

Justyna Przybyszewska¹, Ewa Żekanowska², Kornelia Kędziora-Kornatowska³,
Katarzyna Porzych³, Joanna Boińska², Roman Cichon¹, Grażyna Dymek⁴,
Marzenna Gruszka⁴

¹ Katedra i Zakład Żywienia i Dietetyki, CM UMK w Toruniu,

Szpital Uniwersytecki im. dr. Antoniego Jurasza w Bydgoszczy

² Katedra Patofizjologii, Zakład Zaburzeń Hemostazy, CM UMK w Toruniu,

Szpital Uniwersytecki im. dr. Antoniego Jurasza w Bydgoszczy

³ Katedra i Klinika Geriatrii, CM UMK w Toruniu,

Szpital Uniwersytecki im. dr. Antoniego Jurasza w Bydgoszczy

⁴ Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, CM UMK w Toruniu,

Szpital Uniwersytecki im. dr. Antoniego Jurasza w Bydgoszczy

Ocena stężenia prohepcydyny u osób w podeszłym wieku z rozpoznaną niedokrwistością

Assessment of prohepcidin level in the elderly patients with anemia

Pracę wykonano w Katedrze Patofizjologii, Zakładzie Zaburzeń Hemostazy CM UMK w Toruniu,
Szpitala Uniwersyteckiego im. dr. Antoniego Jurasza w Bydgoszczy

Abstract

Background. Hepcidin regulates intestinal iron absorption and affects the release of iron from hepatic stores and macrophages. As a result, the increased production of hepcidin may cause the sideropenia development. The aim of the study was evaluation of prohepcidin serum level in the elderly patients with microcytic or normocytic anemia.

Material and methods. The study group consisted of 58 elderly patients (24 male, 34 female) with recognized de novo microcytic or normocytic anemia (based on WHO criteria), between 65 to 91 years of age (a mean age of 78.92 ± 8.32). A control group constituted 26 healthy volunteers matched correctly according to sex and age. In the examined subjects were assessed: complete blood count and prohepcidin, sTfR, ferritin, EPO, transferrin, iron, TIBC concentration in the blood serum.

Results. Serum prohepcidin, iron and TIBC were significantly lower in the elderly patients with anemia over controls. Mean serum erythropoietin level were significantly higher in patients with anemia in comparison to the non-anemic subjects. However, sTfR, ferritin and transferrin serum concentration were similar in both study groups.

Conclusions. The prohepcidin serum concentration in the elderly patients with anemia was significantly lower than in the non-anemic subjects. Reduced prohepcidin levels in anemic patients may be the effect of regulating mechanisms initiated in order to increase the iron level in the functional pool.

Gerontol. Pol. 2010; 18, 1: 23–28

key words: anemia in the elderly, iron, prohepcidin

Adres do korespondencji:

dr n. med. Justyna Przybyszewska
Katedra i Zakład Żywienia i Dietetyki
ul. Dębowa 3, 85–626 Bydgoszcz
tel.: (52) 585 25 86, faks: (52) 585 25 84
e-mail: j.szwarc@wp.pl

Wstęp

Niedokrwistość u osób w podeszłym wieku stanowi istotny problem opieki zdrowotnej. Częstość występowania niedokrwistości w populacji osób powyżej 60. roku życia waha się w szerokim zakresie (3–61%) i dotyczy szczególnie pacjentów hospitalizowanych oraz podopiecznych domów opieki społecznej [1–3]. Niedokrwistość u starszych osób znacząco wpływa na pogorszenie jakości życia i dodatkowo stanowi niezależny czynnik ryzyka zwiększonej śmiertelności, zaburzeń naczyniowo-mózgowych oraz sercowo-naczyniowych [3–5]. W badaniu *Third National Health and Nutrition Examination Study* (NHANES III) wykazano 3 główne przyczyny występowania anemii w populacji geriatrycznej [6] obserwowane w prawie jednakowym odsetku:

- utrata krwi i/lub niedobory pokarmowe obejmujące żelazo, kobalaminę, kwas foliowy (ok. 34%);
- przewlekły proces zapalny (ok. 32%) towarzyszący wielu jednostkom klinicznym, w tym chorobom nerek, reumatycznym oraz nowotworowym;
- tło niewyjaśnione (ok. 34%) [6].

W dotychczasowych badaniach biologicznych oraz nielicznych doniesieniach klinicznych wskazuje się na istotną rolę hepcydyny w patomechanizmie niedokrwistości wtórnych. Hepcydyna jest krótkim, bogatym w cysteinę peptydem o masie cząsteczkowej około 3 kDa, wyizolowanym po raz pierwszy w 2000 roku przez 2 niezależne zespoły. Krause i wsp. [7] wyizolowali peptyd z ultrafiltratu krwi, nazywając go LEAP-1 (*liver-expressed antimicrobial peptide*) ze względu na zaobserwowane w trakcie badań właściwości antybakteryjne i przeciwgrzybicze oraz najsilniej wyrażoną ekspresję genu dla LEAP-1 w wątrobie. Park i wsp. [8] udało się wyizolować opisywany hormon z ludzkiego moczu. W tym przypadku dla nowo odkrytego hormonu zaproponowano określenie hepcydyna, wywodzące się od *hepatocyte* (czyli głównego miejsca syntezy), *bactericidal* (czyli działania bakteriobójczego) oraz budowy chemicznej, czyli protein [8]. W najnowszych badaniach wykazano, że synteza hepcydyny zachodzi także w aktywowanych bakteriami granulocytach obojętnochłonnych oraz makrofagach [9]. Oprócz wątroby ekspresję genu dla hepcydyny obserwuje się także w sercu, mózgu, płucach, migdałkach, tchawicy, śliniankach, prostaty, tarczycy, pęcherzu moczowym, żołądku oraz nerkach, jednak w tych narządach, w warunkach fizjologicznych jest ona nieporównywalnie niższa [7, 10, 11]. Hepcydyna syntetyzowana jest pierwotnie jako prepropeptyd o długości 84 aminokwasów, w którego strukturze wyróżnia się: złożoną z 24 reszt

aminokwasowych sekwencję sygnałową (N-koniec), 35-aminokwasowy proregion oraz w części C-końcowej, obejmujący 25 reszt aminokwasowych, peptyd właściwy [7, 8, 12, 13].

Zaangażowanie hepcydyny w ogólnoustrojową homeostazę żelaza obejmuje hamowanie absorpcji żelaza pokarmowego ze światła enterocytów absorpcyjnych oraz hamowanie uwalniania żelaza zapasowego z komórek układu siateczkowo-śródbłonkowego. Hepcydyna wpływa na gospodarkę żelazową poprzez oddziaływanie z ferroportyną (Fpn) [14]. Ferroportyna jest przezbłonowym białkiem występującym na powierzchni komórek uwalniających żelazo do puli krążącej, czyli enterocytów absorpcyjnych, makrofagów, hepatocytów, a także na powierzchni komórek łożyska [14]. Biologiczną funkcją Fpn jest transport żelaza z wnętrza komórki do światła naczyń krwionośnych [14]. Hepcydyna bezpośrednio wiąże się z cząsteczką Fpn, a powstałe w ten sposób połączenie hepcydyna–Fpn podlega następnie internalizacji. Wewnątrz powstałego endosomu ferroportyna ulega lizosomalnej degradacji. Ubytek ferroportyny powierzchni błony komórkowej wtórnie ogranicza proces uwalniania żelaza z wnętrza komórki [14, 15]. Interakcja hepcydyny z ferroportyną blokuje jedyną poznaną dotychczas ścieżkę transportu żelaza z wnętrza komórek jelitowych do krwioobiegu [16–19]. Celem podjętych badań była ocena stężenia prohepcydyny na tle wybranych parametrów metabolizmu żelaza u osób w podeszłym wieku z rozpoznaną *de novo* niedokrwistością mikro- lub normocytową.

Materiał i metody

Badania zrealizowano w latach 2005–2007 wśród 84 osób w wieku $75,69 \pm 9,38$ roku. Badaną grupę stanowiło 58 pacjentów zakwalifikowanych do leczenia w Katedrze i Klinice Geriatrii Szpitala Uniwersyteckiego im. dr. Antoniego Jurasza w Bydgoszczy, *Collegium Medicum* Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu. Wiek badanych osób to 65–91 lat (średnio $78,92 \pm 8,32$). Mężczyźni stanowili 41,4% ($n = 24$) ogółu badanej populacji, kobiety — 58,6% ($n = 34$). Do badania kwalifikowano wyłącznie osoby, u których rozpoznano *de novo* niedokrwistość mikro- bądź normocytową. U mężczyzn, zgodnie z obowiązującymi kryteriami Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, *World Health Organization*) [20], niedokrwistość rozpoznawano przy stężeniu hemoglobiny poniżej 13 g/dl, u kobiet poniżej 12 g/dl.

Grupę kontrolną stanowiło 26 osób w wieku 65–88 lat (średnio $68,46 \pm 7,47$), zgłaszających się do poradni przyklinicznej w celu kompleksowej oceny ge-

Tabela 1. Podstawowe parametry morfologii krwi u pacjentów z niedokrwistością oraz osób w grupie kontrolnej**Table 1.** Hematological indices in patients with anemia and in the control group

Parametr	Grupa badana (n = 58)		Grupa kontrolna (n = 26)		p
	Me lub średnia ± SD	Q1; Q3 lub min.–maks.	Me lub średnia ± SD	Q1; Q3 lub min.–maks.	
HGB [g/dl]	10,90	9,10; 11,90	13,95	13,00; 15,40	< 0,0001
HCT (%)	33,25 ± 5,10	20,90–41,70	42,00 ± 3,73	36,10–50,70	< 0,0001
MCV [fl]	90,95	84,60; 93,70	92,80	89,20; 95,50	NS
RBC 106/l	3,78 ± 0,62	1,97–5,21	4,55 ± 0,50	3,78–5,63	< 0,0001

HCT (hematocrit) — hematokryt; HGB (hemoglobin) — hemoglobina; MCV (mean corpuscular volume) — średnia objętość krwinki czerwonej; RBC (erythrocyte count) — liczba krwinek czerwonych; SD (standard deviation) — odchylenie standardowe; Me (median) — mediana; Q1 and Q2 (25th and 75th percentiles) — 25. i 75. percentyl; p — poziom istotności statystycznej; NS (differences not significant statistically) — różnica nieistotna statystycznie

riatrycznej. Mężczyźni stanowili 42,3% (n = 11) ogólnej populacji kontrolnej, kobiety — 57,7% (n = 15). U wszystkich osób zakwalifikowanych do grupy kontrolnej na podstawie wywiadu i badań dodatkowych wykluczono czynniki lub procesy chorobowe, które mogłyby wpływać na hematopoezę i/lub gospodarkę żelaza (np. infekcje, niedożywienie, choroby nowotworowe, reumatyczne, stany zapalne jelit, endokrynopatie).

Z badania wykluczono pacjentów, którzy podczas przesiewowej oceny stanu odżywienia deklarowali przyjmowanie suplementów witamin i składników mineralnych. Materiał do badań laboratoryjnych stanowiła krew obwodowa pobierana rano z żyły odłokciowej, przy minimalnym zastoju żylnym. W grupie badanej krew do analizy pobierano po ustaleniu rozpoznania, ale przed rozpoczęciem właściwego postępowania terapeutycznego. Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej Uniwersytetu Mikołaja Kopernika w Toruniu przy *Collegium Medicum* im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy. Wszystkie osoby uczestniczące w projekcie zapoznano z procedurą badawczą oraz poinformowano o celu badań i wyraziły one na nie świadomą pisemną zgodę.

U wszystkich osób objętych badaniem wykonano morfologię krwi obwodowej oraz oznaczono stężenie: prohormonu hepcydyny (prohepcydyny), rozpuszczalnego receptora transferyny (sTfR, *soluble transferrin receptor*), ferrytyny, erytropoetyny (EPO), transferyny, żelaza, całkowitą zdolność wiązania żelaza (TIBC, *total iron-binding capacity*). Stężenia prohepcydyny, sTfR, ferrytyny, EPO oznaczono metodą immunoenzymatyczną (ELISA, *enzyme-linked immunosorbent assay*) z użyciem odczynników, odpowiednio: Hepcidin Prohormone ELISA (DRG Instruments GmbH, Niemcy), Human sTfR ELISA [BioVendor, DRG Ferritin (EIA-1872), firmy DRG International, Inc., Sta-

ny Zjednoczone], EPO ELISA (Roche Diagnostics GmbH, Niemcy). Stężenie żelaza w surowicy krwi oraz TIBC wyznaczano metodą spektrofotometryczną za pomocą automatycznego analizatora biochemicznego ARCHITECT c8000 System (Abbott Diagnostics). Stężenie transferyny mierzono metodą immunochemiczną przy użyciu analizatora BNTMII Systems (Dade Behring). Badanie morfologii krwi obwodowej wykonywano za pomocą wieloparametrowego analizatora hematologicznego Sysmex XE-2100 z wykorzystaniem odczynników (Roche).

Wnioskowanie statystyczne przeprowadzono przy użyciu programu komputerowego STATISTICA v. 6,0 (StatSoft), przy poziomie istotności $p \leq 0,05$. Zgodność rozkładów poszczególnych cech z rozkładem normalnym ustalono za pomocą testu Shapiro-Wilka. Wartości parametrów, których rozkład różnił się znacząco od rozkładu normalnego ($p < 0,05$), przedstawiono za pomocą mediany (Me) oraz dolnego (Q1) i górnego (Q3) kwartyla. Wartości parametrów zgodnych z rozkładem normalnym ($p > 0,05$) opisywano na podstawie średniej arytmetycznej, odchylenia standardowego (SD) oraz wartości minimalnej i maksymalnej. Do analizy różnic pomiędzy badanymi parametrami w poszczególnych grupach zastosowano: test nieparametryczny U Manna-Whitneya dla parametrów, których rozkład różnił się od normalnego. Dla parametrów o rozkładzie zgodnym z normalnym zastosowano test *t*-Studenta.

Wyniki

W analizie porównawczej podstawowych parametrów hematologicznych wykazano, zgodnie z oczekiwaniami, istotnie statystycznie niższe wartości hemoglobiny, hematokrytu oraz liczby krwinek czerwonych w grupie pacjentów z niedokrwistością w porównaniu do grupy kontrolnej (tab. 1). Średnia

Tabela 2. Wartości stężeń analizowanych parametrów gospodarki żelazowej u pacjentów z niedokrwistością oraz osób w grupie kontrolnej**Table 2.** Serum concentrations of iron metabolism parameters in patients with anemia and in the control group

Parametr	Grupa badana (n = 58)		Grupa kontrolna (n = 26)		p
	Me	Q1; Q3	Me	Q1; Q3	
Prohepcydyna [ng/ml]	205,21	169,4; 238,1	292,18	257,8; 335,8	< 0,0001
Żelazo [μ g/dl]	31,65	20,00; 58,20	81,60	70,00; 92,00	< 0,0001
sTfR [μ g/ml]	1,93	0,52; 3,18	1,56	1,11; 2,03	NS
Transferyna [g/l]	2,03	1,61; 2,33	2,14	2,07; 2,32	NS
TIBC [μ g/dl]	227,20	178,9; 274,0	257,00	229,0; 337,8	0,0024
Ferrytyna [ng/ml]	67,26	21,03; 142,21	42,62	31,66; 75,50	NS
EPO [U/l]	9,08	5,62; 16,70	4,91	3,76; 8,64	0,0031

EPO (erythropoietin) — erytropoetyna; sTfR (soluble transferrin receptor) — rozpuszczalny receptor dla transferyny; TIBC (total iron-binding capacity) — całkowita zdolność wiązania żelaza; N (sample size) — liczebność grupy; Me (median) — mediana; Q1 and Q2 (25th and 75th percentiles) — 25. i 75. percentyl; p (significance level) — poziom istotności statystycznej; NS (differences not significant statistically) — różnica nieistotna statystycznie

objętość krwinki czerwonej w obu objętych badaniami grupach była porównywalna ($p = 0,0896$) (tab. 1). W surowicy krwi osób chorych na niedokrwistość stwierdzono istotnie statystycznie ($p < 0,0001$) niższe stężenie prohepcydyny (205,21 ng/ml) w porównaniu do grupy kontrolnej (292,18 ng/ml) (tab. 2). Z badań własnych wynika również, że znamienne niższe było stężenie żelaza oraz TIBC u pacjentów z niedokrwistością w porównaniu z grupą kontrolną (tab. 2). Na podstawie analizy statystycznej stwierdzono ponadto istotnie wyższe stężenie erytropoetyny (EPO) w grupie chorych z niedokrwistością (9,08 U/l) w stosunku do grupy kontrolnej (4,91 U/l). Wykazano także nieco wyższe wartości stężeń sTfR (1,93 mg/ml) oraz ferrytyny (67,26 ng/ml) w grupie chorych, w porównaniu do grupy kontrolnej (odpowiednio 1,56 mg/ml i 42,62 ng/ml), wskazane różnice nie były jednak istotne statystycznie (tab. 2). Stężenie transferyny w surowicy krwi w obu badanych grupach było podobne (2,03 g/l v. 2,14 g/l) i mieściło się w zakresie wartości fizjologicznych.

Dyskusja

Badania nad hepcydyną trwają zaledwie od 9 lat, dlatego wiele kwestii dotyczących biologii omawianego hormonu jak dotąd pozostaje nieznanymi. W aktualnym piśmiennictwie nie ma badań epidemiologicznych wyznaczających zakres wartości referencyjnych dla prohepcydyny i hepcydyny. Żaden z badaczy nie podjął także analizy wpływu wieku na stężenie hepcydyny w surowicy krwi. Większość dotychczas opublikowanych badań, poświęconych fizjologicznej aktywności hepcydyny, stanowią eksperymenty na zwierzętach i doświadczenia prowadzo-

ne w warunkach pozaustrojowych, na hodowlach komórkowych. W nielicznych dostępnych pracach klinicznych analizowano stężenia hepcydyny i prohepcydyny w surowicy krwi i/lub moczu noworodków, niemowląt, kobiet w ciąży, zdrowych osób dorosłych oraz osób dorosłych w różnych stanach klinicznych (głównie w hemochromatozie, przewlekłej chorobie nerek, chorobach wątroby, niedokrwistości) [21–25]. Badania własne należą do pierwszych, w których podjęto próbę wyznaczenia stężenia prohepcydyny w populacji osób powyżej 60. roku życia, w tym u pacjentów z rozpoznąną niedokrwistością.

Wyniki prezentowanych badań dostarczyły interesujących obserwacji, które wydają się potwierdzać udział hepcydyny w patofizjologii niedokrwistości. Wykazano mianowicie, że stężenie analizowanego pro-hormonu było istotnie statystycznie niższe w surowicy chorych na niedokrwistość w porównaniu z grupą kontrolną. Obniżenie stężenia krążącej prohepcydyny w niedokrwistości uznaje się za fizjologiczny mechanizm regulacyjny w homeostazie żelaza mający na celu zwiększenie biodostępności tego pierwiastka dla procesu erytropoetyzy [26, 27].

Wyniki badań własnych korespondują z obserwacjami z badań biologicznych, w których anemię indukowano w sposób eksperymentalny poprzez flebotomię lub iniekcję fenylohydrazyny (PHZ, *phenylhydrazine*) [27, 28]. Wyniki tych prac bezspornie wskazują, że niedokrwistości towarzyszy spadek ekspresji genu dla hepcydyny [27–29]. Obniżoną ekspresję genu dla hepcydyny obserwowano także w doświadczeniu na szczurach pozostających na diecie z obniżoną zawartością żelaza [30]. Spadek stężenia hep-

cydyny odnotowano również u zdrowych osób, u których indukowano stan hipoksji [31]. Analogiczną zależność wykazali także Małyszko i wsp. [32] w badaniach przeprowadzonych wśród pacjentów długotrwale dializowanych. Na podstawie stężenia hemoglobiny autorzy podzielili pacjentów na 2 grupy: z niedokrwistością ($Hb < 11$ g/dl) oraz bez niedokrwistości ($Hb \geq 11$ g/dl) [32]. W grupie długotrwale dializowanych chorych z niedokrwistością uzyskano znamienne niższe stężenie surowiczej prohepcydyny w porównaniu z pacjentami przewlekle dializowanymi bez niedokrwistości [32]. Również Kulaksiz i wsp. [22] zaobserwowali, że wśród osób chorych na przewlekłą niewydolność nerek znacząco niższe wartości krążącej prohepcydyny częściej występowały u pacjentów ze współistniejącą niedokrwistością. Niższe wartości krążącej prohepcydyny, obserwowane w przypadku niedokrwistości, można wytłumaczyć opierając się na znajomości mechanizmów zaangażowanych w proces regulacji ekspresji genu dla hepcydyny. W niedokrwistości na skutek niedotlenienia dochodzi do wzrostu wydzielania erytropoetyny przez komórki śródmiąższowe nerek. Tymczasem erytropoetynę przedstawia się jako czynnik o najsilniejszej aktywności supresyjnej wobec syntezy hepcydyny [27,

33]. Nicolas i wsp. [27] w badaniach na modelu mysim dostrzegli znaczne obniżenie w wątrobie ekspresji genu dla hepcydyny po iniekcji erytropoetyny. Uważa się, że obniżenie produkcji hepcydyny w przebiegu anemii może także wynikać ze zmniejszonego stężenia żelaza w surowicy krwi oraz tkankach [27]. Dla pacjentów z niedokrwistością, badanych w ramach niniejszego projektu, znamienne było zarówno znacząco wyższe stężenie endogennej erytropoetyny, jak również ponad 2-krotnie niższe stężenie żelaza w porównaniu z grupą kontrolną. Zdaniem Hadley i wsp. [34] ekspresja hepcydyny wydaje się w większym stopniu zależna od zmian w erythropoezie oraz zmian w wielkości spożycia żelaza niż od wahań stężenia żelaza zapasowego.

Wnioski

Wyniki badań własnych oraz dane z piśmiennictwa nasuwają stwierdzenie, że obniżone wartości prohepcydyny w przebiegu jawnej niedokrwistości są prawdopodobnie skutkiem uruchomienia wewnętrznych mechanizmów regulacyjnych mających na celu zwiększenie stężenia żelaza w puli czynnościowej.

Streszczenie

Wstęp. Hepcydyna reguluje wchłanianie żelaza ze światła enterocytów absorpcyjnych oraz hamuje uwalnianie żelaza zapasowego z hepatocytów oraz makrofagów. W rezultacie wzrost syntezy hepcydyny może przyczynić się do rozwoju niedoboru żelaza. Celem pracy była ocena stężenia prohepcydyny u osób w podeszłym wieku z rozpoznaną de novo niedokrwistością mikro- lub normocytową.

Materiał i metody. Badania zrealizowano wśród 58 pacjentów (24 mężczyzn, 34 kobiety) w wieku 65–91 lat z rozpoznaną na podstawie obowiązujących kryteriów Światowej Organizacji Zdrowia niedokrwistością de novo mikro- bądź normocytową. Grupę kontrolną stanowiło 26 osób odpowiednio dobranych pod względem płci i wieku. U wszystkich osób objętych badaniem wykonano morfologię krwi obwodowej oraz oznaczono stężenia: prohepcydyny, rozpuszczalnego receptora dla transferyny (sTfR), ferrytyny, erytropoetyny, transferyny, żelaza oraz całkowitej zdolności wiązania żelaza (TIBC).

Wyniki. W surowicy krwi pacjentów geriatrycznych z rozpoznaną niedokrwistością stwierdzono znamienne niższe stężenia prohepcydyny, TIBC oraz żelaza w porównaniu do grupy kontrolnej. Stężenie erytropoetyny we krwi chorych na niedokrwistość było znamienne wyższe niż w grupie kontrolnej. Natomiast stężenie sTfR, ferrytyny oraz transferyny w obu badanych grupach było porównywalne.

Wnioski. Stężenie prohepcydyny w surowicy krwi pacjentów geriatrycznych z rozpoznaną niedokrwistością było znamienne statystycznie niższe niż w grupie kontrolnej, co wskazuje na uruchomienie mechanizmów regulacyjnych zwiększających dostępność żelaza czynnościowego.

Gerontol. Pol. 2010; 18, 1: 23–28

słowa kluczowe: prohepcydyna, żelazo, niedokrwistość podeszłego wieku

PIŚMIENNICTWO

1. Artz A.S., Fergusson D., Drinka P.J. i wsp. Mechanisms of unexplained anemia in the nursing home. *J. Am. Geriatrics. Soc.* 2004; 52: 423–427.
2. Beghé C., Wilson A., Ershler W.B. Prevalence and outcomes of anemia in geriatrics: a systematic review of the literature. *Am. J. Med.* 2004; 116: 3–10.
3. Gabrilove J. Anemia and the elderly: clinical considerations. *Best Pract. Res. Clin. Haematol.* 2005; 18: 417–422.
4. Penninx B.W.J.H., Pahor M., Woodman R.C., Guralnik J.M. Anemia in old age is associated with increased mortality and hospitalization. *J. Gerontol. A Biol. Sci. Med. Sci.* 2006; 61: 474–479.
5. Zakai N.A., Katz R., Hirsch C. i wsp. A prospective study of anemia status, hemoglobin concentration, and mortality in an elderly cohort: the Cardiovascular Health Study. *Arch. Intern. Med.* 2005; 165: 2214–2220.
6. Guralnik J.M., Eisenstaedt R.S., Ferrucci L., Klein H.G., Woodman R.C. Prevalence of anemia in persons 65 years and older in the United States: evidence for a high rate of unexplained anemia. *Blood* 2004; 104: 2263–2268.
7. Krause A., Neitz S., Magert H.J. i wsp. LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity. *FEBS Lett.* 2000; 480: 147–150.
8. Park C.H., Valore E.V., Waring A.J., Ganz T. Hepcidin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 7806–7810.
9. Peyssonnaud C., Zinkernagel A.S., Datta V., Lauth X., Johnson R.S., Nizet V. TLR4-dependent hepcidin expression by myeloid cells in response to bacterial pathogens. *Blood* 2006; 107: 3727–3732.
10. Kulaksiz H., Theilig F., Bachmann S. i wsp. The iron-regulatory peptide hormone hepcidin: expression and cellular localization in the mammalian kidney. *J. Endocrinol.* 2005; 184: 361–370.
11. Merle U., Fein E., Gehrke S.G., Stremmel W., Kulaksiz H. The iron regulatory peptide hepcidin is expressed in the heart and regulated by hypoxia and inflammation. *Endocrinology* 2007; 148: 2663–2668.
12. Hunter H.N., Fulton D.B., Ganz T., Vogel H.J. The solution structure of human hepcidin, a peptide hormone with antimicrobial activity that is involved in iron uptake and hereditary hemochromatosis. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 37597–37603.
13. Wallace D.F., Jones M.D., Pedersen P., Rivas L., Sly L.I., Subramaniam V.N. Purification and partial characterisation of recombinant human hepcidin. *Biochimie* 2006; 88: 31–37.
14. Nemeth E., Tuttle M.S., Powelson J. i wsp. Hepcidin Regulates Cellular Iron Efflux by Binding to Ferroportin and Inducing Its Internalization. *Science.* 2004; 306: 2090–2093.
15. Knutson M.D., Oukka M., Koss L.M., Aydemir F., Wessling-Rensnick M. Iron release from macrophages after erythrophagocytosis is up-regulated by ferroportin 1 overexpression and down-regulated by hepcidin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2005; 102: 1324–1328.
16. Laftah A.H., Ramesh B., Simpson R.J. i wsp. Effect of hepcidin on intestinal iron absorption in mice. *Blood* 2004; 103: 3940–3944.
17. Nemeth E., Preza G.C., Jung C.L., Kaplan J., Waring A.J., Ganz T. The N-terminus of hepcidin is essential for its interaction with ferroportin: structure-function study. *Blood* 2006; 107: 328–333.
18. Nemeth E., Rivera S., Gabayan V. i wsp. IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J. Clin. Invest.* 2004; 113: 1271–1276.
19. Yamaji S., Sharp P., Ramesh B., Srai S.K. Inhibition of iron transport across human intestinal epithelial cells by hepcidin. *Blood* 2004; 104: 2178–2180.
20. World Health Organization, Nutritional anemias: report of a WHO scientific group Geneva, 1968.
21. Eleftheriadis T., Kartsios C., Liakopoulos V. i wsp. Does hepcidin affect erythropoiesis in hemodialysis patients? *Acta Haematol.* 2006; 116: 238–244.
22. Kulaksiz H., Gehrke S.G., Janetzko A. i wsp. Pro-hepcidin: expression and cell specific localisation in the liver and its regulation in hereditary haemochromatosis, chronic renal insufficiency, and renal anaemia. *Gut.* 2004; 53: 735–743.
23. Laskowska-Klita T., Chelchowska M., Ambroszkiewicz J., Swiatek E., Leibschang J. Serum pro-hepcidin and iron markers during uncomplicated pregnancy. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2007; 130: 273–274.
24. Luukkonen S., Punnonen K. Serum pro-hepcidin concentrations and their responses to oral iron supplementation in healthy subjects manifest considerable inter-individual variation. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2006; 44: 1361–1362.
25. Tiker F., Celik B., Tarcan A., Kilicdag H., Ozbek N., Gurakan B. Serum pro-hepcidin levels and relationships with iron parameters in healthy preterm and term newborns. *Pediatr. Hematol. Oncol.* 2006; 23: 293–297.
26. Ganz T., Nemeth E. Iron imports IV Hepcidin and regulation of body iron metabolism. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2006; 290: 199–203.
27. Nicolas G., Chauvet C., Viatte L. i wsp. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J. Clin. Invest.* 2002; 110: 1037–1044.
28. Pak M., Lopez M.A., Gabayan V., Ganz T., Rivera S. Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity. *Blood* 2006; 108: 3730–3735.
29. Latunde-Dada G.O., Vulpe C.D., Anderson G.J., Simpson R.J., McKie A.T. Tissue-specific changes in iron metabolism genes in mice following phenylhydrazine-induced haemolysis. *Biochim. Biophys. Acta* 2004; 1690: 169–176.
30. Frazer D.M., Wilkins S.J., Becker E.M. i wsp. Hepcidin expression inversely correlates with the expression of duodenal iron transporters and iron absorption in rats. *Gastroenterol.* 2002; 123: 835–844.
31. Benedict C., Ghio A.J., Gehring H., Schultes B., Peters A., Oltmanns K.M. Transient hypoxia and downregulation of circulating prohepcidin concentrations in healthy young men. *Haematologica* 2007; 92: 125–126.
32. Matyszko J., Matyszko J.S., Hryszko T., Pawlak K., Mysliwiec M. Is hepcidin a link between anemia, inflammation and liver function in hemodialyzed patients? *Am. J. Nephrol.* 2005; 25: 586–590.
33. Atanasiu V., Manolescu B., Stoian I. Hepcidin-central regulator of iron metabolism. *Eur. J. Haematol.* 2007; 78: 1–10.
34. Hadley K.B., Johnson L.A.K., Hunt J.R. Iron absorption by healthy women is not associated with either serum or urinary pro-hepcidin. *Am. J. Clin. Nutr.* 2006; 84: 150–155.