

## НАУЧНИ ОБЗОРИ SCIENTIFIC REVIEWS

### КЛИНИЧНО ЗНАЧЕНИЕ НА СЕРУМНИЯ ХЕПСИДИН ПРИ ВЪЗПАЛИТЕЛНИ И ТУМОРНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ НА ЧЕРВАТА

**В. Манолов<sup>1</sup>, О. Георгиев<sup>2</sup>, Д. Стефанова-Петрова<sup>3</sup>, В. Василев<sup>1</sup>, Р. Црънчева<sup>3</sup>, К. Цачев<sup>1</sup> и В. Митев<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Катедра по клинична лаборатория и клинична имунология, МУ – София

<sup>2</sup>Катедра по пропедевтика на вътрешните болести, МУ – София

<sup>3</sup>Клиника по вътрешна медицина и гастроентерология, УМБАЛ „Александровска” – София

<sup>4</sup>Катедра по медицинска химия и биохимия, МУ – София

### CLINICAL SIGNIFICANCE OF SERUM HEPCIDIN CONCENTRATIONS IN INFLAMMATORY AND TUMOR BOWEL DISEASES

**V. Manolov<sup>1</sup>, O. Georgiev<sup>2</sup>, D. Stefanova-Petrova<sup>3</sup>, V. Vasilev<sup>1</sup>, R. Tsrancheva<sup>3</sup>, K. Tzatchev<sup>1</sup> and V. Mitev<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Department of Clinical Laboratory and Clinical Immunology, MU – Sofia

<sup>2</sup>Department of Propaedeutics of Internal Diseases, MU – Sofia

<sup>3</sup>Clinic of Internal Medicine and Gastroenterology, UH „Aleksandrovska” – Sofia

<sup>4</sup>Department of Medical Chemistry and Biochemistry, MU – Sofia

**Резюме.** Възпалителната болест на червата (IBD) включва различни чревни патологии, най-чести от които са улцерозен колит (UC) и болест на Crohn (CD). UC и CD се изявяват клинично със сходни симптоми, които могат да включват диария, ректално кървене, коремна болка и загуба на тегло. Анемията е един от най-честите симптоми на възпалителните заболявания на червата. Патофизиологията на анемията при IBD е сложна и може да е свързана с възпаление, чревни кръвоизливи или нарушения в усвояването на желязо. Други, по-редки причини са дефицит на витамин B12/фолат или лекарствено индуцирана анемия. Новите данни показват, че хепсидин е основен медиатор на анемията и играе централна роля в хомеостазата на желязо и обмяната на веществата. Той регулира абсорбцията на желязото и освобождаването на елемента от клетките, като блокира действието на феропортина, който е експортер на желязо от макрофагите, хепатоцитите и дуоденалните ентероцити. Оценката на серумните нива на хепсидин при пациенти с IBD може да се превърне в ключов елемент в диагностицирането и лечението на анемията в близко бъдеще. Изследването на хепсидина има потенциално полезно значение в диагностичните алгоритми за разграничаването на желязодефицитна анемия (ЖДА) от анемия при хронични заболявания (АХЗ) и от комбинираното състояние ЖДА/АХЗ.

**Ключови думи:** анемия, хепсидин, възпалителни заболявания на тънките черва, тумори на тънките черва, улцерозен колит, болест на Крон

**Адрес за кореспонденция:** Д-р В. Манолов, дм, Катедра по клинична лаборатория и клинична имунология, МУ, ул. „Св. Г. Софийски” № 1, 1431 София, тел. 02 9230 928, e-mail: victhedoc2@yahoo.com

**Abstract.** Inflammatory bowel disease (IBD) includes various intestinal pathologies, the most common of which are ulcerative colitis (UC) and Crohn's disease (CD). Both, UC and CD, are manifested clinically with similar symptoms which may include diarrhea, rectal bleeding, abdominal pain and weight loss. Anemia is one of the most common symptoms of inflammatory bowel disease. The pathophysiology of anemia in IBD is complex and may be associated with inflammation, intestinal bleeding or impaired iron absorption. Other less frequent causes are vitamin B12/folate deficiency or drug-induced anemia. Recent data suggests that hepcidin is a major mediator of anemia and plays a major role in the homeostasis of the iron metabolism. It regulates iron absorption and its release from the cells by blocking the action of ferroportin, which is the iron intracellular exporter from macrophages, hepatocytes and duodenal enterocytes.

*Evaluation of serum hepcidin in IBD patients may become a key element in the diagnosis and treatment of anemia in the near future. The quantification of hepcidin has potential usefulness in diagnostic algorithms for differentiating between iron deficiency anemia (IDA) and anemia in chronic diseases (ACD) and the combination IDA/ACD.*

**Key words:** anemia, hepcidin, inflammatory bowel diseases, tumor bowel diseases, ulcerative colitis, Crohn's disease

**Address for correspondence:** V. Manolov, MD PhD, Department of Clinical Laboratory and Clinical Immunology, MU, 1 Sv. G. Sofyiski St., Bg – 1431 Sofia, tel. +359 2 9230 928, e-mail: victhedoc2@yahoo.com

Възпалителната болест на червата (IBD) включва различни чревни патологии, най-чести от които са улцерозен колит (UC) и болестта на Crohn (CD). UC и CD се изявяват клинично със сходни симптоми, които могат да включват диария, ректално кървене, коремна болка и загуба на тегло [1]. Въпреки че патогенезата на IBD остава все още недобре изяснена, IBD се определя като многофакторно заболяване, което включва едновременно генетични и аутоимунни компоненти, както и фактори на средата [2]. Счита се, че възпалителните промени в чревната лигавица са свързани с повишен риск от бактериална инвазия и ендотоксемия.

Анемията е един от най-честите симптоми на възпалителните заболявания на червата. Патофизиологията на анемията при IBD е сложна и може да е свързана с възпаление, чревни кръвоизливи или нарушения в усвояването на желязо. Други, по-редки причини са дефицит на витамин B12/фолат или лекарствено индуцирана анемия.

Новите данни показват, че хепсидин е основен медиатор на анемията и играе централна роля в хомеостазата на желязо и обмяната на веществата. Той регулира абсорбцията на желязото и освобождаването на елемента от клетките, като блокира действието на феропортина, който е експортер на желязо от макрофагите, хепатоцитите и дуоденалните ентероцити. Литературните източници за ролята на хепсидина в патогенезата на анемията при пациенти с IBD са доста ограничени, а резултатите – противоречиви. Установени са високи нива на уринен хепсидин при пациенти с болестта на Крон (Crohn's disease, CD) главно в активната фаза на заболяването [3]. В противоречие на това Arnold и съавт. установяват значително намалени серумни концентрации на хепсидин в сравнение със здрави контроли, независимо от наличието или отсъствието на анемия [4]. Вероятно причината за тези разнопосочни резултати се дължи на факта, че серумните концентрации на хепсидин се регулират не само от възпалителните цитокини (като IL-6), но и от други фактори, като серумно желязо и активност на еритропоезата.

При по-голямо многоцентрово проучване на хиляда пациенти Vergamaschi и съавт. отчитат сигнификантно по-високи серумни нива на хепсидин (в сравнение със здрави контроли), които пряко корелират със степента на възпаление и активността на заболяването [5]. При същото проучване е установена строга негативна връзка на нивата на хепсидин с хемоглобиновите концентрации, както и положителна корелация с C-реактивен протеин и феритин. Това потвърждава ролята на хепсидина в патогенезата на анемията при IBD и значението му като острофазов протеин.

При ретроспективно проучване при 247 пациенти с IBD Mecklenburg и съавт. установяват, че независимо от активността на възпалението ниските серумни концентрации на феритин пряко корелират с ниски хепсидинови нива, т.е., че железният дефицит е ключов фактор в хепсидиновата регулация при пациенти с IBD и анемия [6]. Следователно анемията при IBD е предимно желязодефицитна и се характеризира с ниски нива на хепсидин, докато високите концентрации на хепсидин са резултат на стимулиран чернодробен синтез от възпалителни цитокини. До подобни изводи са стигнали и други изследователски групи [7]. Според Di Sabatino и съавтори, серумна хепсидинова концентрация под 2.0 pM добре диференцира 85% от пациентите с желязодефицитна анемия (със или без възпаление) от пациентите само с анемия при възпаление. Пациентите с възпаление и серумни феритинови концентрации 100-200 ng/mL имат ниски хепсидинови нива. Това означава, че наличието на железен дефицит на фона на хронично възпаление може да се асоциира със серумни феритинови концентрации до 200 ng/mL [7].

Оценката на серумните нива на хепсидин при пациенти с IBD може да се превърне в ключов елемент в диагностицирането и лечението на анемията в близко бъдеще. Изследването на хепсидина има потенциално полезно значение в диагностичните алгоритми за разграничаването на желязодефицитна анемия (ЖДА) от анемия при хронични заболявания (АХЗ) и от комбинираното състояние

ЖДА/АХЗ. Доскоро молекулярните механизми и патогенезата в нарушеното разпределение на желязо при АХЗ бяха неизвестни. Вече е ясно, че възпалителните цитокини, които се освобождават по време на остра инфекция или хронично заболяване, могат да променят системния метаболизъм на желязото, като стимулират синтеза на хепсидин, желязо-регулаторния хормон [8]. Пациенти с АХЗ имат ниска серумна концентрация на желязо, нисък или нормален тотален желязо-свързващ капацитет и ниска сатурация на трансферин, както и нисък брой на ретикулоцити [9]. Изследвания през последните 10 години показват, че функционален дефицит на желязо при АХЗ може да се дължи на повишени нива на регулаторния хормон хепсидин.

Оценката на тежестта на възпаление на чревната лигавица включва определяне на активността на някои биомаркери (С-реактивен протеин, миелопероксидаза, пируват-киназа и др.), възпалителни цитокини (IL-6, TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$ ) и хематологични параметри (Hb, левкоцитен и тромбоцитен брой, MPV, RDW, CUE).

С-реактивен протеин (CRP) е един от най-често изследваните в практиката острофазови маркери за оценка на степента на възпаление. Установено е, че серумните му нива са различни при улцерозен колит (УК) и CD. При около 80% от пациентите с CD се регистрират силно повишени стойности на CRP, докато такава зависимост при УК не е намерена [10]. Тези разлики все още нямат категорично обяснение, още повече, че и при двете форми на IBD са повишени нивата на възпалителните цитокини IL-6, TNF- $\alpha$  и IL-1 $\beta$  [11, 12]. Ролята на CRP при IBD е свързана предимно с проследяване на хода на заболяването и промяната на възпалителния статус от неактивно възпаление (ремисия) в активно (рецидив) [13].

Миелопероксидазата (МРО) е ключов компонент на кислород-зависима микробна активност на фагоцитите, но също така е свързана с увреждане на тъканите при остро или хронично възпаление. Освен ролята му в окислителните реакции, МРО участва в различни процеси, свързани с клетъчната сигнализация, междуклетъчното взаимодействие, и в модуляцията на възпалителните реакции. МРО е ензим, локализиран в цитоплазмата на неутрофилите и в много по-ниска концентрация – в моноцити и макрофаги. По този начин МРО активност може да служи като маркер за броя на неутрофилите във възпалените тъкани [14]. Според някои проучвания, активността на серумната МРО пряко корелира с активността на възпаление в чревната лигавица при болестта на Crohn, докато при улцерозния колит корелационната зависимост е по-слабо изразена [15]. Hoskin доказва силна по-

ложителна корелация между МРО и активността на възпалението и при двете заболявания, както и че МРО може успешно да разграничи неактивните форми от тежко протичащите [16]. Това предполага, че МРО може да бъде полезна в диагностиката и проследяването на пациенти с IBD.

Пируват-киназата е важен ензим, който участва в метаболизма на глюкозата. Негови изоензими има във всяка тъкан, като в здравите тъкани той е изграден от четири субединици. Във всички тумори, изследвани досега, включително и гастроинтестиналните, е откриван единствено тип М2 и пируват-киназата е главно в димерна форма. Затова димерната форма на М2-ПК се нарича туморна М2-ПК. Туморната М2-ПК е увеличена в проби на пациенти с карцином на колона, ректума, стомаха, хранопровода и панкреаса, както и при незлокачествени заболявания на червата. Няколко изследвания ясно показват, че М2-ПК е увеличена при IBD, като високите нива корелират с тежестта на възпалителния процес и недостатъчния отговор при кортикостероидна терапия [17, 18].

В проведени в последните години проучвания бе установена връзка на някои хематологични промени с активността на възпаление при IBD. MPV е значително намален при активно ВЗЧ, което е в обратна връзка с някои маркери на възпаление, като белите кръвни клетки (WBC), CRP и CUE [19]. Получените резултати обаче са противоречиви и е необходимо да се проведат по-мощни изследвания в тази насока.

Дълготрайно протичащите възпалителни заболявания на червата, по-специално улцерозният колит, се характеризират с повишен риск от развитие на колоректален карцином. Натрупването на желязо в колоноцитите може да доведе до развитието на туморен процес, което очертава проонкогенната роля на хепсидина в колоректалната канцерогенеза [20]. Натрупването на желязо в дебелото черво е най-вероятно в резултат на повишените серумни нива на хепсидин, в съчетание с повишена продукция на интерлевкин-6, STAT-3, TFR2, BMP4 [21]. Редица проучвания показват участието на хепсидина в канцерогенезата и метастатичните процеси. Той е директен проонкоген или участва индиректно чрез промяна на хомеостазата на желязото. Желязото води до образуване на реактивни свободни радикали с проинфламаторен ефект при канцерогенезата на ректума, тънките черва, черния дроб и простатата. Високите хепсидинови нива са причината за неадекватен терапевтичен отговор на еритропоетин-стимулиращи препарати при лечение на анемията при редица туморни заболявания. Повлияването на синтеза на хепсидин би могло да

бъде нов терапевтичен подход при пациенти с анемия и туморни заболявания.

**Благодарности:** Настоящият проект е осъществен с финансовата подкрепа на Медицински университет – София, „Грант 2016“, Договор № 22/2016 г.

#### БИБЛИОГРАФИЯ

- Frettlund DJ, Djuric SW, Gaginella TS. Eicosanoids and inflammatory bowel disease: regulation and prospects for therapy. *Prost Leukotr Ess Fatty Acids*. 1990; 41: 215-33.
- Kim JJ, Shajib MS, Manocha MM, Khan WI. Investigating intestinal inflammation in DSS-induced model of IBD. *Vis Exp*. 2012; (60).
- Semrin G, Fishman DS, Bousvaros A, et al. Impaired intestinal iron absorption in Crohn's disease correlates with disease activity and markers of inflammation. *Inflamm Bowel Dis*. 2006; 12:1101-1106.
- Arnold J, Sangwaiya A, Bhatkal B, et al. Hepcidin and inflammatory bowel disease: dual role in host defence and iron homeostasis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2009; 21:425-429.
- Bergamaschi G, Di Sabatino A, Albertini R, et al. Serum hepcidin in inflammatory bowel diseases: biological and clinical significance. *Inflamm Bowel Dis*. 2013; 19(10):2166-72.
- Mecklenburg I, Reznik D, Fasler-Kan E, et al. Serum hepcidin concentrations correlate with ferritin in patients with inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis*. 2014; 8(11):1392-7.
- Di Sabatino A, Bergamaschi G, Albertini R, et al. Serum hepcidin in inflammatory bowel diseases. 8th Congress of ECCO, Vienna, 2013, P032.
- Sun CC, Vaja V, Babbitt JL, Lin HY. Targeting the hepcidin-ferroportin axis to develop new treatment strategies for anemia of chronic disease and anemia of inflammation. *Am J Hematol*. 2012; 87(4):392-400.
- Stephens BJ, Mollard A, Meng L, et al. TP-0413 is a dual-specific inhibitor against Jak2 and Alk2 with therapeutic potential for treating anemia of chronic disease. *Cancer Res*. 2013; 73(8 Suppl. 1).
- Saverymattu SH, Hodgson HJ, Chadwick VS, et al. Differing acute phase responses in Crohn's disease and ulcerative colitis. *Gut*. 1986; 27:809-813.
- Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. Laboratory markers in IBD: useful, magic, or unnecessary toys? *Gut*. 2006; 55(3):426-431.
- Gross V, Andus T, Caesar I, et al. Evidence for continuous stimulation of interleukin-6 production in Crohn's disease. *Gastroenterology*. 1992; 102:514-519.
- Consigny Y, Modigliani R, Colombel JF, et al. Biological markers of short term relapse in Crohn's disease (CD). *Gastroenterology*, 2001; 20(suppl): A53.
- Gonzales R, Rodrigues S, Romay C, et al. Anti-inflammatory activity of phycocyanin extract in acetic acid-induced colitis in rats. *Pharmacol Res*. 1999; 39(1):55-60.
- Palyu E, Varga E, Janka E, et al. Serum myeloperoxidase level is a marker of disease activity in patients with inflammatory bowel disease. 6th Congress of ECCO, Dublin, 2011, P098.
- Hoskin, TS. Neutrophil Activation in Inflammatory Bowel Disease (Thesis, Bachelor of Biomedical Sciences with Honours). University of Otago. 2011. Retrieved from <http://hdl.handle.net/10523/2060>.
- Turner D, Leach S, Mack D, et al. Faecal calprotectin, lactoferrin, M2-pyruvate kinase and S100A12 in severe ulcerative colitis: a prospective multicentre comparison of predicting outcomes and monitoring response. *Gut*. 2010; 59:1207-1212.
- Annaházi A, Molnár T, Farkas K, et al. Fecal MMP-9: a new noninvasive differential diagnostic and activity marker in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2013; 19:316-320.
- Bergamaschi G, Di Sabatino A, Albertini R, et al. Prevalence and pathogenesis of anemia in inflammatory bowel disease. Influence of anti-tumor necrosis factor-alpha treatment. *Haematologica*. 2010; 95:199-205.
- Sasu BJ, Cooke KS, Arvedson TL, et al. Antihepcidin antibody treatment modulates iron metabolism and is effective in a mouse model of inflammation-induced anemia. *Blood*. 2010; 115:3616-3624.
- Wang L, Trebicka E, Fu Y, et al. The bone morphogenetic protein-hepcidin axis as a therapeutic target in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2012; 18: 112-119.