites of RES, and decreased intestinal iron absorption, subsequent limitation of the availability of iron for erythroid progenitor cells, and iron-restricted erythropoiesis. A new small peptide called hepcidin was found. It is strongly suggest that hepcidin play role on the pathogenesis of ACD. Hepcidin expression is induced by inflammation/infection (by lipopolysaccharide and interleukin-6) and iron overload condition, it is strongly suggest that hepcidin induced dysregulation of iron homeostasis by inhibit iron efflux from macrophage dan RES (causing iron retention in turn) and decrease intestinal iron absorption. In the aggregate, the increase of hepcidin production suppress erythropoiesis by iron starvation strongly suggest that hepcidin is the key mediator of ACD. If hepcidin follows the pattern of other peptide hormones or cytokines, its actions will be mediated by cell surface receptors. Elucidation of the receptor and its transduction pathways should lead to the development of hepcidin antagonists, some of which could be useful in treatment of ACD, along with it's underlying disease.

Key word: hepcidin, anemia of chronic disease, iron metabolism

### PENDAHULUAN

*Anemia of chronic disease* (ACD) adalah anemia yang terjadi pada penderita dengan penyakit inflamasi kronis tertentu termasuk infeksi, artritis, *inflammatory bowel disease* serta keganasan,<sup>1,2</sup> dengan prevalensi terbesar kedua setelah anemia defisiensi besi.<sup>3</sup> Pada ACD terjadi gangguan metabolisme besi yang khas yaitu hipoferemia dengan cadangan besi sumsum tulang normal atau meningkat.<sup>1-4,5</sup> Inflamasi dan infeksi berhubungan erat dengan ACD, dimana terjadi penurunan *survival* eritrosit, gangguan efluks besi dari makrofag atau enterosit dan respon yang buruk dari prekursor eritroid terhadap eritropoetin. Namun hingga saat ini, patogenesis pasti dari ACD

masih belum jelas benar.<sup>6</sup>

Beberapa studi terbaru mendapatkan adanya peran suatu hormon peptida yang kecil bernama hepcidin pada patogenesis ACD.<sup>7</sup> *Hepcidin* adalah suatu peptida asam amino 20-, 22- atau 25- hasil pemecahan asam amino yang lebih besar dan merupakan suatu *acute phase protein*, *Hepcidin* dihasilkan oleh hepatosit dan dapat dideteksi pada urine dan serum, ekspresinya meningkat jika terjadi inflamasi.<sup>8-9</sup> Walaupun studi mengenai *hepcidin* masih terbatas jumlahnya, namun beberapa studi menyimpulkan bahwa *hepcidin* merupakan mediator langsung pada patogenesis ACD yang beraksi sebagai *negative regulator* penyerapan besi pada usus dan pelepasan oleh makrofag sehingga pemenuhan

kebutuhan besi untuk eritropoesis menjadi tidak adekuat.<sup>7,9</sup>

#### DISREGULASI HOMEOSTASIS BESI PADA ACD

Pada metabolisme besi yang normal, absorpsi besi di usus memegang peranan sangat penting. Absorpsi terbanyak terjadi di proksimal duodenum karena pH asam lambung dan kepadatan protein tertentu yang diperlukan pada proses absorpsi besi di epitel usus.

Proses absorpsi besi dibagi 3 fase:

1. Fase luminal, dimana besi pada makanan dilepas ikatannya karena pengaruh asam lambung dan direduksi dari feri menjadi fero yang siap diserap di duodenum.
2. Fase mukosal, merupakan suatu proses aktif yang sangat kompleks dan terkendali dimana sel absorptif pada puncak vili-vili usus feri dikonversi menjadi fero oleh enzim ferireduktase yang dimediasi oleh duodenal *cytochrome b-like* (DCYTB). Transpor melalui membran difasilitasi oleh protein *divalent metal transporter 1* (DMT1). Setelah besi masuk ke sitoplasma, sebagian disimpan dalam bentuk ferritin, sebagian dikeluarkan ke kapiler usus melalui *basolateral transporter* (feroportin/FPN). Pada proses ini terjadi reduksi dari feri menjadi fero oleh enzim ferooksidase (a.l. hephaestin), lalu feri diikat oleh apotransferin dalam kapiler usus. Terdapat fenomena mucosal block, dimana setelah beberapa hari dilakukan bolus besi dalam diet, maka enterosit resisten terhadap absorpsi besi berikutnya. Hambatan ini mungkin timbul karena akumulasi besi dalam enterosit sehingga menyebabkan *set-point* diatur seolah-olah kebutuhan besi sudah berlebihan.
3. Fase korporeal, dimana besi yang sudah diserap enterosit dan melewati bagian basal epitel usus, memasuki kapiler usus lalu dalam darah diikat oleh apotransferin menjadi transferrin. Transformasi

ini akan melepaskan besi pada sel *retikuloendotelial system* (RES) melalui proses pinositosis. Satu molekul transferin dapat mengikat maksimal 2 molekul besi. Kompleks besi-transferin ini (Fe<sup>2+</sup>-Tf) nantinya akan diikat oleh reseptor transferin (*transferrin receptor=Tfr*) yang terdapat pada permukaan sel membentuk kompleks Fe<sup>2+</sup>-Tf-Tfr, yang akan membentuk endosom. Suatu pompa proton akan menurunkan pH endosom, sehingga melepaskan ikatan besi dengan transferin. Besi dalam endosom akan dikeluarkan ke sitoplasma dengan bantuan DMT 1, sedangkan ikatan apotransferin dan reseptor transferin mengalami siklus kembali ke permukaan sel dan dapat dipergunakan kembali.

Beberapa hal yang meregulasi absorpsi besi dalam usus, yaitu *Dietary regulator*, (dimana jenis diet dengan bioavailabilitas besi yang tinggi dan adanya faktor *en-hancer* akan meningkatkan absorpsi besi), *Stores regulator* (dimana besarnya cadangan besi dapat mengatur tinggi rendahnya absorpsi besi), *Erythropoietic regulator* (besarnya absorpsi besi berhubungan dengan kecepatan eritropoesis)<sup>11,12</sup> dan *hepcidin* yang diperkirakan berperan sebagai soluble regulator absorpsi besi di usus.<sup>7,11</sup> Metabolisme besi pada makrofag diawali dengan fagositosis eritrosit dan pemecahannya di fagosom, kemudian besi dikeluarkan melalui feroportin dengan bantuan seruloplamin ferooksidase (yang berperan homolog seperti hepaestin di enterosit), Pada siklus besi dalam tubuh terjadi suatu *closed circuit* dimana peredaran jumlah besi tubuh yang sangat efisien, dimana hasil absorpsi besi di usus bergabung dengan besi yang dimobilisasi dari makrofag sumsum tulang untuk keperluan eritropoesis. Selanjutnya, hasil suatu eritropoesis yang inefektif dan besi pada eritrosit yang telah mengalami penuaan, akan dikembalikan lagi kepada makrofag dengan jumlah yang sama dengan keperluan eritropoesis tersebut. Sehingga hasil akhir mekanisme ini adalah keseimbangan jumlah besi tubuh.<sup>13</sup>

Pada ACD, akuisisi dan retensi besi oleh makrofag adalah hal yang dominan, terutama melalui eritrofagositosis dan import transmembran oleh DMT 1.<sup>14</sup> Interferon- $\gamma$ , lipopolisakarida dan TNF- $\alpha$  meningkatkan ekspresi DMT1 (sehingga terjadi peningkatan *uptake* besi oleh makrofag) dan menurunkan ekspresi ferroportin (suatu eksporter besi transmembran, sehingga menghambat release besi dari makrofag), hasil akhirnya adalah terjadi retensi besi pada makrofag.<sup>15</sup> Akuisisi besi oleh makrofag (secara *transferrin-mediated*) juga distimulasi oleh IL-10, yang merupakan suatu sitokin anti-inflamasi.<sup>5</sup> Inflamasi merangsang peningkatan ekspresi hepcidin oleh IL-6 dan lipopolisakarida dimana pada tikus percobaan, diketahui pengaruh *hepcidin* pada metabolisme besi yaitu menghambat *release* besi dari makrofag dan menurunkan penyerapan besi dari usus.<sup>16</sup> Induksi hipoferemia oleh IL-6 dan hepcidin timbul hanya dalam beberapa jam saja, namun hal ini tidak terjadi pada tikus percobaan yang *IL6-knockout*. Hal ini menunjukkan bahwa hepcidin mungkin memegang peranan sentral terjadinya ACD.<sup>17</sup>

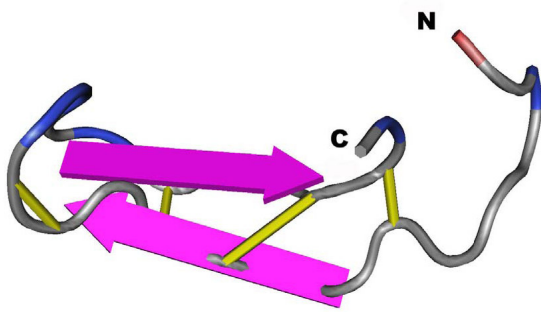
Secara garis besar pada **ACD** terjadi gangguan homeostasis besi yaitu peningkatan *uptake* besi pada sistem retikuloendotelial (RES), terjadi diversifikasi besi dari sirkulasi ke RES dan retensi besi pada RES serta penurunan penyerapan besi dari usus sehingga ketersediaan besi untuk proses eritropoiesis menjadi terbatas.<sup>3,18</sup>

### HEPCIDIN, BESI, INFEKSI DAN INFLAMASI

Pada tahun 2001, saat melakukan studi tentang karakter antimikrobia berbagai cairan tubuh manusia. Park *et al*<sup>18</sup> mengisolasi suatu peptida baru dari urine dan menamakannya hepcidin, berdasarkan tempat diproduksinya (hati, hep-) dan karakter antimikrobia *in vitro* (*-cidin*). Studi sebelumnya oleh Krause *et al*<sup>13</sup> juga mengisolasi peptida yang sama dari ultrafiltrat plasma dan menamakannya LEAP-1 (*liver expressed antimicrobial peptide*), suatu peptida dengan

karakter antimikrobia yang diekspresikan oleh hati. Yang istimewa dan tidak seperti peptida antimikrobia lainnya yang *sequence* peptidanya sangat bervariasi antar spesies, pada beberapa spesies mamalia (*rat*, *mouse*, babi) dan ikan *sequence hepcidin* ternyata hampir identik dengan *hepcidin* manusia. Namun terdapat sedikit perbedaan antara gen *hepcidin* manusia dan tikus yaitu pada manusia hanya terdapat 1 macam *hepcidin* sedangkan pada tikus didapatkan 2 macam *hepcidin* yaitu *hepcidin* 1 dan 2. Namun Lou *et al*<sup>9</sup> mendapatkan bahwa ekspresi *hepcidin* 2 tidak berpengaruh terhadap metabolisme besi seperti *hepcidin* 1. Di tahun-tahun berikutnya studi-studi mengenai peptida ini makin berkembang sehingga diketahui bahwa peningkatan produksi peptida ini (*hepcidin*) berhubungan dengan keadaan-keadaan seperti anemia berat, keganasan, inflamasi kronis, serta diketahui adanya penurunan produksinya pada hemokromatosis.<sup>21</sup>

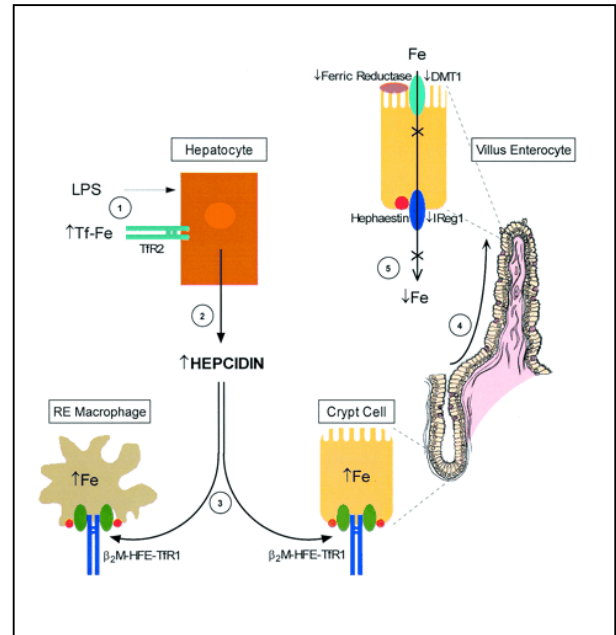
Secara struktur, hepcidin manusia suatu peptida kecil kaya sistein (8 sistein) yang didapat dari gugus C-terminal dari suatu asam amino prepeptida, yang diisolasi dari urine dan ultrafiltrat darah, yang sebagian besar mengandung 25 asam amino (hep-25) dan sebagian lagi ditemukan dengan rantai asam amino yang lebih pendek (hep-20 dan hep-22). Molekul *hepcidin* berbentuk seperti jepitan rambut (*hairpin*) dimana kedua lengannya disilang oleh gugusan disulfida. Suatu hal yang tidak biasa yang tampak pada molekul ini adalah susunan sisteinnya, dimana terdapat jembatan disulfida pada 2 sistein yang berdekatan sehingga reaktivitas kimianya lebih besar dibandingkan dengan ikatan disulfida pada peptida antimikrobia lainnya seperti pada defensin, takiplesin dan lainnya (gambar 1).<sup>13,21</sup>



Gambar 1. Struktur utama hepcidin manusia<sup>13</sup>  
 N = amino terminal, C = karboksi terminal, pita kuning = jembatan disulfida, pita biru = asam amino. Pola ikatan disulfida dengan 8 sistein terlihat pada *sequence* asam amino

Hubungan antara *hepcidin* dan metabolisme besi diungkapkan pertama kali oleh Pigeon *et al*<sup>13</sup> (saat meneliti respon hati terhadap beban besi yang berlebihan) yang mendapatkan bahwa mRNA *hepcidin* diproduksi oleh hepatosit dan lipopolisakarida serta beban besi yang berlebihan baik secara oral maupun parenteral dapat merangsang produksi *hepcidin* sebagai *feedback* terhadap keadaan *overload* besi tersebut, sehingga gen *hepcidin* dianggap sebagai gen *upstream stimulatory factor-2* (USF2). Nicolas *et al*<sup>23</sup> menemukan bahwa pada hewan percobaan tikus yang dihilangkan fungsi gen USF2-nya akan mengalami kondisi seperti hemokromatosis, dimana terjadi hiperabsorpsi besi pada usus dan peningkatan pelepasan besi dari makrofag sehingga terjadi peningkatan kandungan besi pada hati dan pankreas serta defisiensi besi pada lien. Pada hati terjadi kekurangan mRNA *hepcidin*. Untuk membuktikan bahwa *hepcidin* dapat secara langsung sebagai sensor pada homeostasis besi, maka pada studi Nicolas *et al*<sup>9</sup> berikutnya dibuatlah model tikus percobaan transgenik dengan overekspresi *hepcidin* (kebalikan dari penelitian sebelumnya). Model transgenik tersebut menunjukkan kadar besi tubuh dan anemia mikrositik yang berat, sedangkan fetusnya mati pada masa perinatal dengan anemia defisiensi besi yang berat. Sehingga peneliti menyimpulkan bahwa *hepcidin*

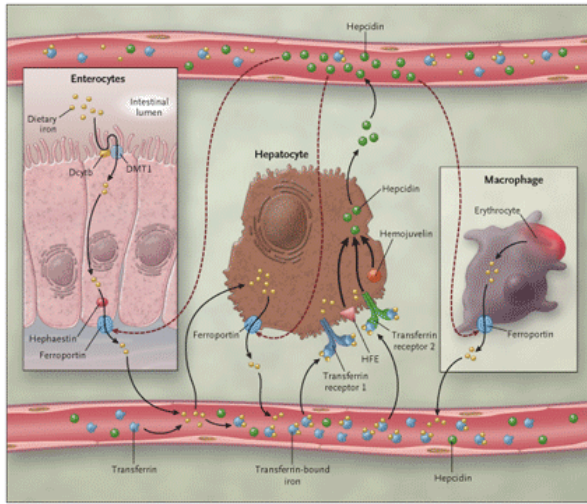
merupakan suatu *regulator negatif uptake* besi di usus serta *release* besi dari makrofag (sehingga terjadi retensi besi di makrofag) dan membuat suatu usulan model tentang peran *hepcidin* pada homeostasis besi (gambar 2).



Gambar 2. Model usulan Nicolas *et al* mengenai peran hepcidin pada homeostasis besi<sup>7</sup>

Model tersebut menunjukkan peningkatan *uptake* besi oleh TFR-2 (juga lipopolisakarida) oleh hepatosit sehingga terjadi peningkatan sintesa dan sekresi hepcidin, lalu hepcidin yang beredar di sirkulasi berinteraksi dengan kompleks  $\beta$  2-HFE-TFR-1 sehingga pada usus terjadi peningkatan *uptake* besi pada sel kriptas dan pada makrofag terjadi retensi besi. Sel kriptas mengalami maturasi dan menjadi enterosit (dimana enterosit ini terprogram untuk mengekspresikan lebih sedikit *iron transport protein*) yang pada gilirannya menurunkan absorpsi besi pada usus.<sup>6,7</sup>

Usulan model lainnya dari Anderson *et al* yang menunjukkan peran langsung hepcidin lebih kepada ekspresi FPN pada vili enterosit yang matur daripada sel kriptas (gambar 3).



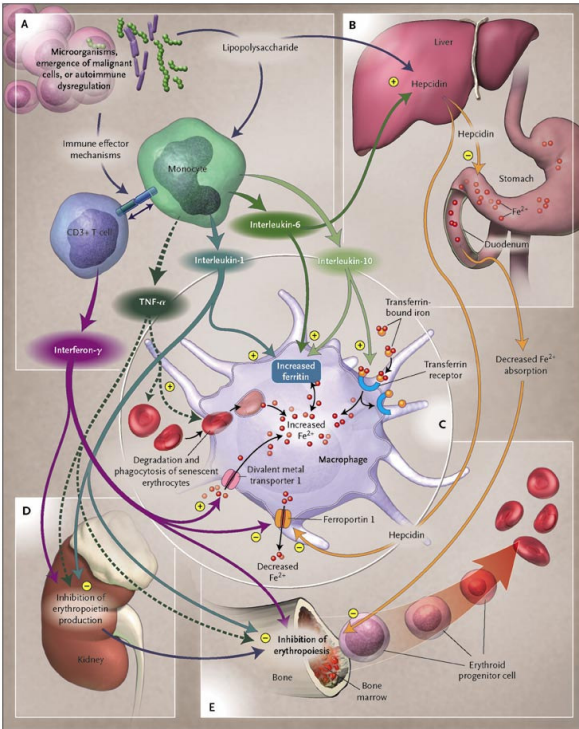
Gambar 3. Model usulan Anderson et al mengenai peran hepcidin pada homeostasis besi<sup>24</sup>

Model ini menunjukkan bahwa sel-sel hati mendeteksi kadar Fe<sup>2+</sup>-Tf melalui TfR2 dan TfR1. Penurunan rasio Fe<sup>2+</sup>-Tf/TfR ini akan menurunkan produksi hepcidin dan sebaliknya. Selanjutnya hepcidin di sirkulasi mengakibatkan *down-regulation* ekspresi FPN pada vili-vili enterosit yang matur sehingga mengurangi absorpsi besi pada usus dengan menghambat release besi dari enterosit ke sirkulasi. Pada makrofag dan hepatosit sendiri juga terjadi *down-regulation* ekspresi FPN ini yang dalam jangka panjang mengakibatkan penumpukan/retensi besi.<sup>6,24-25</sup> Saat ini model yang terakhir itulah yang banyak diakui setelah dibuktikan dengan studi-studi berikutnya. Suatu studi mendapatkan *lag period* 18 - 24 jam antara injeksi besi intravena dan penurunan absorpsi besi di usus. Waktu tersebut lebih singkat jika dibandingkan dengan *lag period* selama 2-3 hari untuk memprogram dan maturasi sel kript. Studi oleh Frazer et al<sup>26</sup> mendapatkan adanya keterlambatan peningkatan absorpsi besi yang mengikuti suatu stimulasi eritropoesis buatan disebabkan oleh *lag respon hepcidin* pada vili-vili enterosit yang matur bukan pada sel kript.

Hubungan antara hepcidin dan infeksi atau inflamasi saat ini nampaknya sudah lebih jelas. Studi oleh Nicolas et al<sup>27</sup> mendapatkan bahwa dengan injeksi turpentine (suatu stimulus inflamasi) pada tikus merangsang kenaikan mRNA hepcidin sebesar 4 kali lipat dan penurunan besi serum 2 kali lipat. Respon hipoferemia terhadap inflamasi yang turpentine-induced ini tidak ditemukan pada tikus percobaan yang dibuat defisiensi USF2/hepcidin. Hal tersebut mengindikasikan bahwa respon yang terjadi tergantung sepenuhnya pada peran hepcidin. Nemeth et al<sup>28</sup> melakukan *essay peptid hepcidin* yang terdapat dalam urine pada penderita anemia of inflammation karena infeksi kronis atau penyakit inflamasi yang berat, dan mendapatkan terjadinya peningkatan ekskresi hepcidin sebesar 100 kali lipat. Sedangkan pada penderita dengan penyakit inflamasi yang lebih ringan, peningkatannya lebih sedikit. Pada studi tentang efek sitokin terhadap hepatosit manusia diketahui bahwa produksi hepcidin dirangsang oleh lipopolisakarida dan sitokin dari monosit yang telah terpapar lipopolisakarida sebelumnya. Diantara sitokin proinflamasi tersebut, interleukin-6 (IL-6) merupakan sitokin terkuat merangsang mRNA hepcidin. Infeksi dan makromolekul yang pathogen-specific pada khususnya seperti lipopolisakarida, kemungkinan bekerja pada makrofag termasuk sel-sel Kupfer hati untuk merangsang produksi IL-6 dan pada gilirannya akan meningkatkan ekspresi mRNA hepcidin di hati.<sup>29</sup>

Weinstein et al<sup>2</sup> mereseksi adenoma hati yang besar pada 2 penderita dengan anemia mikrositik berat yang refrakter, kemudian terjadi perbaikan sempurna kelainan hematologis tersebut. Tampaknya sel-sel tumor memproduksi mRNA hepcidin secara otonom sehingga terjadi produksi hepcidin secara berlebihan yang menyebabkan anemia mikrositik pada penderita tersebut. Dari semua studi-studi tersebut dapat diambil suatu hubungan antara besi, infeksi/inflamasi, hepcidin dan ACD, yaitu peningkatan produksi hepcidin karena inflamasi dan kemampuan hepcidin untuk menekan eritropoesis dengan diregulasi homeostasis besi

sehingga membuat kondisi iron-starvation, selanjutnya disimpulkan bahwa kemungkinan besar hepcidin tersebut merupakan mediator kunci ACD (gambar 4).<sup>3,13</sup>



Gambar 4. Mekanisme patofisiologis yang mendasari terjadinya *Anemia of Chronic Disease*<sup>3</sup>

#### IMPLIKASI *HEPCIDIN* TERHADAP TATALAKSANA ACD

Dari hasil studi-studi diatas telah diketahui pengaruh hepcidin pada homeostasis besi, infeksi dan inflamasi. Para ahli menyimpulkan: jika hepcidin mengikuti pola hormon peptida atau sitokin pada umumnya, kerjanya akan diperantarai oleh reseptor pada permukaan sel, sehingga apabila reseptor ini dan jalur transduksinya sudah jelas, akan menuntun pengembangan suatu antagonis *hepcidin*. Dengan demikian akan berguna pada tatalaksana ACD disamping taapi penyakit dasarnya.<sup>13</sup>

#### RINGKASAN

Pada ACD terjadi gangguan homeostasis besi yaitu peningkatan *uptake* besi pada sistem retikuloendotelial (RES), terjadi diversi besi dari sirkulasi ke RES dan retensi besi pada RES serta penurunan penyerapan besi dari usus sehingga ketersediaan besi untuk proses eritropoesis menjadi terbatas. Telah ditemukan suatu peptida baru yang diduga kuat berperan pada patogenesis ACD yaitu *hepcidin*, suatu peptida asam amino yang dihasilkan hepatosit. Ekspresi *hepcidin* akan meningkat pada keadaan inflamasi/infeksi (oleh IL-6 dan lipopolisakarida) dan iron overload besi. Diduga kuat bahwa *hepcidin* menghambat efluks besi dari makrofag dan sistem retikuloendotelial (sehingga terjadi retensi besi), serta mengurangi penyerapan besi di usus, sehingga terjadi disregulasi homeostasis besi yang akhirnya terjadi kondisi "*iron-starvation*" yang mengganggu proses eritropoesis. Pengembangan suatu antagonis *hepcidin* akan sangat berguna pada tatalaksana ACD di masa depan, disamping mengobati penyakit dasarnya.

#### DAFTAR RUJUKAN

1. Bakta IM. Anemia akibat penyakit kronik. In: Bakta IM, editor. Pedoman diagnosis dan terapi hematologi. Denpasar Lab/SMF Penyakit Dalam FK Unud/RS Sanglah Denpasar; 2000.p.5-7.
2. Weinstein et al. Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: implications for the anemia of chronic disease. *Blood* 2002;100:3776-81.
3. Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. *N Engl J Med* 2005;352:1011-23.
4. Erslev AJ. Anemia of chronic disease. In: Beutler E, Lichtman MA, Coller BS, Kipps TJ, Seligsohn U, editors. *Williams Hematology*. 6th ed. New

- York: McGraw-Hill; 2001.p.481-7.
5. Tilg H, Ulmer H, Kaser A, Weiss G. Role of IL-10 for induction of anemia during inflammation. *J Immunol* 2002;169:2204-9.
  6. Leong WI, Lonnerdal B. Heparin, the recently identified peptide that appears to regulate iron absorption. *J Nutr* 2004;134:1-4.
  7. Fleming RE, Sly WS. Heparin: a putative ironregulatory hormone relevant to hereditary hemochromatosis and the anemia of chronic disease. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2001;98:8160-62.
  8. Park CH, Valore EV, Waring AJ, Ganz T. Heparin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 2001;276:7806-10.
  9. Nicolas G, Bennoun M, Porteu A, et al. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver heparin. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2002;99:4596-601.
  10. Bakta IM, Suega K, Dharmayuda TG Seri kapita selekta anemia defisiensi besi. Denpasar: Divisi Hematologi dan Onkologi Mcdik Bagian Penyakit Dalam FK Unud/RS Sanglah Denpasar; 2005.
  11. Andrews NC. Iron deficiency and related disorders. In: Greer GM, Paraskevas F, Glader B, editors. *Wintrobe's Clinical Hematology*. 11<sup>th</sup>ed. Philadelphia: Lippincot, Williams, Wilkins; 2004. p.947-1009.
  12. Andrews NC. Disorders of iron metabolism. *N Engl J Med* 1999;341:1986-95.
  13. Ganz T. Heparin, a key regulator of iron metabolism and mediator of anemia of inflammation. *Blood* 2003;102:783-8.
  14. Moura E, Noordermeer MA, Verhoeven N, Verheul AF, Marx JJ. Iron release from human monocytes after erythrophagocytosis in vitro: an investigation in normal subjects and hereditary hemochromatosis patients. *Blood* 1998;92:2511-9.
  15. Ludwiczek S, Aigner E, Theurl I, Weiss G. Cytokine-mediated regulation of iron transport in human monocytic cells. *Blood* 2003;101:4148-54.
  16. Laftah AH, Ramesh B, Simpson RJ, et al. Effect of heparin on intestinal iron absorption in mice. *Blood* 2004;103:3940-4.
  17. Andrews NC. Anemia of inflammation: the cytokine-heparin link. *J Clin Invest* 2004;113:1251-3.
  18. Robson KJ. Heparin and its role in iron absorption. *Gut* 2004;53:617-9.
  19. Lou DQ et al. Functional differences between heparin 1 and 2 in transgenic mice. *Blood* 2004;103:2816-21.
  20. Axel K. Heparin-metabolism of iron and its disease. Available from: [www.futura-sciences.com](http://www.futura-sciences.com)
  21. Hunter HN, Fulton DB, Ganz T, Vogel HJ. The solution structure of human heparin. a peptide hormone with antimicrobial activity that is involved in iron uptake and hereditary hemochromatosis. *The Journal of Biological Chemistry*. 2002;277(40): 37597-603.
  22. Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, et al. A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide heparin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem* 2001;276:7811-9.
  23. Nicolas G et al. Lack of heparin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98:8780-8785.
  24. Fleming RE, Bacon BR. Orchestration of iron homeostasis. *N Eng J Med* 2005;352:1741-4.
  25. Knutson MD, Oukka M, Koss LM, Aydemir F, Resnick MW. Iron release from macrophages after erythrophagocytosis is up-regulated by ferroportin 1 overexpression and down-regulated by heparin. 2005; 102(5): 1324-8.

26. Frazer DM, Inglis HR, Wilkins SJ, Millard KN, Steele TM, McLaren GD, McKie A T, Vulpe CD, Anderson GJ. Delayed hepcidin response explains the lag period in iron absorption following a stimulus to increase erythropoiesis. *Gut* 2004;53:1509-15.
  27. Nicolas G et al. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest* 2002;110:1037-44.
  28. Nemeth E, Valore EV, Territo M, Schiller G, Lichtenstein A, Ganz T. Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute phase protein. *Blood* 2003;101:2461-3.
  29. Nemeth E, Rivera S, Gabayan V, Keller C, Taudorf S, Pedersen BK, Ganz T. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest* 2004;113:1271-6.
-