

THE ROLE OF HEPCIDIN IN IRON METABOLISM IN ATHLETES

PAPEL DE HEPCIDINA EN EL METABOLISMO DE HIERRO EN LOS DEPORTISTAS

Zorislava Bajić, Nenad Ponorac, Amela Matavulj

Faculty of Medicine, University of Banja Luka, Bosnia and Herzegovina

ABSTRACT

Hepcidin is a peptide that was discovered in 2000, it is synthesized in the liver and it goes into circulation. There are three forms of hepcidin, hepcidin-25, hepcidin-22 and hepcidin-20. The first form is the most studied and its role is the most significant. Hepcidin-25 is considered to be a major regulator of the absorption of dietary iron as well as its release from cells. It achieves its regulatory function by preventing the function of ferroportin, the major cellular iron exporter. Ferroportin is a protein whose function is to release iron from the cells on which it is located (macrophages, hepatocytes and enterocytes). Hepcidin-25 induces degradation of ferroportin, resulting in an increase in intracellular iron stores. It also reduces the absorption of iron from food and thus reduces the concentration of circulating iron. During physical activity, the concentration of hepcidin increases at an intensity of 65% VO_2 max, and maximum values are reached at 90-95% VO_2 max. Not only intensity, but also the volume of physical activity influence its concentration. Studies showed that hepcidin expression during physical activity is influenced by inflammation, iron status, erythropoiesis and hypoxia. It is considered one of the causes of anemia in athletes. There are potential methods for neutralizing hepcidin (monoclonal antibodies and antagonists) and reducing its expression (erythropoietin doping, which is forbidden in sport, anti-IL-6 antibodies, STAT and BMP modulators). Given its important role in iron metabolism, which is essential for the transport of oxygen in the body, it can affect sports performance. It is still the subject of many research.

Keywords: PHYSICAL ACTIVITY / HEPCIDIN/FEROPORTIN/
IRON

EXTRACTO

Hepcidina es un péptido descubierto el año 2000, se sintetiza en el hígado y se va a la circulación. Existen tres formas de hepcidina: hepcidina-25, hepcidina-22 y hepcidina-20. La primera forma es la más estudiada y su papel es el más importante. La hepcidina-25 se considera el principal regulador de la absorción de hierro introducido por la alimentación, como también de su liberación de las células. Su función reguladora se realiza por impedir la función de ferroportina, el principal exportador celular de hierro. Es una proteína cuya función se refleja en la liberación de hierro de las células en cuya superficie está (macrófago, hepatocito y enterocito). Hepcidina-25 induce la degradación de ferroportina, lo que como consecuencia tiene el aumento de los almacenes intercelulares de hierro. Ella también disminuye la absorción de hierro de los alimentos y de tal manera disminuye la concentración de hierro circulante. Durante la actividad física su concentración empieza a crecer a la intensidad de 65% VO_2 max, y su valor máximo alcanza a la intensidad de 90-95% VO_2 max. Además de la intensidad, en la concentración de hepcidina influye también el volumen de la actividad física. Las investigaciones demostraron que en la expresión de hepcidina durante la actividad física influyen la inflamación, el estatus de hierro, la eritropoyesis y la hipoxia. Ella se considera una de las causas de anemia en los deportistas. Existen métodos potenciales para la neutralización de hepcidina (anticuerpos monoclonales y antagonistas), así como también para la disminución de su expresión (dopado con eritropoyetina prohibido en el deporte, anticuerpos anti-IL-6 y moduladores de vías de señalización, moduladores STAT y BMP). Por su papel importante en el metabolismo de hierro, como es necesaria para el transporte de oxígeno en el organismo, puede influir en los resultados deportivos. Esa es la razón por la cual hepcidina es todavía el objeto de muchas investigaciones.

Palabras claves: ACTIVIDAD FISICA / HEPCIDINA /
FERROPORTINA / HIERRO

INTRODUCTION

Hepcidin is a peptide that was first isolated from urine sample in year 2000 while studying the antimicrobial properties of body fluids. It was named after the site of synthesis (liver, hepar, hep-) and its antimicrobial characteristics in vitro (-cidin) (Park, Valore, Waring, & Ganz, 2001). That same year, independently of the mentioned research, the same peptide was isolated from plasma ultrafiltrate, and was named LEAP-1 (liver-expressed antimicrobial peptide) (Krause et al., 2000).

The liver synthesizes hepcidin in the form of a peptide consisting of 25 amino acids (hepcidin-25), which goes into circulation (Krause et al., 2000; Pigeon et al., 2001). Hepcidin-25 is formed from pre-hepcidin, which forms prohepcidin containing 64 amino acid residues. After separation of 39 amino acid residues at the N-terminal end, the active form of this hormone, hepcidin-25, is produced (Kwapisz, Slomka, & Zekanowska, 2009). There are also two smaller forms of hepcidin, one consisting of 22 and the other of 20 amino acids. Structural analysis of hepcidin by NMR spectroscopy showed that this cysteine-rich peptide forms a hairpin molecule with a curved β -plate stabilized by four disulfide bridges between two anti-parallel chains. One of the bridges is located near the loop of the hairpin, suggesting that this region may be crucial for the activity of this molecule (Hunter, Bruce Fulton, Ganz, & Vogel, 2002; Jordan et al., 2009). Some studies have shown that hepcidin binds divalent metals, such as Cu^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , but the results of these studies are inconsistent (Farnaud, Patel, & Evans, 2006; Farnaud et al., 2008; Melino, Garlando, Patamia, Paci, & Petruzzelli, 2005; Tselepis et al., 2010). The ability of hepcidin to bind iron and other divalent metals suggests that hepcidin may have a non-hormonal role in iron metabolism or a hormonal role in the conformational mechanism for uptake of divalent metals and regulation of ferroportin degradation (Farnaud et al., 2006; Farnaud et al., 2008; Kroot, Tjalsma, Fleming, & Swinkels, 2011; Melino et al., 2005; Tselepis et al., 2010). There are still many dilemmas about the origin of the smaller forms of hepcidin. Studies on calcium-independent tissue activity in pancreatic extract indicates the possibility of N-terminal reduction of hepcidin-25 in hepcidin-22, and the possible role

of dipeptidylpeptidase-4 in the conversion of hepcidin-22 to hepcidin-20 (Schranz et al., 2009; Valore & Ganz, 2008). These two smaller forms of hepcidin can be found in urine, and in small amount, in serum (Kemna, Tjalsma, Podust, & Swinkels, 2007; Kroot et al., 2010; Park et al., 2001). In vivo studies in mice show that hepcidin-25 alone plays a significant role in iron metabolism because only this form of hepcidin after intraperitoneal injection causes significant hypoferrremia (Rivera et al., 2005). Such findings are supported by in vitro studies in which hepcidin-20 and hepcidin-22 have been shown to be almost completely independent of ferroportin regulatory mechanism, unlike hepcidin-25 (Nemeth et al., 2006). More recent studies show that hepcidin is not only produced in hepatocytes, but in other cells as well. It is produced by cells of the renal tubules, heart, retina, monocytes, neutrophils, fat cells, alveolar cells, and pancreatic β -cells. The amount of hepcidin produced in these cells has a more local effect on the surrounding tissues, and does not significantly affect its concentration in the systemic circulation (Kroot et al., 2011).

KINETICS OF HEPCIDIN

Recent studies showed that circulating hepcidin binds α 2-macroglobulin with relatively high affinity, and it binds albumin with relatively low affinity. Approximately 11% of plasma hepcidin circulate free (Peslova et al., 2009). The clearance of hepcidin happens via cellular codegradation with ferroportin, and its excretion is done by the kidneys. Due to its low molecular weight and small diameter, free hepcidin can pass through the glomerular membrane and be found in the glomerular filtrate. In smaller studies in humans, the fractional excretion of hepcidin has been shown to be very small, only 0-5% (Ganz, Olbina, Girelli, Nemeth, & Westerman, 2008; Swinkels et al., 2008). The cause of such small excretion is its tubular reabsorption or incomplete filtration. Evidence of incomplete filtration is presented in the studies with patients with glomerular dysfunction. In these studies serum hepcidin concentrations were only 1-6-fold higher (Ashby et al., 2009; Ganz et al., 2008; Peters, Laarakkers, Swinkels, & Wetzels, 2010; Tomosugi et al., 2006) compare to the concentration of β 2-microglobulin, which was increased 20-30 times. β 2-microglobulin, due to its small molecular weight,

is almost always completely filtered by glomerular filtration. There is a possibility that binding hepcidin to α 2-macroglobulin or some other transport protein prevents complete filtration of circulating hepcidin. On the other hand, it is possible that the expected elevated concentration of circulating hepcidin in patients with impaired renal filtration causes activation of compensatory feedback, leading to reduced hepcidin production in the liver. There are speculations that under certain conditions hepcidin may avoid renal reabsorption. Reduced absorption may be significant in some disorders of iron metabolism that are associated with tubular dysfunction and elevated urinary hepcidin (inflammation, hemochromatosis, and malaria) (Sumboonnanonda et al., 1998; Wan, Bellomo, Giantomasso, & Ronco, 2003). In interpreting the results of these studies, both, the possible tubular production of hepcidin and the possible impaired tubular reabsorption of hepcidin, should be considered (Kulaksiz et al., 2005).

HEPCIDIN FUNCTION

Hepcidin plays a significant role in iron metabolism. Iron in food is most commonly found in the form of Fe^{3+} or in the form of heme. The absorption of Fe^{3+} goes through two phases. First, Fe^{3+} is reduced by iron-reductase (duodenal cytochrome, Cyt b) to Fe^{2+} , and Fe^{2+} is transported through the cell membrane by a transport protein. This transport protein is called a divalent metal transporter-1 (divalent metal transporter 1 - DMT1 or DCT1). In cells, Fe^{2+} ions are stored in a form of ferritin. If there is a need to use stored iron, before being released into the blood plasma with ferroportin, Fe^{2+} is oxidized to Fe^{3+} by endoxidases (ceruloplasmin in macrophages, hephaestin in enterocytes). In plasma, Fe^{3+} binds transport protein called transferrin (Ashrafiyan, 2003). The transport protein for iron DMT1, is mainly found on the membrane of enterocytes in the duodenum, and its concentration increases during reduced iron intake. DMT1 is also found in the kidneys, liver, brain and heart (Gunshin et al., 1997). Hepcidin-25 is considered to be a major regulator of the absorption of dietary iron as well as regulation of its release from cells. It achieves its regulatory function by preventing the function of ferroportin, the major cellular iron exporter. Ferroportin function is to release iron from the cells on which it is located (macrophages, hepa-

toocytes and enterocytes). Hepcidin-25 induces ferroportin degradation, resulting in an increase intracellular iron stores. It also reduces the absorption of iron from food and in this way, reduces the concentration of circulating iron (Kroot et al., 2011). In addition to its regulatory role, hepcidin also plays a role in the defense of the body. Hepcidin was first identified as an antimicrobial peptide (Krause et al., 2000; Park et al., 2001). Some studies suggest bactericidal effects of hepcidin, but to achieve such effects, much higher concentrations than those normally found in the circulation are required. These concentrations can be achieved mostly locally, e.g. in phagosomes of infected macrophages (Sow et al., 2007). Hepcidin can contribute to the defense of the body indirectly, by reducing plasma iron concentration. Iron is essential for the growth of microorganisms, and its deficiency impedes the growth of microorganisms and in this way acts bacteriostatically. In addition, hepcidin modulates lipopolysaccharide-induced transcription in macrophage cultures and in vivo mouse models. This indicates a significant role of hepcidin in modulating the acute inflammatory response to bacterial infection (Kroot et al., 2011). Local effects of hepcidin occur in the tissues of the cells that produce it. The local effects of hepcidin are: the autocrine interaction with ferroportin, thereby protection surrounding cells from iron deficiency, prevention extracellular oxidative stress, and participation in an inflammatory response and/or reduction of extracellular iron stores accessible to extracellular pathogens (Kroot et al., 2011). Small forms of hepcidin do not participate in hypoferremic response, but it is still unknown whether they retain other identified biological functions of hepcidin-25 (eg. body defense or metal binding) (Kroot et al., 2011).

Daily variations of serum hepcidin

In healthy subjects, hepcidin shows daily variations with the lowest values in the early morning, a slight increase during the day and a decrease during the evening. Such variations do not depend on food intake (Troutt et al., 2012).

Variations of serum hepcidin with age

The study which included 3000 people healthy subjects showed that the concentration of hepcidin in premenopausal women was lower than in older,

postmenopausal, women. The concentration of these hormones in men does not change significantly with age (Galesloot et al., 2011).

HEPCIDIN AS A POTENTIAL DIAGNOSTIC AND THERAPEUTIC AGENT

The discovery of hepcidin in 2000 (Krause et al., 2000; Park et al., 2001) not only opened the new research topic crucial for understanding iron metabolism but also helped to explain the underlying pathological mechanisms of many diseases. These studies have raised many questions and one of the most significant ones is the use of hepcidin as a diagnostic and therapeutic agent. The determination of hepcidin level can differentiate between different forms of anemia, such as anemia of chronic disease, and iron deficiency anemia. Inflammation is also known to increase hepcidin synthesis and iron deficiency to decreases hepcidin synthesis (Brugnara, 2008; Nemet, Rivera, et al., 2004). One of the most significant uses of hepcidin is in the diagnosis and monitoring of hemochromatosis. Hepcidin is still the focus of numerous researchers. Therapeutic use of synthetic hepcidin would be significant in the treatment of hemochromatosis and other conditions characterized by the accumulation of iron in the body (Laftah et al., 2004). In 2008, a method for determining the value of human hepcidin was developed, it was called enzyme-linked competitive immunoassay (C-ELISA). It is used to detect physiological and pathological changes in serum and urine hepcidin concentrations (Ganz et al., 2008).

HEPCIDIN AND PHYSICAL ACTIVITY

Although physical activity has been proved to increase bone marrow erythropoietic activity (Qian, Xiao, Tang, Yao, & Liao, 1999), studies have shown that after intense physical activity, erythrocyte count, hemoglobin content, and hematocrit value significantly decrease (Liu, Chang, Zhao, Wang, & Duan, 2011; Tian et al., 2012). Such changes may be the result of decreased absorption of iron from the small intestine, and reduced release of iron from the parenchymal cells and macrophages into the circulation. Many studies in humans and animal models have

shown that after intense exercise, indicators of iron status, such as serum iron, transferrin saturation, serum ferritin, decrease (Liu et al., 2011; Magazanik et al., 1988; Merkel et al., 2009; Reinke et al., 2012). This indicates that the amount of iron that reaches the bone marrow after intense exercise is insufficient to meet the requirements of increased erythropoiesis. As a consequence, erythrocyte loss and insufficient production of new erythrocytes, together lead to anemia. The regulatory mechanism of iron metabolism leading to decreased intestinal absorption of iron and capture of iron in the liver, is still subject of many studies. Hepcidin, the major regulatory hormone of iron metabolism, responsible for maintaining iron homeostasis, controls the absorption of iron from food and the distribution of iron into tissues and organs of the body (Ganz, 2011). The decreased iron absorption and increased hepatic iron stores, observed in exercising rats, are directly related to hepatic hepcidin expression (Kong, Gao, & Chang, 2014).

Recent studies suggest that, in addition to possible hemolysis, hematuria, sweating and gastrointestinal bleeding, low iron concentrations in athletes may also be caused by elevated hepcidin level. After physical activity concentration of urinary hepcidin is high. There are two possible mechanisms by which physical activity influences hepcidin expression. The first is that after physical activity, free iron is trapped in the collecting cells of the reticuloendothelial system. This stimulates the function of hepcidin, whereby it exerts its effect on ferroportin, and returns iron to circulation. The second is that increased concentration of hepcidin after physical activity causes decreased absorption of iron from food. This way hepcidin may be a mediator of the high incidence of iron deficiency among athletes (Kroot et al., 2011; Peeling, 2010).

INFLUENCE OF INTENSITY, VOLUME AND MODALITY OF PHYSICAL ACTIVITY ON HEPCIDIN LEVEL

It is known that hepcidin rises in response to physical activity. In what extent intensity, volume and modality of physical activity influence hepcidin response has been the subject of several studies (Domínguez, Vicente-Campos, Vicente-Campos, & Chicharro, 2014).

Intensity of physical activity

There have been many studies about the role of hepcidin in sports anemia. The increase of hepcidin after physical activity has been subject in many of them. It was found that hepcidin level increase three, six and 24 hours after exercise and then decrease to a basal value 72 hours after the end of physical activity (Peeling et al., 2009b; Roecker, Meier-Buttermilch, Brechtel, Nemeth, & Ganz, 2005). Results of the study in which rats were subjected to intense physical activity on the tread mill for several weeks, showed that hepcidin mRNA expression in the liver was significantly increased. These rats were diagnosed with sports anemia after five weeks of intense exercise (Liu et al., 2011). These results were consistent with the results of studies in humans (Auersperger et al., 2012).

It is well known that highly intensive physical activity can lead to the sports anemia. In contrast, moderate-intensity training can be a promising, safe and cost-effective way to improve iron status. Studies have shown that serum iron concentration and transferrin saturation in moderately exercised rats were significantly higher than controls. This changes in blood increase the transport of iron by blood to the bone marrow to synthesize hemoglobin and erythrocytes. This contributes to increasing the capacity to oxygen transport to all parts of the body, particularly significant in sports, to the muscles (Liu, Duan, Chang, Wang, & Qian, 2006). Researchers that have studied changes in hepcidin levels during moderate exercise have shown that moderate exercise decrease hepcidin expression (Liu et al., 2006; Troadec et al., 2009). These studies showed that the expression of DMT1 and FPN1 in the duodenum was higher in rats undergoing moderate physical activity compared to the control group, suggesting that moderate exercise may increase duodenal iron absorption (Liu et al., 2006).

Studies have shown that an increase in heart rate of 60% or less does not lead to a significant increase in serum hepcidin levels after physical activity (Troadec et al., 2009). Physical activity corresponding to 65% VO_{2max} leads to increased serum hepcidin concentration (Newlin et al., 2013; Sim et al., 2013). Interval physical activity at 85% VO_{2max} does not lead to a significant increase in serum hepcidin compared to a program of continuous physical

activity at 65% VO_{2max} (Newlin et al., 2013). Physical activity at a relative intensity of 70% VO_{2max} reduces the hepcidin response compared to the same volume of interval physical activity performed at 90-95% VO_{2max} (Peeling et al., 2009a). This study also showed that at lower intensities of physical activity (70% VO_{2max}) the concentration of hepcidin returns to normal within 12 hours after activity, while at higher intensities (90-95% VO_{2max}) the level of hepcidin remains high for the next 24 hours. It can be concluded that exercise at an intensity of about 65% VO_{2max} leads to an increase in serum hepcidin concentration (Newlin et al., 2013), and maximum values are reached at an intensity of 90-95% of VO_{2max} (Peeling et al., 2009a).

Volume of physical activity

Researchers studied hepcidin response to the volume of physical activity. The results of that study showed that 120 minutes of treadmill at 65% VO_{2max} in physically active women resulted in a significantly higher hepcidin response than 60 minutes at 65% VO_{2max} in the same woman (Newlin et al., 2013). This suggests that the volume of physical activity has a significant effect on the exercise-induced hepcidin response (Domínguez et al., 2014).

Modality of physical activity

One study compared the modalities of aerobic resistance physical activity and their effects on hepcidin response. Hepcidin responses were compared in groups of triathletes who were cycling and running at two different intensities, 65% VO_{2max} versus 85% VO_{2max} . The results showed no significant differences in modality and intensity of physical activity, although there were differences in serum iron and IL-6 concentrations (Sim et al., 2013). In another study hepcidin responses was compared in athletes running on different ground, grass and asphalt. There were no significant differences in hepcidin concentrations at fixed intensity of 70% VO_{2max} (Peeling et al., 2009c). To conclude, recent studies showed that the modality of physical activity (cycling versus running) as well as the type of the ground (grass versus asphalt) do not significantly influence the exercise-induced hepcidin response (Domínguez et al., 2014).

THE ROLE OF HEPCIDIN IN IRON METABOLISM IN PHYSICAL ACTIVITY

Hepcidin can reduce the functional activity of ferroportin-1 (FPN1) by binding directly to it, leading to its degradation (Nemeth, Tuttle, et al., 2004). Degradation of ferroportin results in blocking the leakage of iron from cells. In this way, iron output is reduced and the amount of iron in the cells is increased (Ramey et al., 2010). When applied on macrophage hepcidin significantly lowers FPN1 levels and decreases iron leakage after erythrophagocytosis (Delaby, Pilard, Gonçalves, Beaumont, & Canonne-Hergaux, 2005; Knutson, Oukka, Koss, Aydemir, & Wessling-Resnick, 2005). It can be concluded that hepcidin limits the release of iron from hepatocytes, macrophages and enterocytes by decreasing FPN1 expression and increasing its degradation. In vitro and in vivo studies have shown that level of duodenal DMT1 decrease after hepcidin treatment (Chung, Chaston, Marks, Srai, & Sharp, 2009; Mena, Esparza, Tapia, Valdés, & Núñez, 2007). This indicates a significant role of hepcidin in regulating intestinal iron absorption (Kong et al., 2014). When all these facts are taken into account, it can be concluded that increased expression of hepcidin after physical activity leads to degradation of iron carriers such as DMT1 and FPN1, causing decreased absorption of iron in the small intestine and retention of iron in hepatocytes and macrophages. Iron deficiency in athletes is thought to be at least partly caused by elevated levels of hepcidin (Kong et al., 2014).

REGULATION OF HEPCIDIN CONCENTRATION BY PHYSICAL ACTIVITY

There are several physiological and pathophysiological processes that regulate hepcidin synthesis (Hentze, Muckenthaler, Galy, & Camaschella, 2010). Conditions in which need for iron is an increased (especially erythropoietic activity) lead to decreased hepatocellular hepcidin synthesis. Such conditions are iron deficiency, hypoxia, anemia and other conditions characterized by increased erythropoietic activity. The reduced level of hepcidin leads to the release of stored iron and increased iron intestinal absorption. On the other hand, infection or inflammation causes increased synthesis of hepcidin. Increased synthesis

of hepcidin leads to a reduction of iron available for erythropoiesis. This is considered to be the mechanism underlying the sequestration of reticuloendothelial iron, impaired intestinal iron absorption, and low serum iron concentrations that are characteristic of anemia of chronic disease (Kroot et al., 2011). The pathways by which iron status, erythropoietic activity, hypoxia, and inflammation affect hepcidin expression are still being investigated. Hepcidin expression is influenced by inflammation, iron status, erythropoiesis, and hypoxia (Kroot et al., 2011).

Regulation of hepcidin concentration by inflammation during physical activity

Physical activity causes significant changes in the immune system (Pedersen & Hoffman-Goetz, 2000). High intensity physical activity can induce a significant increase in pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines (Ostrowski, Rohde, Asp, Schjerling, & Pedersen, 1999). Interleukin-6 (IL-6) is cytokine produced at a significantly higher amount in response to physical activity compare to other cytokines (Margeli et al., 2005; Pedersen & Febbraio, 2012), and the contracting muscle contributes the most to production of IL-6 during exercise (Pedersen, Steensberg, & Schjerling, 2001). Hepcidin synthesis is induced by infection or inflammation (Nemeth et al., 2003; Nicolas, Chauvet, et al., 2002) and IL-6 is enough stimuli for hepcidin expression during inflammation (Nemeth, Rivera, et al., 2004). Significantly higher amount of hepcidin mRNA in the liver was detected three to six hours after IL-6 stimulation. This indicates that IL-6 production in the contracting skeletal muscle leads to exercise-induced increases in hepcidin. Hepcidin level increases three hours after peak exercise-induced IL-6 production (Peeling et al., 2009b). Animals treated with ciclosporin A, a plasma-IL-6-reducing calcineurin inhibitor, had lower levels of hepcidin during exercise than those who exercised but did not receive cyclosporin A (Banzet et al., 2012). These results suggest that IL-6 is involved in exercise-induced increase in hepcidin expression. During inflammatory stimulation, IL-6-induced hepcidin expression occurs via activation of the janus kinase/transducer signal and the transcriptional activator-3 (JAK / STAT3) signaling pathway (Vittoria et al., 2015; Wrighting & Andrews, 2006).

Regulation of hepcidin concentration by iron status during physical activity

Studies in humans and animal models have shown that there are molecules that are crucial for the regulation of hepcidin expression by circulating iron and iron stored by the liver. These molecules are HFE (hemochromatosis iron protein) (Corradini et al., 2009; Papanikolaou et al., 2004), transferrin receptor-2 (TfR2) (Kawabata et al., 2005; Nemeth, Roetto, Garozzo, Ganz, & Camaschella, 2005; Wallace et al., 2009) and bone morphogenetic protein (BMP) (Babitt et al., 2006). Hepcidin expression is regulated by cellular stores in the liver via bone morphogenetic protein 6 (BMP6). BMP6 is an activating ligand for the BMP receptor (BMPR) and its level reflects the level of iron uptake of the liver. When the concentration of iron in the liver is high, BMP6 production in the liver increases. Then released BMP6 from the liver creates a complex of BMPR and hemojuvenil (HJV). BMP6 binded to BMPR controls the transcription of hepcidin by activation of the SMAD pathway. The transferrin saturation is used by the liver as an extracellular sensor for iron. When transferrin saturation is increased, HFE is displaced from its binding site with TfR1 and reacts with TfR2 to form the HFE/TfR2 complex. This complex participates in the regulation of hepcidin via activation of ERK/MAPK (extracellular signal regulated kinase/mitogen activated protein kinase) and/or HJV/BMP/SMAD pathways (Corradini et al., 2011; Ganz, 2011; Hentze et al., 2010; Meynard et al., 2009; Ramos et al., 2011; Zhang, 2010).

HJV plays a central role in the regulation of hepcidin expression. It acts as a coreceptor for BMP, thereby it increases the sensitivity of BMPR to BMP, and it is thought that different pathways of regulation of hepcidin converge to this protein. More recent evidence shows that HJV is not only highly expressed in the liver but also in skeletal muscle. Studies in rats have shown that HJV mRNA levels in liver and skeletal muscle are significantly higher in exercising rats compared to controls (Liu et al., 2011). Therefore, hepcidin expression may be induced by an elevated HJV during physical activity. Nevertheless, the mechanism of hepcidin regulation through HJV in response to physical activities has yet to be thoroughly investigated (Kong et al., 2014).

Regulation of hepcidin concentration by erythropoiesis during physical activity

Previous studies have shown that intense physical activity can lead to increased erythropoietic bone marrow activity (Qian et al., 1999; Tian et al., 2012). Increased erythropoiesis has also been shown to significantly suppresses hepcidin expression (Nicolas, Chauvet, et al., 2002). The relationship between increased erythropoiesis and decreased hepcidin expression, and what kind of the molecules are involved, is not yet sufficiently known. Erythropoietin (EPO), an endogenous hormone primarily produced by the kidneys, is a major regulator of erythropoiesis. EPO promotes the proliferation and differentiation of erythroid progenitor cells (Krantz, 1991). Serum EPO concentrations are increased in athletes, and many studies have confirmed that hepatic hepcidin expression is decreased after treatment with EPO (Ashby et al., 2010; Nicolas, Viatte, et al., 2002; Roecker et al., 2006). EPO is therefore considered to be a potential mediator in the regulation of hepcidin. In vitro studies indicate that suppression of hepcidin with EPO is achieved by modulating C/EBP α mRNA, with change in hepcidin mRNA (Pinto et al., 2008). This hypothesis has not yet been confirmed by *in vivo* studies. Experiments in animal models have shown that suppression of hepcidin with EPO can be recovered by inhibitors of erythropoiesis (irradiation and post-transfusion polycythemia) (Pak, Lopez, Gabayan, Ganz, & Rivera, 2006; Vokurka, Krijt, Šulc, & Nečas, 2006). This means that EPO decreases the transcription of hepcidin only when erythropoiesis is active. Hepcidin suppression is not directly mediated by EPO, it may include other erythropoietic factors. Growth differentiation factor 15 (GDF15), a member of the superfamily of transformation-beta factor, is produced in erythroid cells during erythroblast maturation to promote erythroid differentiation (Ramirez et al., 2009). GDF15 increases immediately after intense physical activity, declines after 48 hours, but remains above basal value. The production of GDF15 depends entirely on the stimulation by EPO (Forejtniková et al., 2010). GDF15 may be a link between erythropoiesis and hepcidin regulation. GDF15 is a hepcidin suppression factor whose amount is increased in severe forms of thalassemia with ineffective erythropoiesis. In hepatocyte culture, a large amount of GDF15 suppresses hepcidin expression (Tanno et al., 2007). The twisted gastrulation-1 protein homologue (TWSG1),

an erythroid molecule that acts in the early stages of erythropoiesis, works together with GDF15 to inhibit hepatic hepcidin expression via inhibiting the BMP-dependent activation of the SMAD pathway (Tanno et al., 2009).

Regulation of hepcidin concentration by hypoxia during physical activity

Many studies have shown that high altitude training can significantly increase VO_2 max in athletes and erythrocyte mass, and thus improve athlete endurance (Christoulas, Karamouzis, & Mandroukas, 2011; Son, Kim, Kim, Ohno, & Kim, 2012). Studies have shown that mountaineers adapt their iron metabolism to high-altitude and hypoxia. In hypoxia mRNA of duodenal DMT1 and FPN1 increases and hepcidin level decreases. Such changes will lead to increased intestinal iron absorption and release iron from its storage to provide sufficient amount of iron for hypoxia-induced erythropoiesis (Goetze et al., 2013). The mechanism of hepcidin suppression by hypoxia at high altitudes is still unknown. Hypoxia-inducible transcription factor (HIF), a major regulator of systemic and cellular adaptation to hypoxia, is thought to play a significant role in the regulation of hepcidin. HIF can regulate renal and hepatic EPO synthesis directly under the influence of hypoxia. HIF-associated hepcidin suppression can occur indirectly via EPO-induced erythropoiesis and activation of the signaling pathway via GDF15 (Liu, Davidoff, Niss, & Haase, 2012). HIF induces the production of furin and transmembrane serine proteinase TMPRSS6 (known as matriptase-2), two proteases that participate in the release of soluble HJV (s-HJV) by separating HJV from the cell membrane. S-HJV competitively inhibits BMP-induced hepcidin expression (Babitt et al., 2007; Lin, Goldberg, & Ganz, 2005). Thus, HIF can suppress hepcidin expression by increased HJV degradation and inhibition of BMP-induced hepcidin expression (Kong et al., 2014).

HEPCIDIN IN FEMALE ATHLETES

Female athletes are believed to be at greater risk of developing anemia (compare to male athletes) due to iron loss in physiological processes, such as menstruation (McClung, 2012). It has been shown that erythropoiesis caused by bleeding can lead to a decrease in hepcidin expression, leading to an increase

in the iron level in the body. Using serum enzyme-linked immunosorbent assay, healthy women showed to have lower serum hepcidin levels compared to healthy men (Ganz et al., 2008). Animal experiments have also shown that bleeding caused by repeated phlebotomy is associated with a significant decrease in hepatic hepcidin (Nicolas, Chauvet, et al., 2002). However, the mechanism of regulation of hepcidin that causes differences in the amount of hepcidin in men and women is still unknown. Female sex hormone estrogen can stimulate hepcidin expression via the GPR30-BMP6 pathway (Ikeda et al., 2012). In contrast, testosterone may suppress hepcidin expression via the testosterone/AR/SMAD or testosterone/EGF/EGFR signaling pathway (Guo et al., 2013; Lattour et al., 2014). These results are confusing because women have lower concentrations of hepcidin than men. It is possible that physiological blood loss in premenopausal women has a suppressive effect on hepcidin transcription, which may, to some extent, neutralize the stimulating effect of estrogen on hepcidin expression. If female athletes do not have menstrual bleeding, they may still develop anemia due to iron deficiency faster than male athletes due to the large amount of estrogen-induced hepcidin (Kong et al., 2014).

METHODS FOR NEUTRALIZING HEPCIDIN ACTIVITY

Monoclonal antibodies for hepcidin

Anti-hepcidin human antibodies could be used as a potential therapeutic agent for the treatment of anemia of inflammation (AI), which basically has the same changes of blood parameters as sports anemia (Cooke et al., 2013). These antibodies could increase serum iron availability and promote erythrocyte hemoglobinization in AI mice and cynomolgus monkeys. Hepcidin antibodies can reduce the natural clearance of hepcidin and lead to the accumulation of hepcidin in the body (Cooke et al., 2013).

Hepcidin antagonist

Small molecules which are involved in hepcidin function have been identified, one of them is called fursultiamine. It inhibits the interaction of hepcidin-FPN1. Fursultiamine directly interferes hepcidin-FPN1 bond, thus preventing hepcidin-induced

FPN1 ubiquitination, endocytosis, and degradation. This causes a continuous leakage of iron from the cell regardless of the presence of hepcidin (Fung et al., 2013). Another antihepcidin molecule, which can protect FPN1 from hepcidin-induced degradation is NOX-H94 (Schwoebel et al., 2013).

METHODS FOR REDUCING HEPCIDINE EXPRESSION

Potential therapeutic methods to reduce hepcidin production could target the erythropoiesis, inflammatory pathway, or HJV/BMP/SMAD signaling pathway (Kong et al., 2014).

Doping with erythropoietin

EPO is the primary signal that initiates erythropoiesis in anemia and state of hypoxia. Therefore, EPO is being explored as a doping method that increases oxygen transport and endurance sports capacity. It is used to increase sports performance (Gaudard, Varlet-Marie, Bressolle, & Audran, 2003). In 1990, the Olympic Committee banned the use of EPO in sports, because it significantly changes iron metabolism. Studies have shown that the use of recombinant human erythropoietin (rHuEPO) induces a significant decrease in hepcidin expression, which increases intestinal iron absorption and iron release from macrophages (Kong, Chang, et al., 2008; Kong, Zhao, et al., 2008). Athletes who use EPO to improve their performance are at high health risk because elevated hematocrit and dehydration during intense physical activity can increase blood viscosity, some major cardiovascular problems (hypertension, heart hypertrophy) and cerebral vascular congestion (Piloto et al., 2009).

Anti-IL6 antibodies and STAT modulators

Anticytokine therapeutics, such as anti-IL6 antibodies, can block hepcidin synthesis and prevent anemia (Nishimoto et al., 2019; Song et al., 2010). A small molecule that inhibits STAT3, marked as AG490, can

suppress hepcidin transcription and increase serum iron concentration in mice by inhibiting the JAK/STAT signaling pathway (Zhang, Wang, Wang, & Liu, 2011). This type of anticytokine therapy is not suitable for administration because it can impair immunity and create an increased risk of serious infectious diseases (Van De Vosse & Van Agtmael, 2007).

BMP modulators

It has already been mentioned that sHJV reduces hepcidin expression by competing with HJV and interfering with the BMP signaling pathway (Lin et al., 2005). Inhibition of hepcidin expression by soluble chemojuvelin-Fc (sHJV.Fc) in rats with AI leads to mobilization of iron storage, increase serum iron concentration, stimulation of erythropoiesis, and correction of anemia (Theurl et al., 2011). Inhibition of type I BMP receptors by small molecules such as dorsomorphine, may also alleviate iron deficiency anemia. Dorsomorphine can block BMP-mediated SMAD1/5/8 phosphorylation, reduce hepcidin expression, and increase serum iron (Yu et al., 2008). Heparin, as a potential inhibitor of hepcidin expression, can induce a significant decrease in hepcidin in animal models and in humans, thus leading to an increase serum iron. It acts on BMP6 and blocks the SMAD signaling pathway (Poli et al., 2011).

CONCLUSION

Hepcidin is a peptide whose role in the body has been the subject of much studies. In addition to its increase concentration during infection, it is known that it can be one of the main modulators of iron metabolism in physically active individuals. Many studies have shown that it can contribute to the sports anemia in a way that reduces the intestinal absorption of iron and blocks the release of iron from cells. Thus, its role in the iron metabolism in athletes becomes more important. The level of iron in the body influence the availability of oxygen to the muscles, and that is crucial for good sports performance.

REFERENCES

1. Ashby, D. R., Gale, D. P., Busbridge, M., Murphy, K. G., Duncan, N. D., Cairns, T. D., ... Choi, P. (2009). Plasma hepcidin levels are elevated but responsive to erythropoietin therapy in renal disease. *Kidney International*, 75(9), 976–981.
2. Ashby, D. R., Gale, D. P., Busbridge, M., Murphy, K. G., Duncan, N. D., Cairns, T. D., ... Choi, P. (2010). Erythropoietin administration in humans causes a marked and prolonged reduction in circulating hepcidin. *Haematologica*, 95(3), 505–508.
3. Ashrafiyan, H. (2003). Hepcidin: The Missing Link between Hemochromatosis and Infections. *Infection and Immunity*, 71(12), 6693–6700.
4. Auersperger, I., Knap, B., Jerin, A., Blagus, R., Lainscak, M., Skitek, M., & Skof, B. (2012). The Effects of 8 Weeks of Endurance Running on Hepcidin Concentrations, Inflammatory Parameters, and Iron Status in Female Runners. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 22, 55–63.
5. Babitt, J. L., Huang, F. W., Wrighting, D. M., Xia, Y., Sidis, Y., Samad, T. A., ... Lin, H. Y. (2006). Bone morphogenetic protein signaling by hepcidin regulates hepcidin expression. *Nature Genetics*, 38(5), 531–539.
6. Babitt, J. L., Huang, F. W., Xia, Y., Sidis, Y., Andrews, N. C., & Lin, H. Y. (2007). Modulation of bone morphogenetic protein signaling in vivo regulates systemic iron balance. *Journal of Clinical Investigation*, 117(7), 1933–1939.
7. Banzet, S., Sanchez, H., Chapot, R., Bigard, X., Vaulont, S., & Koulmann, N. (2012). Interleukin-6 contributes to hepcidin mRNA increase in response to exercise. *Cytokine*, 58(2), 158–161.
8. Brugnara, C. (2008). An immunoassay for human serum hepcidin at last: Ganz klar? *Blood*, 112(10), 3922–3923.
9. Christoulas, K., Karamouzis, M., & Mandroukas, K. (2011). “Living high - Training low” vs. “living high - training high”: Erythropoietic responses and performance of adolescent cross-country skiers. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 51(1), 74–81.
10. Chung, B., Chaston, T., Marks, J., Srail, S. K., & Sharp, P. A. (2009). Hepcidin Decreases Iron Transporter Expression in Vivo in Mouse Duodenum and Spleen and in Vitro in THP-1 Macrophages and Intestinal Caco-2 Cells. *The Journal of Nutrition*, 139(8), 1457–1462.
11. Cooke, K. S., Hinkle, B., Salimi-Moosavi, H., Foltz, I., King, C., Rathanaswami, P., ... Sasu, B. J. (2013). A fully human anti-hepcidin antibody modulates iron metabolism in both mice and nonhuman primates. *Blood*, 122(17), 3054–3061.
12. Corradini, E., Garuti, C., Montosi, G., Ventura, P., Andriopoulos, B., Lin, H. Y., ... Babitt, J. L. (2009). Bone Morphogenetic Protein Signaling Is Impaired in an Hfe Knockout Mouse Model of Hemochromatosis. *Gastroenterology*, 137(4), 1489–1497.
13. Corradini, E., Meynard, D., Wu, Q., Chen, S., Ventura, P., Pietrangelo, A., & Babitt, J. L. (2011). Serum and liver iron differently regulate the bone morphogenetic protein 6 (BMP6)-SMAD signaling pathway in mice. *Hepatology*, 54(1), 273–284.
14. Delaby, C., Pilard, N., Gonçalves, A. S., Beaumont, C., & Canonne-Hergaux, F. (2005). Presence of the iron exporter ferroportin at the plasma membrane of macrophages is enhanced by iron loading and down-regulated by hepcidin. *Blood*, 106(12), 3979–3984.
15. Domínguez, R., Vicente-Campos, D., Vicente-Campos, D., & Chicharro, J. (2014). Hepcidin response to exercise: A review. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism*, 18(3), 84–91.
16. Farnaud, Sebastien, Patel, A., & Evans, R. W. (2006). Modelling of a metal-containing hepcidin. *BioMetals*, 19(5), 527–533.
17. Farnaud, Sébastien, Rapisarda, C., Bui, T., Drake, A., Cammack, R., & Evans, R. W. (2008). Identification of an iron-hepcidin complex. *Biochemical Journal*, 413(3), 553–557.
18. Forejtníková, H., Vieillevoje, M., Zermati, Y., Lambert, M., Pellegrino, R. M., Guihard, S., ... Verdier, F. (2010). Transferrin receptor 2 is a component of the erythropoietin receptor com-

- plex and is required for efficient erythropoiesis. *Blood*, 116(24), 5357–5367.
19. Fung, E., Sugianto, P., Hsu, J., Damoiseaux, R., Ganz, T., & Nemeth, E. (2013). High-throughput screening of small molecules identifies hepcidin antagonists. *Molecular Pharmacology*, 83(3), 681–690.
 20. Galesloot, T. E., Vermeulen, S. H., Geurts-Moespot, A. J., Klaver, S. M., Kroot, J. J., Van Tienoven, D., ... Swinkels, D. W. (2011). Serum hepcidin: Reference ranges and biochemical correlates in the general population. *Blood*, 117(25).
 21. Ganz, T, Olbina, G., Girelli, D., Nemeth, E., & Westerman, M. (2008). Immunoassay for Human Serum Hepcidin | Intrinsic LifeSciences. *Am Soc Hematology*, 112(10), 4292–4298.
 22. Ganz, Tomas. (2011). Hepcidin and iron regulation, 10 years later. *Blood*, 117(17), 4425–4433.
 23. Gaudard, A., Varlet-Marie, E., Bressolle, F., & Audran, M. (2003). Drugs for increasing oxygen transport and their potential use in doping a review. *Sports Medicine*, 33(3), 187–212.
 24. Goetze, O., Schmitt, J., Spliethoff, K., Theurl, I., Weiss, G., Swinkels, D. W., ... Geier, A. (2013). Adaptation of iron transport and metabolism to acute high-altitude hypoxia in mountaineers. *Hepatology*, 58(6), 2153–2162.
 25. Gunshin, H., Mackenzie, B., Berger, U. V., Gunshin, Y., Romero, M. F., Boron, W. F., ... Hediger, M. A. (1997). Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature*, 388(6641), 482–488.
 26. Guo, W., Bachman, E., Li, M., Roy, C. N., Blusztajn, J., Wong, S., ... Bhasin, S. (2013). Testosterone administration inhibits hepcidin transcription and is associated with increased iron incorporation into red blood cells. *Aging Cell*, 12(2), 280–291.
 27. Hentze, M. W., Muckenthaler, M. U., Galy, B., & Camaschella, C. (2010). Two to Tango: Regulation of Mammalian Iron Metabolism. *Cell*, 142(1), 24–38.
 28. Hunter, H. N., Bruce Fulton, D., Ganz, T., & Vogel, H. J. (2002). The solution structure of human hepcidin, a peptide hormone with antimicrobial activity that is involved in iron uptake and hereditary hemochromatosis. *Journal of Biological Chemistry*, 277(40), 37597–37603.
 29. Ikeda, Y., Tajima, S., Izawa-Ishizawa, Y., Kihira, Y., Ishizawa, K., Tomita, S., ... Tamaki, T. (2012). Estrogen regulates Hepcidin expression via GPR30-BMP6-dependent signaling in hepatocytes. *PLoS ONE*, 7(7), 1–9.
 30. Jordan, J. B., Poppe, L., Haniu, M., Arvedson, T., Syed, R., Li, V., ... Sasu, B. J. (2009). Hepcidin revisited, disulfide connectivity, dynamics, and structure. *Journal of Biological Chemistry*, 284(36), 24155–24167.
 31. Kawabata, H., Fleming, R. E., Gui, D., Moon, S. Y., Saitoh, T., O’Kelly, J., ... Koeffler, H. P. (2005). Expression of hepcidin is down-regulated in TfR2 mutant mice manifesting a phenotype of hereditary hemochromatosis. *Blood*, 105(1), 376–381.
 32. Kemna, E. H. J. M., Tjalsma, H., Podust, V. N., & Swinkels, D. W. (2007). Mass spectrometry-based hepcidin measurements in serum and urine: Analytical aspects and clinical implications. *Clinical Chemistry*, 53(4), 620–628.
 33. Knutson, M. D., Oukka, M., Koss, L. M., Aydemir, F., & Wessling-Resnick, M. (2005). Iron release from macrophages after erythrophagocytosis is up-regulated by ferroportin 1 overexpression and down-regulated by hepcidin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(5), 1324–1328.
 34. Kong, W. N., Chang, Y. Z., Wang, S. M., Zhai, X. L., Shang, J. X., Li, L. X., & Duan, X. L. (2008). Effect of erythropoietin on hepcidin, DMT1 with IRE, and hephaestin gene expression in duodenum of rats. *Journal of Gastroenterology*, 43(2), 136–143.
 35. Kong, W. N., Gao, G., & Chang, Y. Z. (2014). Hepcidin and sports anemia. *Cell and Bioscience*, 4(1), 1–11.
 36. Kong, W. N., Zhao, S. E., Duan, X. L., Yang, Z., Qian, Z. M., & Chang, Y. Z. (2008). Decreased DMT1 and increased ferroportin 1 expression is the mechanisms of reduced iron retention in macrophages by erythropoietin in rats. *Journal of Cellular Biochemistry*, 104(2), 629–641.
 37. Krantz, S. B. (1991). Erythropoietin. *Blood*, 77(3), 419–4334.
 38. Krause, A., Neitz, S., Mägert, H.-J., Schulz, A., Forssmann, W.-G., Schulz-Knappe, P., & Adermann, K. (2000). LEAP-1, a novel highly disul-

- fide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity¹¹The nucleotide sequence data reported in this paper have been submitted to the GenBank/EBI Data Bank with accession number AJ277280. Scanning of this sequence against . *FEBS Letters*, 480(2-3), 147-150.
39. Kroot, J. J. C., Laarakkers, C. M. M., Geurts-Moespot, A. J., Grebenchtchikov, N., Pickkers, P., Van Ede, A. E., ... Swinkels, D. W. (2010). Immunochemical and mass-spectrometry-based serum hepcidin assays for iron metabolism disorders. *Clinical Chemistry*, 56(10), 1570-1579.
 40. Kroot, J. J. C., Tjalsma, H., Fleming, R. E., & Swinkels, D. W. (2011). Hepcidin in human iron disorders: Diagnostic implications. *Clinical Chemistry*, 57(12), 1650-1669.
 41. Kulaksiz, H., Theilig, F., Bachmann, S., Gehrke, S. G., Rost, D., Janetzko, A., ... Stremmel, W. (2005). The iron-regulatory peptide hormone hepcidin: Expression and cellular localization in the mammalian kidney. *Journal of Endocrinology*, 184(2), 361-370.
 42. Kwapisz, J., Slomka, A., & Zekanowska, E. (2009). Hepcidin and Its Role in Iron Homeostasis. *Ejifcc*, 20(2), 124-128.
 43. Laftah, A. H., Ramesh, B., Simpson, R. J., Solanki, N., Bahram, S., Schümann, K., ... Srail, S. K. S. (2004). Effect of hepcidin on intestinal iron absorption in mice. *Blood*, 103(10), 3940-3944.
 44. Latour, C., Kautz, L., Besson-Fournier, C., Island, M. L., Canonne-Hergaux, F., Loréal, O., ... Roth, M. P. (2014). Testosterone perturbs systemic iron balance through activation of epidermal growth factor receptor signaling in the liver and repression of hepcidin. *Hepatology*, 59(2), 683-694.
 45. Lin, L., Goldberg, Y. P., & Ganz, T. (2005). Competitive regulation of hepcidin mRNA by soluble and cell-associated hemojuvelin. *Blood*, 106(8), 2884-2889.
 46. Liu, Q., Davidoff, O., Niss, K., & Haase, V. H. (2012). Hypoxia-inducible factor regulates hepcidin via erythropoietin-induced erythropoiesis. *Journal of Clinical Investigation*, 122(12), 4635-4644.
 47. Liu, Y.-Q., Chang, Y.-Z., Zhao, B., Wang, H.-T., & Duan, X.-L. (2011). Does Hepatic Hepcidin Play an Important Role in Exercise-Associated Anemia in Rats? are with the College of Physical Education. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 21, 19-26.
 48. Liu, Y. Q., Duan, X. L., Chang, Y. Z., Wang, H. T., & Qian, Z. M. (2006). Molecular analysis of increased iron status in moderately exercised rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 282(1-2), 117-123.
 49. Magazanik, A., Weinstein, Y., Dlin, R. A., Derin, M., Schwartzman, S., & Allalouf, D. (1988). Iron deficiency caused by 7 weeks of intensive physical exercise. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 57(2), 198-202.
 50. Margeli, A., Skenderi, K., Tsironi, M., Hantzi, E., Matalas, A. L., Vrettou, C., ... Papassotiriou, I. (2005). Dramatic elevations of interleukin-6 and acute-phase reactants in athletes participating in the ultradistance foot race Spartathlon: Severe systemic inflammation and lipid and lipoprotein changes in protracted exercise. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 90(7), 3914-3918.
 51. McClung, J. P. (2012). Iron status and the female athlete. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 26(2-3), 124-126.
 52. Melino, S., Garlando, L., Patamia, M., Paci, M., & Petruzzelli, R. (2005). A metal-binding site is present in the amino terminal region of the bioactive iron regulator hepcidin-25. *Journal of Peptide Research*, 66(SUPPL. 1), 65-71.
 53. Mena, N. P., Esparza, A., Tapia, V., Valdés, P., & Núñez, M. T. (2007). Hepcidin inhibits apical iron uptake in intestinal cells. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 294(1).
 54. Merkel, D., Huerta, M., Grotto, I., Blum, D., Rachmilewitz, E., Fibach, E., ... Shpilberg, O. (2009). Incidence of Anemia and Iron Deficiency in Strenuously Trained Adolescents: Results of a Longitudinal Follow-Up Study. *Journal of Adolescent Health*, 45(3), 286-291.
 55. Meynard, D., Kautz, L., Darnaud, V., Canonne-Hergaux, F., Coppin, H., & Roth, M. P. (2009). Lack of the bone morphogenetic protein BMP6 induces massive iron overload. *Nature Genetics*, 41(4), 478-481.

56. Nemeth, E., Preza, G. C., Jung, C. L., Kaplan, J., Waring, A. J., & Ganz, T. (2006). The N-terminus of hepcidin is essential for its interaction with ferroportin: Structure-function study. *Blood*, 107(1), 328–333.
57. Nemeth, E., Rivera, S., Gabayan, V., Keller, C., Taudorf, S., Pedersen, B. K., & Ganz, T. (2004). IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *Journal of Clinical Investigation*, 113(9), 1271–1276.
58. Nemeth, E., Roetto, A., Garozzo, G., Ganz, T., & Camaschella, C. (2005). Hepcidin is decreased in TFR2 hemochromatosis. *Blood*, 105(4), 1803–1806.
59. Nemeth, E., Tuttle, M. S., Powelson, J., Vaughn, M. D., Donovan, A., Ward, D. M. V., ... Kaplan, J. (2004). Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science*, 306(5704), 2090–2093.
60. Nemeth, E., Valore, E. V., Territo, M., Schiller, G., Lichtenstein, A., & Ganz, T. (2003). Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood*, 101(7), 2461–2463.
61. Newlin, M. K., Williams, S., McNamara, T., Harold, T., Swinkels, D. W., & Haymes, E. M. (2013). The Effects of Acute Exercise Bouts on Hepcidin in Women. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 23, 178-186.
62. Nicolas, G., Chauvet, C., Viatte, L., Danan, J. L., Bigard, X., Devaux, I., ... Vaulont, S. (2002). The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *Journal of Clinical Investigation*, 110(7), 1037–1044.
63. Nicolas, G., Viatte, L., Bennoun, M., Beaumont, C., Kahn, A., & Vaulont, S. (2002). Hepcidin, a new iron regulatory peptide. *Blood Cells, Molecules & Diseases*, 29(3), 327–335.
64. Nishimoto, N., Kanakura, Y., Aozasa, K., Johkoh, T., Nakamura, M., Nakano, S., ... Ikeda, Y. (2019). Humanized anti – interleukin-6 receptor antibody treatment of multicentric Castleman disease. 106(8), 2627–2633.
65. Ostrowski, K., Rohde, T., Asp, S., Schjerling, P., & Pedersen, B. K. (1999). Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. *Journal of Physiology*, 515(1), 287–291.
66. Pak, M., Lopez, M. A., Gabayan, V., Ganz, T., & Rivera, S. (2006). Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity. *Blood*, 108(12), 3730–3735.
67. Papanikolaou, G., Samuels, M. E., Ludwig, E. H., MacDonald, M. L. E., Franchini, P. L., Dubé, M. P., ... Goldberg, Y. P. (2004). Mutations in HFE2 cause iron overload in chromosome 1q-linked juvenile hemochromatosis. *Nature Genetics*, 36(1), 77–82. <https://doi.org/10.1038/ng1274>
68. Park, C. H., Valore, E. V., Waring, A. J., & Ganz, T. (2001). Hepcidin, a Urinary Antimicrobial Peptide Synthesized in the Liver. *Journal of Biological Chemistry*, 276(11), 7806–7810.
69. Pedersen, Bente K, & Febbraio, M. A. (2012). Muscles, exercise and obesity: Skeletal muscle as a secretory organ. *Nature Reviews Endocrinology*, 8(8), 457–465.
70. Pedersen, Bente Klarlund, & Hoffman-Goetz, L. (2000). Exercise and the immune system: Regulation, integration, and adaptation. *Physiological Reviews*, 80(3), 1055–1081.
71. Pedersen, Bente Klarlund, Steensberg, A., & Schjerling, P. (2001). Muscle-derived interleukin-6: possible biological effects. *The Journal of Physiology*, 536(2), 329–337.
72. Peeling, P. (2010). Exercise as a mediator of hepcidin activity in athletes. *European Journal of Applied Physiology*, 110(5), 877–883.
73. Peeling, P., Dawson, B., Goodman, C., Landers, G., Wiegerinck, E. T., Swinkels, D. W., & Trinder, D. (2009a). Cumulative effects of consecutive running sessions on hemolysis, inflammation and hepcidin activity. *European Journal of Applied Physiology*, 106(1), 51–59.
74. Peeling, P., Dawson, B., Goodman, C., Landers, G., Wiegerinck, E. T., Swinkels, D. W., & Trinder, D. (2009b). Effects of exercise on hepcidin response and iron metabolism during recovery. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 19(6), 583–597.
75. Peeling, P., Dawson, B., Goodman, C., Landers, G., Wiegerinck, E. T., Swinkels, D. W., & Trinder, D. (2009c). Training surface and intensity: Inflammation, hemolysis, and hepcidin expression. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 41(5), 1138–1145.

76. Peslova, G., Petrak, J., Kuzelova, K., Hrdy, I., Halada, P., Kuchel, P. W., ... Vyoral, D. (2009). Hepcidin, the hormone of iron metabolism, is bound specifically to α -2-macroglobulin in blood. *Blood*, 113(24), 6225–6236.
77. Peters, H. P. E., Laarakkers, C. M. M., Swinkels, D. W., & Wetzels, J. F. M. (2010). Serum hepcidin-25 levels in patients with chronic kidney disease are independent of glomerular filtration rate. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 25(3), 848–853.
78. Pigeon, C., Ilyin, G., Courselaud, B., Leroyer, P., Turlin, B., Brissot, P., & Loréal, O. (2001). A New Mouse Liver-specific Gene, Encoding a Protein Homologous to Human Antimicrobial Peptide Hepcidin, Is Overexpressed during Iron Overload. *Journal of Biological Chemistry*, 276(11), 7811–7819.
79. Piloto, N., Teixeira, H. M., Teixeira-Lemos, E., Parada, B., Garrido, P., Sereno, J., ... Reis, F. (2009). Erythropoietin promotes deleterious cardiovascular effects and mortality risk in a rat model of chronic sports doping. *Cardiovascular Toxicology*, 9(4), 201–210.
80. Pinto, J. P., Ribeiro, S., Pontes, H., Thowfeeuq, S., Tosh, D., Carvalho, F., & Porto, G. (2008). Erythropoietin mediates hepcidin expression in hepatocytes through EPOR signaling and regulation of C/EBP α . *Blood*, 111(12), 5727–5733.
81. Poli, M., Girelli, D., Campostrini, N., Maccarinelli, F., Finazzi, D., Luscieti, S., ... Arosio, P. (2011). Heparin: A potent inhibitor of hepcidin expression in vitro and in vivo. *Blood*, 117(3), 997–1004.
82. Qian, Z. M., Xiao, D. S., Tang, P. L., Yao, F. Y. D., & Liao, Q. K. (1999). Increased expression of transferrin receptor on membrane of erythroblasts in strenuously exercised rats. *Journal of Applied Physiology*, 87(2), 523–529.
83. Ramey, G., Deschemin, J. C., Durel, B., Canonne-Hergaux, F., Nicolas, G., & Vaulont, S. (2010). Hepcidin targets ferroportin for degradation in hepatocytes. *Haematologica*, 95(3), 501–504.
84. Ramirez, J. M., Schaad, O., Durual, S., Cossali, D., Docquier, M., Beris, P., ... Matthes, T. (2009). Growth differentiation factor 15 production is necessary for normal erythroid differentiation and is increased in refractory anaemia with ring-sideroblasts. *British Journal of Haematology*, 144(2), 251–262.
85. Ramos, E., Kautz, L., Rodriguez, R., Hansen, M., Gabayan, V., Ginzburg, Y., ... Ganz, T. (2011). *and Chronic Iron Loading*. 53(4), 1333–1341. <https://doi.org/10.1002/hep.24178>.Evidence
86. Reinke, S., Taylor, W. R., Duda, G. N., Von Haehling, S., Reinke, P., Volk, H. D., ... Doehner, W. (2012). Absolute and functional iron deficiency in professional athletes during training and recovery. *International Journal of Cardiology*, 156(2), 186–191.
87. Rivera, S., Nemeth, E., Gabayan, V., Lopez, M. A., Farshidi, D., & Ganz, T. (2005). Synthetic hepcidin causes rapid dose-dependent hypoferrremia and is concentrated in ferroportin-containing organs. *Blood*, 106(6), 2196–2199.
88. Roecker, L., Kowoll, R., Fraszi, W., Battal, K., Brechtel, L., Brachmann, S., ... Kiesewettwr, H. (2006). Observation of serum erythropoietin concentrations in female athletes for up to eight days after a marathon run. *Clin Lab*, 52(9–10), 511–513.
89. Roecker, L., Meier-Buttermilch, R., Brechtel, L., Nemeth, E., & Ganz, T. (2005). Iron-regulatory protein hepcidin is increased in female athletes after a marathon. *European Journal of Applied Physiology*, 95(5–6), 569–571.
90. Schranz, M., Bakry, R., Creus, M., Bonn, G., Vogel, W., & Zoller, H. (2009). Activation and inactivation of the iron hormone hepcidin: Biochemical characterization of prohepcidin cleavage and sequential degradation to N-terminally truncated hepcidin isoforms. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 43(2), 169–179.
91. Schwoebel, F., Van Eijk, L. T., Zboralski, D., Sell, S., Buchner, K., Maasch, C., ... Klussmann, S. (2013). The effects of the anti-hepcidin Spiegelmer NOX-H94 on inflammation-induced anemia in cynomolgus monkeys. *Blood*, 121(12), 2311–2315.
92. Sim, M., Dawson, B., Landers, G., Swinkels, D. W., Tjalsma, H., Trinder, D., & Peeling, P. (2013). Effect of exercise modality and intensity on postexercise interleukin-6 and hepcidin levels. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 23(2), 178–186.

93. Son, H. J., Kim, H. J., Kim, J. H., Ohno, H., & Kim, C. K. (2012). Erythropoietin, 2,3 DPG, oxygen transport capacity, and altitude training in adolescent alpine skiers. *Aviation Space and Environmental Medicine*, 83(1), 50–53.
94. Song, S. N. J., Tomosugi, N., Kawabata, H., Ishikawa, T., Nishikawa, T., & Yoshizaki, K. (2010). Down-regulation of hepcidin resulting from long-term treatment with an anti-IL-6 receptor antibody (tocilizumab) improves anemia of inflammation in multicentric Castleman disease. *Blood*, 116(18), 3627–3634.
95. Sow, F. B., Florence, W. C., Satoskar, A. R., Schlesinger, L. S., Zwillig, B. S., & Lafuse, W. P. (2007). Expression and localization of hepcidin in macrophages: a role in host defense against tuberculosis. *Journal of Leukocyte Biology*, 82(4), 934–945.
96. Sumboonnanonda, A., Malasit, P., Tanphaichit, V., Ong-ajyooth, S., Sunthornchart, S., Patanakitsakul, S., ... Vongjirad, A. (1998). Renal tubular function in betathalassemia. *Pediatr Nephrol*, 12, 80/83.
97. Swinkels, D. W., Girelli, D., Laarakkers, C., Kroot, J., Campostrini, N., Kemna, E. H. J. M., & Tjalsma, H. (2008). Advances in quantitative hepcidin measurements by time-of-flight mass spectrometry. *PLoS ONE*, 3(7), 1–7.
98. Tanno, T., Bhanu, N. V., Oneal, P. A., Goh, S. H., Staker, P., Lee, Y. T., ... Miller, J. L. (2007). High levels of GDF15 in thalassemia suppress expression of the iron regulatory protein hepcidin. *Nature Medicine*, 13(9), 1096–1101.
99. Tanno, T., Porayette, P., Sripichai, O., Noh, S. J., Byrnes, C., Bhupatiraju, A., ... Miller, J. L. (2009). Identification of TWSG1 as a second novel erythroid regulator of hepcidin expression in murine and human cells. *Blood*, 114(1), 181–186.
100. Theurl, I., Schroll, A., Sonnweber, T., Nairz, M., Theurl, M., Willenbacher, W., ... Weiss, G. (2011). Pharmacologic inhibition of hepcidin expression reverses anemia of chronic inflammation in rats. *Blood*, 118(18), 4977–4984.
101. Tian, Y., Zhao, J., Zhao, B., Gao, Q., Xu, J., & Liu, D. (2012). The ratio of sTfR/ferritin is associated with the expression level of TfR in rat bone marrow cells after endurance exercise. *Biological Trace Element Research*, 147(1–3), 261–266.
102. Tomosugi, N., Kawabata, H., Wakatabe, R., Higuchi, M., Yamaya, H., Umehara, H., & Ishikawa, I. (2006). Detection of serum hepcidin in renal failure and inflammation by using ProteinChip System. *Blood*, 108(4), 1381–1387.
103. Troadec, M. B., Lainé, F., Daniel, V., Rochcongar, P., Ropert, M., Cabillic, F., ... Brissot, P. (2009). Daily regulation of serum and urinary hepcidin is not influenced by submaximal cycling exercise in humans with normal iron metabolism. *European Journal of Applied Physiology*, 106(3), 435–443.
104. Troutt, J. S., Rudling, M., Persson, L., Stähle, L., Angelin, B., Butterfield, A. M., ... Konrad, R. J. (2012). Circulating Human hepcidin-25 concentrations display a diurnal rhythm, increase with prolonged fasting, and are reduced by growth hormone administration. *Clinical Chemistry*, 58(8), 1225–1232.
105. Tselepis, C., Ford, S. J., McKie, A. T., Vogel, W., Zoller, H., Simpson, R. J., ... Ward, D. G. (2010). Characterization of the transition-metal-binding properties of hepcidin. *Biochemical Journal*, 427(2), 289–296.
106. Valore, E. V., & Ganz, T. (2008). Posttranslational processing of hepcidin in human hepatocytes is mediated by the prohormone convertase furin. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 40(1), 132–138.
107. Van De Vosse, E., & Van Agtmael, M. A. (2007). Targets of anticytokine therapy and the risk of infections in humans and mice. *Current Opinion in Rheumatology*, 19(6), 626–635.
108. Vittoria, M., Falzacappa, V., Spasic, M. V., Kessler, R., Stolte, J., Hentze, M. W., & Muckenthaler, M. U. (2015). STAT3 mediates hepatic hepcidin expression and its inflammatory stimulation. *Blood*, 109(1), 353–359.
109. Vokurka, M., Krijt, J., Šulc, K., & Nečas, E. (2006). Hepcidin mRNA levels in mouse liver respond to inhibition of erythropoiesis. *Physiological Research*, 55(6), 667–674.
110. Wallace, D. F., Summerville, L., Crampton, E. M., Frazer, D. M., Anderson, G. J., & Subramaniam, V. N. (2009). Combined deletion of Hfe and transferrin receptor 2 in mice leads to marked dysregulation of hepcidin and iron overload. *Hepatology*, 50(6), 1992–2000.

111. Wan, L., Bellomo, R., Giantomasso, D. Di, & Ronco, C. (2003). The pathogenesis of septic acute renal failure. *Curr Opin Crit Care*, 9, 496–502.
112. Wrighting, D. M., & Andrews, N. C. (2006). Interleukin-6 induces hepcidin expression through STAT3. *Blood*, 108(9), 3204–3209.
113. Yu, P. B., Hong, C. C., Sachidanandan, C., Babitt, J. L., Deng, D. Y., Hoyng, S. A., ... Peterson, R. T. (2008). Dorsomorphin inhibits BMP signals required for embryogenesis and iron metabolism. *Nat Chem Biol*, 4(1), 33–41.
114. Zhang, A.-S. (2010). Control of Systemic Iron Homeostasis by the Hemojuvelin-Hepcidin Axis. *Adv. Nutr.*, 1, 38–45.
115. Zhang, S. P., Wang, Z., Wang, L. X., & Liu, S. J. (2011). AG490: An inhibitor of hepcidin expression in vivo. *World Journal of Gastroenterology*, 17(45), 5032–5034.

Submitted: 23.09.2019.

Accepted: 28.10. 2019.

Published Online First: 15.11.2019.

УЛОГА ХЕПЦИДИНА У МЕТАБОЛИЗМУ ЖЕЉЕЗА КОД СПОРТИСТА

Зорислава Бајић, Ненад Понорац, Амела Матавуљ
Медицински факултет, Универзитет у Бања Луци, Босна и Херцеговина

Сажетак

Хепцидин је пептид који је откривен 2000. године, синтетише се у јетри и одлази у циркулацију. Постоје три форме хепцидина: хепцидин-25, хепцидин-22 и хепцидин-20. Прва форма је највише проучавана и њена улога је најважнија. Хепцидин-25 сматра се главним регулатором апсорпције жељеза унесеног храном као и његовог ослобађања из ћелија. Своју регулаторну функцију остварује спречавањем функције феропортина, главног ћелијског експортера жељеза. То је протеин чија се функција огледа у томе да ослобађа жељезо из ћелија на чијој површини се налази (макрофага, хепатоцита и ентероцита). Хепцидин-25 индукује деградацију феропортина, што за посљедицу има повећање интрацелуларних складишта жељеза. Он, такође, смањује апсорпцију жељеза из хране и на тај начин смањује концентрацију циркулишућег жељеза. Током физичке активности његова концентрација почиње да расте при интензитету од 65% VO_{2max} , а максималну вриједност достиже при интензитету од 90-95% VO_{2max} . Осим интензитета, на концентрацију хепцидина, утиче и обим физичке активности. Истраживања су показала да на експресију хепцидина током физичке активности утичу инфламација, статус жељеза еритропоеза и хипоксија. Он се сматра једним од узрока анемије код спортиста. Постоје потенцијалне методе за неутрализацију хепцидина (моноклонална антибијела и антагонисти), као и за смањење његове експресије (допинг еритропоезином који је забрањен у спорту, анти- IL-6 антибијела и модулатори сигналних путева, STAT и BMP модулатори). Због његове значајне улоге у метаболизму жељеза, пошто је неопходан за транспорт кисеоника у организму, он може утицати на спортске резултате. То је разлог због којег је хепцидин још увијек предмет многих истраживања.

Кључне ријечи: ХЕПЦИДИН / ФЕРОПОРТИН / ЖЕЉЕЗО / ФИЗИЧКА АКТИВНОСТ

УВОД

Хепцидин је пептид који је у току проучавања антимикробних својстава тјелесних течности 2000. године изолован из урина. Он је добио име на основу мјеста синтезе (јетра, *hepar*, *hep-*) и антимикробних карактеристика *in vitro* (-cidin) (Park, Valore, Waring, & Ganz, 2001). Те исте године, независно од њих, изолован је исти пептид из ултрафилтрате плазме, и добио је име LEAP-1 (liver-expressed antimicrobial peptide) (Krause et al., 2000).

Хепцидин се синтетише у јетри у облику пептида који се састоји од 25 аминокиселина (хепцидин-25), те из јетре одлази у циркулацију (Krause et al., 2000; Pigeon et al., 2001). Хепцидин-25 настаје из препрохепцидина од којег постаје прохепцидин који садржи 64 аминокиселинска остатка. Одвајањем 39 аминокиселинских оста-

така на N-терминалном крају, настаје активна форма хормона, хепцидин-25 (Kwapisz, Slomka, & Zekanowska, 2009). Постоје и двије мање форме хепцидина, једна се састоји од 22, а друга од 20 аминокиселина. Структурна анализа хепцидина NMR спектроскопијом је показала да овај, цистеином богат пептид, формира молекулу облика укоснице са искривљеном β -плочом коју стабилизују четири дисулфидна моста између два антипаралелна ланца. Један од мостова се налази у близини петље укоснице, што указује на могућност да би тај регион могао бити кључан за активност ове молекуле (Hunter, Bruce Fulton, Ganz, & Vogel, 2002; Jordan et al., 2009). Нека истраживања су показала да хепцидин везује дво-валентне метале, као што су Cu^{2+} , Fe^{2+} , Zn^{2+} , Ni^{2+} , али су резултати тих истраживања недосљедни

(Farnaud, Patel, & Evans, 2006; Farnaud et al., 2008; Melino, Garlando, Patamia, Paci, & Petruzzelli, 2005; Tselepis et al., 2010). Способност хепцидина да веже жељезо и друге двовалентне метале указује на то да би хепцидин могао имати нехормоналну улогу у метаболизму жељеза или хормоналну улогу која се огледа у конформационом механизму за преузимање двовалентних, те у регулацији деградације феропортина (Farnaud et al., 2006; Farnaud et al., 2008; Kroot, Tjalsma, Fleming, & Swinkels, 2011; Melino et al., 2005; Tselepis et al., 2010).

Још увијек има доста непознаница о поријеклу мањих форми хепцидина. Истраживања заснована на испитивању калцијум-независне активности ткива у панкреасном екстракту указују на могућност N-терминалног скраћивања хепцидина-25 у хепцидин-22, али и улогу дипептидилпептидазе 4 у претварању хепцидина-22 у хепцидин-20 (Schranz et al., 2009; Valore & Ganz, 2008). Ове двије мање форме хепцидина се могу наћи у урину, а у сасвим малим количинама и у серуму (Kemna, Tjalsma, Podust, & Swinkels, 2007; Kroot et al., 2010; Park et al., 2001). *In vivo* истраживања на мишевима показују да само хепцидина-25 има значајну улогу у метаболизму жељеза јер само овај облик хепцидина, након интраперитонеалне ињекције, изазива значајну хипоферемiju (Rivera et al., 2005). Овакви налази су поткрепљени *in vitro* истраживањима у којима је доказано да су хепцидин-20 и хепцидин-22 скоро потпуно независни од феропортинског регулаторног механизма, за разлику од хепцидина-25 (Nemeth et al., 2006). Новије студије показују да се хепцидин, осим у хепатоцитима, производи и у другим ћелијама. Производе га ћелије бубрежних тубула, срца, ретине, моноцити, неутрофили, масне ћелије, алвеоларне ћелије и β -ћелије панкреаса. Хепцидин који се произведе у тим ћелијама има више локални ефекат на ткива која га производе, и не утиче значајно на његову концентрацију у системској циркулацији (Kroot et al., 2011).

КИНЕТИКА ХЕПЦИДИНА

Недавно је откривено да се хепцидин у циркулацији везује за α 2-макроглобулин са релативно великим афинитетом, а за албумин са релативно малим афинитетом. Сматра се да од укупне количине хепцидина, око 11% слобод-

но циркулише у плазми (Peslova et al., 2009), као и да се клиренс хепцидина одвија преко целуларне кодеградације са феропортином, а његова екскреција се врши бубрезима. Због своје мале молекулске масе, као и малог пречника, слободни хепцидин може проћи кроз гломеруларну мембрану и наћи се у гломеруларном филтрату. У мањим студијама на људима показало се да је фракциона екскреција хепцидина веома мала, и да износи око 0-5% (Ganz, Olbina, Girelli, Nemeth, & Westerman, 2008; Swinkels et al., 2008). Узрок тако мале екскреције је његова реасорпција у тубулама или непотпуна филтрација. Докази који иду у прилог непотпуне филтрације су студије које су показале да је код пацијената са гломеруларном дисфункцијом концентрација серумског хепцидина већа само за 1-6 пута (Ashby et al., 2009; Ganz et al., 2008; Peters, Laarakkers, Swinkels, & Wetzels, 2010; Tomosugi et al., 2006) док је концентрација β 2-микроглобулина већа за 20-30 пута. β 2-микроглобулин се, због своје мале молекулске масе, скоро у потпуности филтрира гломеруларном филтрацијом. Постоји могућност да везивање хепцидина са α 2-макроглобулином или неким другим транспортним протеином онемогућава потпуну филтрацију циркулишућег хепцидина. С друге стране, могуће је да очекивана повишена концентрација циркулишућег хепцидина код пацијената са смањеном реналном филтрацијом узрокује активацију компензаторне повратне спреге која доводи до смањене продукције хепцидина у јетри. Постоје нагађања, да под одређеним условима хепцидин може да избјегне реналну реасорпцију. Смањена реасорпција може бити значајана код неких поремећаја метаболизма жељеза која су удружена са тубуларном дисфункцијом и повишеном концентрацијом уринарног хепцидина (инфламација, хемокроматоза и маларија) (Sumboonnanonda et al., 1998; Wan, Bellomo, Giantomasso, & Ronco, 2003). Код интерпретације резултата ових студија треба узети у обзир и могућу тубуларну продукцију хепцидина, као и могућу нарушену тубуларну реасорпцију хепцидина (Kulaksiz et al., 2005).

ФУНКЦИЈА ХЕПЦИДИНА

Хепцидин има значајну улогу у метаболизму жељеза. Жељезо у храни се најчешће налази у облику Fe^{3+} или хема. Сматра се да се апсорпција

Fe^{3+} одвија кроз двије фазе. Прво се Fe^{3+} редукује уз помоћ жељезо-редуктазе (дуоденални цитохром, Cyt b) у Fe^{2+} , а Fe^{2+} се даље преноси кроз ћелијску мембрану уз помоћ транспортног протеина. Тај транспортни протеин је обиљежен као транспортер дивалентних метала 1 (divalent metal transporter 1 - DMT1 или DCT1). У ћелијама се Fe^{2+} јони складиште везани за феритин. Када се јави потреба за кориштењем ускладиштеног жељеза, прије него се отпусти у крвну плазму са феропортином, Fe^{2+} се оксидује у Fe^{3+} уз помоћ ендооксидаза (церулоплазмин у макрофагима, хепхаестин у ентероцитима). У плазми се Fe^{3+} веже за транспортни протеин, трансферин (Ashrafiian, 2003). Транспортни протеин за жељезо DMT1, се углавном налази на мембрани ентероцита у дуоденуму, а његова концентрација се повећава у току смањеног уноса жељеза храном. DMT1 се, такође, налази и у бубрезима, јетри, мозгу и срцу (Gunshin et al., 1997).

Хепцидин-25 сматра се главним регулатором апсорпције жељеза унесеног храном, као и његовог ослобађања из ћелија. Своју регулаторну функцију остварује спречавањем функције феропортина, главног ћелијског експортера жељеза. То је протеин чија се функција огледа у томе да ослобађа жељезо из ћелија на чијој површини се налази (макрофага, хепатоцита и ентероцита). Хепцидин-25 индукује деградацију феропортина, што за посљедицу има повећање интрацелуларних складишта жељеза. Он, такође, смањује апсорпцију жељеза из хране и на тај начин смањује концентрацију циркулишућег жељеза (Kroot et al., 2011).

Поред регулаторне улоге, хепцидин има и одбрамбену улогу организма. Хепцидин је прво идентификован као антимицробни пептид, по чему је и добио име (Krause et al., 2000; Park et al., 2001). Неке студије указују на бактерицидне ефекте хепцидина, али да би се постигли такви ефекти, потребне су много веће концентрације од оних које се нормално налазе у циркулацији. Такве концентрације се могу постићи локално, нпр. у фагозомима инфицираних макрофага (Sow et al., 2007). Хепцидин може индиректно допринијети одбрани организма смањењем концентрације плазматског жељеза. Жељезо је неопходно за раст микроорганизама, а његов недостатак онемогућава раст микроорганизама и на тај начин дјелује бактериостатски. Осим тога, хепци-

дин модулише липополисахаридима индуковану транскрипцију у културама макрофага и *in vivo* на моделу миша. То указује на значајну улогу хепцидина у модулисању акутног инфламаторног одговора на бактеријску инфекцију (Kroot et al., 2011). Локални ефекти хепцидина се јављају у ткивима ћелија које их продукују. Локални ефекти хепцидина се огледају у аутокриној интеракцији са феропортином, чиме он штити сусједне ћелије од недостатка жељеза, превенира екстрацелуларни оксидативни стрес, те дјелује на инфламаторни одговор и/или троши екстрацелуларна складишта жељеза која су доступна екстрацелуларним патогенима (Kroot et al., 2011). Мале форме хепцидина не изазивају хипоферемички одговор, али још увијек није познато да ли задржавају друге идентификоване биолошке функције хепцидина-25 (нпр. одбрана организма или везивање метала) (Kroot et al., 2011).

Дневне варијације концентрације серумског хепцидина

Код здравих особа хепцидин показује дневне варијације са најнижом вриједношћу у раним јутарњим часовима, лаганим порастом током дана, а падом током вечерњих сати. Овакве варијације не зависе од уноса хране (Troutt et al., 2012).

Варијације концентрације серумског хепцидина са старошћу

Студија која је проведена на великом узорку здравих особа (3000 особа) показала је да је концентрација хепцидина код пременопаузалних жена нижа у односу на постменопаузалне жене старије животне доби. Концентрација ових хормона код мушкараца се не мијења значајно са годинама старости (Galesloot et al., 2011).

ХЕПЦИДИН КАО ПОТЕНЦИЈАЛНО ДИЈАГНОСТИЧКО И ТЕРАПИЈСКО СРЕДСТВО

Откриће хепцидина 2000. године (Krause et al., 2000; Park et al., 2001) није само отворило врата разумијевању метаболизма жељеза, него је помогло у објашњењу патолошких механизма које се налазе у основи многих болести. Ове

студије су отвориле много питања, а међу њима једно од значајнијих је питање употребе хепцидина као дијагностичког и терапијског средства. Одређивањем хепцидина могу се разликовати различити облици анемија, као што је анемија хроничне болести од анемија која настаје због дефицита жељеза. Такође је познато да инфламација повећава, а дефицит жељеза смањује синтезу хепцидина (Brugnara, 2008; Nemeth, Rivera, et al., 2004).

Једна од најзначајнијих примјена хепцидина је у дијагностици и праћењу хемохроматозе. Хепцидин је још увијек у центру пажње бројних истраживача. Терапијска примјена синтетског хепцидина би била значајна у лијечењу хемохроматозе и других стања која карактерише накупљање жељеза у организму (Laftah et al., 2004). Развијена је метода 2008. год. одређивања вриједности хуманог хепцидина, тзв. ензимом везани компетитивни имуноесеј (С-ELISA). Он се користи за детекцију физиолошких и патолошких промјена концентрације хепцидина у серуму и урину (Ganz et al., 2008).

ХЕПЦИДИН И ФИЗИЧКА АКТИВНОСТ

Иако је потврђено да физичка активност повећава еритропоетску активност коштане сржи (Qian, Xiao, Tang, Yao, & Liao, 1999), истраживања су показала да се након интензивне физичке активности број еритроцита, количина хемоглобина и вриједност хематокрита значајно смањују (Liu, Chang, Zhao, Wang, & Duan, 2011; Tian et al., 2012). Овакава запажања могу бити резултат смањене апсорпције жељеза из танког цријева и смањеног изласка жељеза из паренхимних ћелија и макрофага у циркулацију. Многе студије на људима и животињама су доказале да након интензивног вјежбања долази до смањења и других индикатора статуса жељеза, као што су, серумско жељезо, сатурација трансферина, серумски феритин (Liu et al., 2011; Magazanik et al., 1988; Merkel et al., 2009; Reinke et al., 2012). Ово указује да је количина жељеза која се допрема коштаном сржи након интензивног вјежбања недовољна за захтијеве повећане еритропоезе. Као посљедица тога, губитак еритроцита и недовољна производња нових еритроцита заједно доводе до појаве анемије. Регулаторни механизам метаболизма жељеза који

доводи до смањене апсорпције жељеза из цријева и заробљавања жељеза у јетри још увијек је недовољно познат. Хепцидин, главни регулаторни хормон жељеза, одговоран за одржавање хомеостазе жељеза, контролише апсорпцију жељеза из хране и дистрибуцију жељеза у органе и ткива организма (Ganz, 2011). Смањена апсорпција жељеза и повећана хепатична складишта жељеза, која су уочена код пацова који вјежбају, директно су везана за хепатичну експресију хепцидина (Kong, Gao, & Chang, 2014).

Новије студије показују да, осим могуће хемоллизе, хематурије, знојења и гастроинтестиналног крварења, ниске концентрације жељеза код спортиста могу бити узроковане и повишеном концентрацијом хепцидина. Код спортиста су нађене високе концентрације уринарног хепцидина након вјежбања. Постоје два могућа механизма којима физичка активност утиче на експресију хепцидина. Први је да се након физичке активности слободно жељезо зароби у сакупљачке ћелије ретикулоендотелног система. Тиме се подстиче функција хепцидина, при чему он остварује своје дјеловање на феропортин, и враћа жељезо у циркулацију. Други је повећање концентрације хепцидина након физичке активности, што узрокује смањену апсорпцију жељеза из хране. Хепцидин тако може бити медијатор високе инциденце дефицита жељеза међу спортистима (Kroot et al., 2011; Peeling, 2010).

УТИЦАЈ ИНТЕНЗИТЕТА, ОБИМА И МОДАЛИТЕТА ФИЗИЧКЕ АКТИВНОСТИ НА НИВО ХЕПЦИДИНА

Доказано је да ниво хепцидина расте у физичкој активности. Његова зависност од интензитета, обима и врсте физичке активности је била предмет неколико истраживања (Domínguez, Vicente-Campos, Vicente-Campos, & Chicharro, 2014).

Интензитет физичке активности

Посљедних година било је много студија о функцији хепцидина у спортској анемији. Проучаван је раст хепцидина након физичке активности, па је утврђено да се његов ниво повећава три, шест и 24 сата након вјежбања, а затим опада до

базалне вриједности 72 сата од завршетка физичке активности (Peeling et al., 2009b; Roecker, Meier-Buttermilch, Brechtel, Nemeth, & Ganz, 2005). Лиу и сар. су подвргли пацове интензивној физичкој активности на treadmill-у током неколико недјеља. Показали су да је експресија хепцидинске mRNA у јетри значајно повећана и да је код тих пацова постављена дијагноза спортске анемије након пет недјеља интензивног вјежбања (Liu et al., 2011). Ови резултати су били у складу са резултатима истраживања на људима (Auersperger et al., 2012).

Добро је познато да високо интензивна физичка активност може да води до развоја спортске анемије. За разлику од тога тренирање умереног интензитета може бити обећавајући, безбједан и економичан начин за побољшање статуса жељеза у организму. Истраживања су показала да је концентрација серумског жељеза и сатурација трансферина код пацова који су умјерено вјебали, значајно виша у односу на контролну групу. Тиме се повећава транспорт жељеза крвљу до коштане сржи, како би се синтетисали хемоглобин и еритроцити. То доприноси повећању капацитета за транспорт кисеоника ка свим дијеловима тијела, посебно значајно у спорту, ка мишићима (Liu, Duan, Chang, Wang, & Qian, 2006). Студије које су пратиле промјену нивоа хепцидина током умјереног вјежбања су показале да умјерено вјежбање не индукује него смањује експресију хепцидина (Liu et al., 2006; Troadec et al., 2009). Ове студије су показале да је експресија DMT1 и FPN1 у дуоденуму виша код пацова који су повргнути умјереној физичкој активности у односу на контролну групу, што указује на то да умјерено вјежбање може повећати дуоденалну апсорпцију жељеза (Liu et al., 2006).

Студије су показале да повећање фреквенције срца од 60% и мање не доводи до значајног повећања нивоа серумског хепцидина након физичке активности (Troadec et al., 2009). Физичка активност која одговара 65% VO_{2max} доводи до повећане концентрације серумског хепцидина (Newlin et al., 2013; Sim et al., 2013). Интервална физичка активност са 85% VO_{2max} не доводи до већег пораста серумског хепцидина у односу на програм континуиране физичке активности са 65% VO_{2max} (Newlin et al., 2013). Исти обим физичке активности са релативним интензитетом од 70% VO_{2max} смањује хепцидински одговор у поређењу са истим обимом интервалне физич-

ке активности која се врши при 90-95% VO_{2max} (Peeling et al., 2009a). Ова студија је, такође, показала да при нижим интензитетима физичке активности (70% VO_{2max}) концентрација хепцидина се враћа на нормалне вриједности унутар 12 часова од престанка активности, док при вишим интензитетима (90-95% VO_{2max}) ниво хепцидина остаје висок током наредна 24 часа. Може се закључити да вјежбање при интензитету од око 65% VO_{2max} доводи до повећања концентрације серумског хепцидина (Newlin et al., 2013), а максималне вриједности се достижу при интензитету од 90-95% VO_{2max} (Peeling et al., 2009a).

Обим физичке активности

Једна америчка студија је проучавала одговор серумског хепцидина у односу на обим физичке активности. Резултати те студије показали су да код физички активних жена 120 минута вјежбања интензитетом од 65% VO_{2max} на покретној траци (treadmill) доводи до значајно већег одговора хепцидина у односу на исте жене када су вјебале 60 минута истим интензитетом (65% VO_{2max}) (Newlin et al., 2013). То говори да обим физичке активности има значајан утицај на вјежбањем-индукован одговор хепцидина (Domínguez et al., 2014).

Модалитет физичке активности

Једна од студија је поредила модалитете аеробне физичке активности са отпором и њихов утицај на одговор хепцидина. Упоредивани су одговори хепцидина у групама триатлонаца који су возили бицикл и који су трчали при два различита интензитета, 65% VO_{2max} и 85% VO_{2max} . Резултати нису показали значајне разлике у односу на модалитет и интензитет физичке активности, иако је било разлике у концентрацији серумског жељеза и IL-6 (Sim et al., 2013). При поређењу одговора хепцидина код атлетичара који трче на различитим подлогама, трави и асфалту, при фиксном интензитету од 70% VO_{2max} нису нађене значајне разлике у концентрацији хепцидина (Peeling et al., 2009c). Досадашње студије су показале да модалитет физичке активности (бициклизам и трчање) као и врста подлоге (трава и асфалт) не утичу значајно на вјежбањем-индукован одговор хепцидина (Domínguez et al., 2014).

УЛОГА ХЕПЦИДИНА У МЕТАБОЛИЗМУ ЖЕЉЕЗА У ТОКУ ФИЗИЧКЕ АКТИВНОСТИ

Хепцидин може смањити функционалну активност феропортина-1 (FPN1) везујући се директно за њега, што доводи до његове деградације (Nemeth, Tuttle, et al., 2004). Деградацијом феропортина долази до блокирања истицање жељеза из ћелија. На тај начин се смањује излазак жељеза и повећава количина жељеза у ћелијама (Ramey et al., 2010). Третирање макрофага хепцидином значајно снижава ниво FPN1 и смањује истицање жељеза након еритрофагоцитозе (Delaby, Pilard, Gonçalves, Beaumont, & Canonne-Hergaux, 2005; Knutson, Oukka, Koss, Aydemir, & Wessling-Resnick, 2005). Може се закључити да хепцидин ограничава ослобађање жељеза из хепатоцита, макрофага и ентероцита смањујући експресију FPN1 и повећавајући његову разградњу. Истраживања *in vitro* и *in vivo* су показала да се ниво дуоденалне DMT1 смањује након третмана хепцидином (Chung, Chaston, Marks, Srai, & Sharp, 2009; Mena, Esparza, Tapia, Valdés, & Núñez, 2007). То указује на значајну улогу хепцидина у регулацији апсорпције жељеза у цријевима (Kong et al., 2014). Када се све ове чињенице узму у обзир, може се закључити да повећана експресија хепцидина након физичке активности доводи до разградње носача жељеза, као што су DMT1 и FPN1, узрокујући смањену апсорпцију жељеза у танком цријеву и задржавање жељеза у хепатоцитима и макрофагима. Сматра се да је дефицит жељеза код спортиста бар дјелимично узрокован повишеним нивоом хепцидина (Kong et al., 2014).

РЕГУЛАЦИЈА КОНЦЕНТРАЦИЈЕ ХЕПЦИДИНА ФИЗИЧКОМ АКТИВНОШЋУ

Постоји неколико физиолошких и патолошких процеса који регулишу синтезу хепцидина (Hentze, Muckenthaler, Galy, & Camaschella, 2010). Стања у којима је повећана потреба за жељезом (нарочито еритропоетска активност) доводе до смањене хепатоцелуларне синтезе хепцидина. Таква стања су дефицит жељеза, хипоксија, анемија и друга стања која се карактеришу повећаном еритропоетском активношћу. Смањена количина

хепцидина доводи до ослобађања ускладиштеног жељеза и повећане апсорпције жељеза из хране. Са друге стране, инфекција или инфламација узрокују повећану синтезу хепцидина. Повећана синтеза хепцидина доводи до смањења количине жељеза за одвијање еритропоезе. То се сматра механизмом који се налази у основи секвестрације ретикулоендотелног жељеза, поремећаја интестиналне апсорпције жељеза и ниске концентрације серумског жељеза које су карактеристичне за анемију хроничних болести (Kroot et al., 2011). Још увијек се испитују путеви којима статус жељеза, еритропоетска активност, хипоксија и инфламација утичу на експресију хепцидина. Досадашња истраживања су показала да на експресију хепцидина утичу инфламација, статус жељеза у организму, еритропоеза и хипоксија (Kroot et al., 2011).

Регулација концентрације хепцидина инфламацијом у току физичке активности

Физичка активност изазива значајне промјене у имуном систему (Pedersen & Hoffman-Goetz, 2000). Интензивна физичка активност може индуковати значајно повећање проинфламаторних и антиинфламаторних цитокина (Ostrowski, Rohde, Asp, Schjerling, & Pedersen, 1999). Интерлеукин-6 (IL-6) је главни цитокин који се производи у значајније већој количини као одговор на физичку активност у односу на друге цитокине (Margeli et al., 2005; Pedersen & Febbraio, 2012), а мишић који се контрахује највише доприноси производњи IL-6 у току вјежбања (Pedersen, Steensberg, & Schjerling, 2001).

Синтезу хепцидина индукује инфекција или инфламација (Nemeth et al., 2003; Nicolas, Chauvet, et al., 2002), а IL-6 је довољан да индукује експресију хепцидина у току инфламације (Nemeth, Rivera, et al., 2004). Значајно веће количине хепцидинске mRNA у јетри су откривене три до шест сати након стимулације интерлеукином-6. То показује да је производња IL-6 у склетним мишићима који се контрахују посљедица вјежбањем-индукованог повећања хепцидина. Ниво хепцидина повећава се три сата након највеће производње вјежбањем-индукованог IL-6 (Peeling et al., 2009b). Животиње које су третиране са циклоспорином А, инхибитором калцинеурина који смањује плазматски IL-6, у току физичке активности су имале нижи

ниво хепцидина у односу на животиње које су вјежбале, а нису примиле циклоспорин А (Banzet et al., 2012). Ови резултати говоре у прилог томе да је IL-6 укључен у вјежбањем - индуковано повећање експресије хепцидина. У току инфламаторне стимулације, експресија хепцидина, индукована са IL-6, одвија се путем активације 2 сигнална пута: јанус киназа/трансдуксер сигнала и активатора транскрипције-3 (JAK/STAT3) (Vittoria et al., 2015; Wrighting & Andrews, 2006).

Регулација концентрације хепцидина статусом жељеза у току физичке активности

Истраживања на људима и животињама су показала да постоје молекуле које су кључне за регулацију експресије хепцидина циркулишућим жељезом и жељезом ускладиштеним у јетри. Ове молекуле су HFE (hemochromatosis iron protein) (Corradini et al., 2009; Papanikolaou et al., 2004), трансферински рецептор-2 (TfR2) (Kawabata et al., 2005; Nemeth, Roetto, Garozzo, Ganz, & Camaschella, 2005; Wallace et al., 2009) и коштан морфогенетски протеин (BMP) (Babitt et al., 2006). Експресију хепцидина регулишу ћелијска складишта у јетри преко коштаног морфогенетског протеина 6 (BMP6). BMP6 је активирајући лиганд за BMP рецептор (BMPR) и његов ниво одражава ниво ускладиштеног жељеза у јетри. Када је концентрација жељеза у јетри висока, производња BMP6 у јетри се повећава. Тада ослобођени BMP6 из јетре ствара комплекс BMPR и хемојувенила (HJV). Везивање BMP6 за BMPR контролише транскрипцију хепцидина активацијом SMAD пута. Сатурацију трансферина јетра користи као екстрацелуларни сензор за жељезо. Када се повећа сатурација трансферина, HFE се истискује са свог мјеста везивања на TfR1 и реагује са TfR2 стварајући комплекс HFE/TfR2. Овај комплекс учествује у регулацији хепцидина преко активације ERK/MAPK (екстрацелуларним сингалом регулисане киназе/митоген активирајуће протеин киназе) и/или HJV/BMP/SMAD пута (Corradini et al., 2011; Ganz, 2011; Hentze et al., 2010; Meynard et al., 2009; Ramos et al., 2011; Zhang, 2010).

HJV има централну улогу у регулацији експресије хепцидина. Он дјелује као корецептор за BMP, чиме повећава сензитивност BMPR за BMP, а сматра се да различити путеви регулације

хепцидина конвергирају на овај протеин. Новија истраживања показују да HJV има високу експресију не само у јетри, него и у скелетним мишићима. Студије на пацовима су показале да је ниво HJV mRNA у јетри и скелетним мишићима значајно виши код пацова који су вјежбали у односу на контролну групу (Liu et al., 2011). Према томе, експресија хепцидина може бити индукована повишеном вриједношћу HJV у току физичке активности. Ипак, механизам регулације хепцидина преко HJV, у одговору на спортске активности, тек треба да буде детаљно испитан (Kong et al., 2014).

Регулација концентрације хепцидина еритропоезом у току физичке активности

Досадашња истраживања показала су да интензивна физичка активност може довести до повећане еритропоеске активности коштане сржи (Qian et al., 1999; Tian et al., 2012). Доказано је и да повећана еритропоеза може значајно супримирати експресију хепцидина (Nicolas, Chauvet, et al., 2002). Још увијек није довољно позната веза између повећане еритропоезе и смањене експресије хепцидина, као ни молекуле које учествују у томе. Еритропоетин (EPO), ендогени хормон, којег првенствено производе бубрези, представља главни регулатор еритропоезе. EPO промовише пролиферацију и диференцијацију еритроидних прогениторних ћелија (Krantz, 1991). Код спортиста је повећана концентрација серумског EPO, а многе студије су потврдиле да је након третмана са EPO смањена експресије хепатичног хепцидина (Ashby et al., 2010; Nicolas, Viatte, et al., 2002; Roecker et al., 2006). Зато се EPO сматра потенцијалним посредником у регулацији хепцидина. In vitro студије указују на то да се супресија хепцидина са EPO постиже модулацијом C/EBP α mRNA при чему долази до промјена на mRNA хепцидина (Pinto et al., 2008). Ова хипотеза још увијек није потврђена in vivo студијама. Експерименти на животињама су показали да се супресија хепцидина са EPO може опоравити инхибитори-ма еритропоезе (ирадијација и посттрансфузиона полицитемија) (Pak, Lopez, Gabayan, Ganz, & Rivera, 2006; Vokurka, Krijt, Šulc, & Nečas, 2006). То значи да EPO смањује транскрипцију хепцидина само када је еритропоеза активна.

Супресија хепцидина није директно посредована са ЕРО него ту могу бити укључени и други еритропоетски фактори. Фактор диференцијације раста 15 (growth differentiation factor, GDF15), члан суперпородице фактора трансформације-бета, ствара се у еритроидним ћелијама у току сазријевања еритробласта како би се подстакла диференцијација еритроидне лозе (Ramirez et al., 2009). Показано је да количина GDF15 расте одмах непосредно након интензивне физичке активности, опада након 48 сати, али остаје изнад базалне вриједности. Производња GDF15 у потпуности зависи од стимулације еритропоетином (Forejtниковà et al., 2010). GDF15 може да представља везу између еритропоезе и регулације хепцидина где GDF15 постаје фактор супресије хепцидина чија се количина повећава код тежих облика таласемије са неефикасном еритропоезом. У култури хепатоцита, такође, велика количина GDF15 супримира експресију хепцидина (Tanno et al., 2007). Сматра се да хомолог уврнутог протеина гастрологије-1 (TWSG1), еритроидна молекула која дјелује у раној фази еритропоезе, дјелује заједно са GDF15 у инхибицији хепатичне експресије хепцидина преко инхибиције BMP-зависне активације SMAD пута (Tanno et al., 2009).

Регулација концентрације хепцидина хипоксијом у току физичке активности

Многе студије су доказале да тренинзи спортиста на високим надморским висинама могу значајно повећати њихов $VO_2\max$ и масу еритроцита и на тај начин побољшати издржљивост спортисте (Christoulas, Karamouzis, & Mandroukas, 2011; Son, Kim, Kim, Ohno, & Kim, 2012). Истраживања су показала да код планинара долази до адаптације метаболизма жељеза на високим надморским висинама и у стањима хипоксије. У условима хипоксије mRNA дуоденалног DMT1 и FPN1 се повећава, а ниво хепцидина се смањује. Овакве промјене ће довести до повећане апсорпције жељеза из хране и ослобађање жељеза из складишта како би се обезбиједила довољна количина жељеза за хипоксијом - индуковану еритропоезу (Goetze et al., 2013). Ни механизам супресије хепцидина хипоксијом на високим надморским висинама још увијек није познат. Сматра се да хипоксијом индуцибилан фактор транскрипције (hypoxia-inducible transcription factor, HIF), главни регулатор системске и це-

луларне адаптације на хипоксију, има значајну улогу у регулацији хепцидина. HIF може регулисати бубрежну и јетрену синтезу ЕРО директно под утицајем хипоксије. Може се закључити да супресија хепцидина повезана са HIF може да се деси индиректно преко ЕРО-индуковане еритропоезе и активацијом сигналног пута преко GDF15 (Liu, Davidoff, Niss, & Haase, 2012). HIF индукује производњу фурина и трансмембранске серин протеиназе TMPRSS6 (познате као матриптаза-2), двије протеазе које учествују у ослобађању солубилног HJV (s-HJV) одвајањем HJV од ћелијске мембране. S-HJV компетитивно инхибише BMP-индуковану експресију хепцидина (Babitt et al., 2007; Lin, Goldberg, & Ganz, 2005). Тако, HIF може да супримира експресију хепцидина повећаним разлагањем HJV и инхибицијом BMP-индуковане експресије хепцидина (Kong et al., 2014).

ХЕПЦИДИН КОД СПОРТИСТКИЊА

Вјерује се да спортисткиње имају већи ризик од настанка спортске анемије у односу на спортисте због губика жељеза у физиолошким процесима, као што је менструација (McClung, 2012). Доказано је да еритропоеза узрокована крварењем може довести до смањене експресије хепцидина, што доводи до повећања количине жељеза у организму. Употребом серумског ензимом - везаног имуносорбент есеја, доказано је да здраве жене имају ниже вриједности серумског хепцидина у односу на здраве мушкарце (Ganz et al., 2008). Експерименти на животињама су, такође, показали да је крварење узроковано понављаном флеботомијом, повезано са значајним смањењем хепатичког хепцидина (Nicolas, Chauvet, et al., 2002). Ипак још увијек није познат механизам регулације хепцидина који покреће ове разлике у количини хепцидина код мушкараца и жена.

Женски полни хормон естроген може стимулисати експресију хепцидина преко GPR30-BMP6 пута (Ikeda et al., 2012). Супротно томе, тестостерон може супримирали експресију хепцидина преко тестостерон/AR/SMAD или тестостерон/EGF/EGFR сигналног пута (Guo et al., 2013; Latour et al., 2014). Ови резултати уносе пометњу јер је доказано да жене имају нижу концентрацију хепцидина у односу на мушкарце. Може се претпоставити да

физиолошки губитак крви код жена у пременопаузи има спупресивни ефекат на транскрипцију хепцидина, што може у одређеном степену неутралисати стимулишући ефекат естрогена на експресију хепцидина. Уколико спортисткиње немају менструацију, још увијек се код њих може развити анемија због дефицита жељеза брже, у односу на спортисте, због велике количине хепцидина индукованог лучењем естрогена (Kong et al., 2014).

МЕТОДЕ ЗА НЕУТРАЛИЗАЦИЈУ АКТИВНОСТИ ХЕПЦИДИНА

Моноклонална антителијела за хепцидин

Анти-хепцидин хумана антителијела могу се посматрати као потенцијално терапијско средство за лијечење анемије инфламације (AI), која у основи има исте поремећаје као спортска анемија (Cooke et al., 2013). Ова антителијела могу повећати доступност серумског жељеза и да поспјешују хемоглобинизацију еритроцита код мишева и *sinomolgus* мајмуна са AI. Хепцидинска антителијела могу смањити природни клиренс хепцидина, те довести до акумулације хепцидина у организму (Cooke et al., 2013).

Антагониста хепцидина

Идентификоване су мале молекуле, од којих је једна названа фурсултиамин. Она инхибише интеракцију хепцидин-FPN1. Фурсултиамин директно омета везивање хепцидина за FPN1, на тај начин спречавајући хепцидином - индуковану FPN1 убиквитинацију, ендоцитозу и деградацију. То узрокује континуирано истицање жељеза из ћелије без обзира на присуство хепцидина (Fung et al., 2013). Још једна антихепцидинска молекула, која може заштити FPN1 од хепцидином -индуковане деградације, је NOX-H94 (Schwoebel et al., 2013).

МЕТОДЕ ЗА СМАЊЕЊЕ ЕКСПРЕСИЈЕ ХЕПЦИДИНА

Потенцијалне терапијске методе за смањење производње хепцидина би се могле усмјерити на еритропоезу, инфламаторни пут или сигнални пут HJV/BMP/SMAD (Kong et al., 2014).

Допинг са еритропоетином

ЕРО је примарни сигнал који започиње еритропоезу у анемији и условима хипоксије. Због тога се ЕРО посматра као забрањена допинг метода која повећава транспорт кисеоника и капацитет спортске издржљивости. Он се користи да би се повећале спортске перформансе (Gaudard, Varlet-Marie, Bressolle, & Audran, 2003). Међународни олимпијски комитет је 1990. године забранио употребу ЕРО у спорту јер он значајно мијења метаболизам жељеза. Истраживања су показала да употреба рекомбинантног хуманог еритропоетина (rHuEPO) узрокује значајно смањење хепцидинске експресије, што повећава интестиналну апсорпцију жељеза и отпуштање жељеза из макрофага (Kong, Chang, et al., 2008; Kong, Zhao, et al., 2008). Спортисти који користе ЕРО, као забрањено допинг средство, да би побољшали свој учинак, излажу се великом здравственом ризику, јер повишена вриједност хематокрита и дехидрација током интензивног вјежбања може повећати вискозност крви и створити велике кардиоваскуларне проблеме (хипертензију, хипертрофију срца) као и мождану васкуларну конгестију (Piloto et al., 2009).

Анти-IL6 антителијела и STAT модулатори

Антицитокински терапеутици, као што су анти-IL6 антителијела, могу блокирати индукцију хепцидина и појаву анемије (Nishimoto et al., 2019; Song et al., 2010). Мала молекула која инхибише STAT3, означена као AG490, може супримирати транскрипцију хепцидина и повећати концентрацију серумског жељеза код мишева инхибицијом JAK/STAT сигналног пута (Zhang, Wang, Wang, & Liu, 2011). Овакав вид антицитокинске терапије није погодан за примјену јер може нарушити имунитет, те створити повећан ризик за настанак озбиљних инфективних обољења (Van De Vosse & Van Agtmael, 2007).

BMP модулатори

Већ је поменуто да sHJV смањује хепцидинску експресију такмичећи се са HJV и ометајући BMP сигнални пут (Lin et al., 2005). Инхибиција хепцидинске експресије са солубилним хемојувелин-Fc (sHJV.Fc) код пацоваса са AI доводи до

мобилизације складишта жељеза, повећане концентрације серумског жељеза, стимулације еритропоезе и корекције анемије (Theurl et al., 2011). Инхибиција рецептора за ВМР типа I уз помоћ малих молекула, као што је дорзоморфин, такође може ублажити анемију са дефицитом жељеза. Дорзоморфин може блокирати ВМР-посредовану SMAD1/5/8 фосфорилацију, смањити експресију хепцидина и повећати количину серумског жељеза (Yu et al., 2008). Хепарин, као потенцијални инхибитор експресије хепцидина, може индуковати значајно смањење хепцидина код животиња и људи, те на тај начин може довести до повећања количине серумског жељеза. Он дјелује на ВМР6 и блокира SMAD сигнални пут (Poli et al., 2011).

ЗАКЉУЧАК

Хепцидин је пептид чија је улога у организму предмет многих истраживања. Осим што његова концентрација расте у току инфекције, познато је да он може бити један од главних модулатора метаболизма жељеза код физички активних особа. Досадашња истраживања су показала да он може допринијети настанку анемије код спортиста на тај начин што смањује апсорпцију жељеза у пријевима и блокира отпуштање жељеза из ћелија. Тиме његова улога у метаболизму жељеза код спортиста добија већи значај. Од нивоа жељеза у организму зависи снабдевеност мишића кисеоником, а то је кључно за добре спортске резултате.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ashby, D. R., Gale, D. P., Busbridge, M., Murphy, K. G., Duncan, N. D., Cairns, T. D., ... Choi, P. (2009). Plasma hepcidin levels are elevated but responsive to erythropoietin therapy in renal disease. *Kidney International*, 75(9), 976–981.
2. Ashby, D. R., Gale, D. P., Busbridge, M., Murphy, K. G., Duncan, N. D., Cairns, T. D., ... Choi, P. (2010). Erythropoietin administration in humans causes a marked and prolonged reduction in circulating hepcidin. *Haematologica*, 95(3), 505–508.
3. Ashrafiyan, H. (2003). Hepcidin: The Missing Link between Hemochromatosis and Infections. *Infection and Immunity*, 71(12), 6693–6700.
4. Auersperger, I., Knap, B., Jerin, A., Blagus, R., Lainscak, M., Skitek, M., & Skof, B. (2012). The Effects of 8 Weeks of Endurance Running on Hepcidin Concentrations, Inflammatory Parameters, and Iron Status in Female Runners. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 22, 55–63.
5. Babitt, J. L., Huang, F. W., Wrighting, D. M., Xia, Y., Sidis, Y., Samad, T. A., ... Lin, H. Y. (2006). Bone morphogenetic protein signaling by hepcidin regulates hepcidin expression. *Nature Genetics*, 38(5), 531–539.
6. Babitt, J. L., Huang, F. W., Xia, Y., Sidis, Y., Andrews, N. C., & Lin, H. Y. (2007). Modulation of bone morphogenetic protein signaling in vivo regulates systemic iron balance. *Journal of Clinical Investigation*, 117(7), 1933–1939.
7. Banzet, S., Sanchez, H., Chapot, R., Bigard, X., Vaulont, S., & Koulmann, N. (2012). Interleukin-6 contributes to hepcidin mRNA increase in response to exercise. *Cytokine*, 58(2), 158–161.
8. Brugnara, C. (2008). An immunoassay for human serum hepcidin at last: Ganz klar? *Blood*, 112(10), 3922–3923.
9. Christoulas, K., Karamouzis, M., & Mandroukas, K. (2011). “Living high - Training low” vs. “living high - training high”: Erythropoietic responses and performance of adolescent cross-country skiers. *Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 51(1), 74–81.
10. Chung, B., Chaston, T., Marks, J., Srai, S. K., & Sharp, P. A. (2009). Hepcidin Decreases Iron Transporter Expression in Vivo in Mouse Duodenum and Spleen and in Vitro in THP-1 Macrophages and Intestinal Caco-2 Cells. *The Journal of Nutrition*, 139(8), 1457–1462.
11. Cooke, K. S., Hinkle, B., Salimi-Moosavi, H., Foltz, I., King, C., Rathanaswami, P., ... Sasu, B. J. (2013). A fully human anti-hepcidin antibody modulates iron metabolism in both mice and nonhuman primates. *Blood*, 122(17), 3054–3061.

12. Corradini, E., Garuti, C., Montosi, G., Ventura, P., Andriopoulos, B., Lin, H. Y., ... Babitt, J. L. (2009). Bone Morphogenetic Protein Signaling Is Impaired in an Hfe Knockout Mouse Model of Hemochromatosis. *Gastroenterology*, 137(4), 1489–1497.
13. Corradini, E., Meynard, D., Wu, Q., Chen, S., Ventura, P., Pietrangelo, A., & Babitt, J. L. (2011). Serum and liver iron differently regulate the bone morphogenetic protein 6 (BMP6)-SMAD signaling pathway in mice. *Hepatology*, 54(1), 273–284.
14. Delaby, C., Pilard, N., Gonçalves, A. S., Beaumont, C., & Canonne-Hergaux, F. (2005). Presence of the iron exporter ferroportin at the plasma membrane of macrophages is enhanced by iron loading and down-regulated by hepcidin. *Blood*, 106(12), 3979–3984.
15. Domínguez, R., Vicente-Campos, D., Vicente-Campos, D., & Chicharro, J. (2014). Hepcidin response to exercise: A review. *Turkish Journal of Endocrinology and Metabolism*, 18(3), 84–91.
16. Farnaud, Sebastien, Patel, A., & Evans, R. W. (2006). Modelling of a metal-containing hepcidin. *BioMetals*, 19(5), 527–533.
17. Farnaud, Sébastien, Rapisarda, C., Bui, T., Drake, A., Cammack, R., & Evans, R. W. (2008). Identification of an iron-hepcidin complex. *Biochemical Journal*, 413(3), 553–557.
18. Forejtníková, H., Vieillevoye, M., Zermati, Y., Lambert, M., Pellegrino, R. M., Guihard, S., ... Verdier, F. (2010). Transferrin receptor 2 is a component of the erythropoietin receptor complex and is required for efficient erythropoiesis. *Blood*, 116(24), 5357–5367.
19. Fung, E., Sugianto, P., Hsu, J., Damoiseaux, R., Ganz, T., & Nemeth, E. (2013). High-throughput screening of small molecules identifies hepcidin antagonists. *Molecular Pharmacology*, 83(3), 681–690.
20. Galesloot, T. E., Vermeulen, S. H., Geurts-Moespot, A. J., Klaver, S. M., Kroon, J. J., Van Tienoven, D., ... Swinkels, D. W. (2011). Serum hepcidin: Reference ranges and biochemical correlates in the general population. *Blood*, 117(25).
21. Ganz, T., Olbina, G., Girelli, D., Nemeth, E., & Westerman, M. (2008). Immunoassay for Human Serum Hepcidin | Intrinsic LifeSciences. *Am Soc Hematology*, 112(10), 4292–4298.
22. Ganz, Tomas. (2011). Hepcidin and iron regulation, 10 years later. *Blood*, 117(17), 4425–4433.
23. Gaudard, A., Varlet-Marie, E., Bressolle, F., & Audran, M. (2003). Drugs for increasing oxygen transport and their potential use in doping a review. *Sports Medicine*, 33(3), 187–212.
24. Goetze, O., Schmitt, J., Spliethoff, K., Theurl, I., Weiss, G., Swinkels, D. W., ... Geier, A. (2013). Adaptation of iron transport and metabolism to acute high-altitude hypoxia in mountaineers. *Hepatology*, 58(6), 2153–2162.
25. Gunshin, H., Mackenzie, B., Berger, U. V., Gunshin, Y., Romero, M. F., Boron, W. F., ... Hediger, M. A. (1997). Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature*, 388(6641), 482–488.
26. Guo, W., Bachman, E., Li, M., Roy, C. N., Blusztajn, J., Wong, S., ... Bhasin, S. (2013). Testosterone administration inhibits hepcidin transcription and is associated with increased iron incorporation into red blood cells. *Aging Cell*, 12(2), 280–291.
27. Hentze, M. W., Muckenthaler, M. U., Galy, B., & Camaschella, C. (2010). Two to Tango: Regulation of Mammalian Iron Metabolism. *Cell*, 142(1), 24–38.
28. Hunter, H. N., Bruce Fulton, D., Ganz, T., & Vogel, H. J. (2002). The solution structure of human hepcidin, a peptide hormone with antimicrobial activity that is involved in iron uptake and hereditary hemochromatosis. *Journal of Biological Chemistry*, 277(40), 37597–37603.
29. Ikeda, Y., Tajima, S., Izawa-Ishizawa, Y., Kihira, Y., Ishizawa, K., Tomita, S., ... Tamaki, T. (2012). Estrogen regulates Hepcidin expression via GPR30-BMP6-dependent signaling in hepatocytes. *PLoS ONE*, 7(7), 1–9.
30. Jordan, J. B., Poppe, L., Haniu, M., Arvedson, T., Syed, R., Li, V., ... Sasu, B. J. (2009). Hepcidin revisited, disulfide connectivity, dynamics, and structure. *Journal of Biological Chemistry*, 284(36), 24155–24167.
31. Kawabata, H., Fleming, R. E., Gui, D., Moon, S. Y., Saitoh, T., O’Kelly, J., ... Koeffler, H. P. (2005). Expression of hepcidin is down-regulated in

- TfR2 mutant mice manifesting a phenotype of hereditary hemochromatosis. *Blood*, 105(1), 376–381.
32. Kemna, E. H. J. M., Tjalsma, H., Podust, V. N., & Swinkels, D. W. (2007). Mass spectrometry-based hepcidin measurements in serum and urine: Analytical aspects and clinical implications. *Clinical Chemistry*, 53(4), 620–628.
 33. Knutson, M. D., Oukka, M., Koss, L. M., Aydemir, F., & Wessling-Resnick, M. (2005). Iron release from macrophages after erythrophagocytosis is up-regulated by ferroportin 1 overexpression and down-regulated by hepcidin. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(5), 1324–1328.
 34. Kong, W. N., Chang, Y. Z., Wang, S. M., Zhai, X. L., Shang, J. X., Li, L. X., & Duan, X. L. (2008). Effect of erythropoietin on hepcidin, DMT1 with IRE, and hephaestin gene expression in duodenum of rats. *Journal of Gastroenterology*, 43(2), 136–143.
 35. Kong, W. N., Gao, G., & Chang, Y. Z. (2014). Hepcidin and sports anemia. *Cell and Bioscience*, 4(1), 1–11.
 36. Kong, W. N., Zhao, S. E., Duan, X. L., Yang, Z., Qian, Z. M., & Chang, Y. Z. (2008). Decreased DMT1 and increased ferroportin 1 expression is the mechanisms of reduced iron retention in macrophages by erythropoietin in rats. *Journal of Cellular Biochemistry*, 104(2), 629–641.
 37. Krantz, S. B. (1991). Erythropoietin. *Blood*, 77(3), 419–4334.
 38. Krause, A., Neitz, S., Mägert, H.-J., Schulz, A., Forssmann, W.-G., Schulz-Knappe, P., & Adermann, K. (2000). LEAP-1, a novel highly disulfide-bonded human peptide, exhibits antimicrobial activity¹¹The nucleotide sequence data reported in this paper have been submitted to the GenBank/EBI Data Bank with accession number AJ277280. Scanning of this sequence against . *FEBS Letters*, 480(2–3), 147–150.
 39. Kroot, J. J. C., Laarakkers, C. M. M., Geurts-Moespot, A. J., Grebenchtchikov, N., Pickkers, P., Van Ede, A. E., ... Swinkels, D. W. (2010). Immunochemical and mass-spectrometry-based serum hepcidin assays for iron metabolism disorders. *Clinical Chemistry*, 56(10), 1570–1579.
 40. Kroot, J. J. C., Tjalsma, H., Fleming, R. E., & Swinkels, D. W. (2011). Hepcidin in human iron disorders: Diagnostic implications. *Clinical Chemistry*, 57(12), 1650–1669.
 41. Kulaksiz, H., Theilig, F., Bachmann, S., Gehrke, S. G., Rost, D., Janetzko, A., ... Stremmel, W. (2005). The iron-regulatory peptide hormone hepcidin: Expression and cellular localization in the mammalian kidney. *Journal of Endocrinology*, 184(2), 361–370.
 42. Kwapisz, J., Slomka, A., & Zekanowska, E. (2009). Hepcidin and Its Role in Iron Homeostasis. *Ejifcc*, 20(2), 124–128.
 43. Laftah, A. H., Ramesh, B., Simpson, R. J., Solanky, N., Bahram, S., Schümann, K., ... Srai, S. K. S. (2004). Effect of hepcidin on intestinal iron absorption in mice. *Blood*, 103(10), 3940–3944.
 44. Latour, C., Kautz, L., Besson-Fournier, C., Island, M. L., Canonne-Hergaux, F., Loréal, O., ... Roth, M. P. (2014). Testosterone perturbs systemic iron balance through activation of epidermal growth factor receptor signaling in the liver and repression of hepcidin. *Hepatology*, 59(2), 683–694.
 45. Lin, L., Goldberg, Y. P., & Ganz, T. (2005). Competitive regulation of hepcidin mRNA by soluble and cell-associated hemojuvelin. *Blood*, 106(8), 2884–2889.
 46. Liu, Q., Davidoff, O., Niss, K., & Haase, V. H. (2012). Hypoxia-inducible factor regulates hepcidin via erythropoietin-induced erythropoiesis. *Journal of Clinical Investigation*, 122(12), 4635–4644.
 47. Liu, Y.-Q., Chang, Y.-Z., Zhao, B., Wang, H.-T., & Duan, X.-L. (2011). Does Hepatic Hepcidin Play an Important Role in Exercise-Associated Anemia in Rats? are with the College of Physical Education. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 21, 19–26.
 48. Liu, Y. Q., Duan, X. L., Chang, Y. Z., Wang, H. T., & Qian, Z. M. (2006). Molecular analysis of increased iron status in moderately exercised rats. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 282(1–2), 117–123.
 49. Magazanik, A., Weinstein, Y., Dlin, R. A., Derin, M., Schwartzman, S., & Allalouf, D. (1988). Iron deficiency caused by 7 weeks of intensive physical exercise. *European Journal of Applied*

- Physiology and Occupational Physiology*, 57(2), 198–202.
50. Margeli, A., Skenderi, K., Tsironi, M., Hantzi, E., Matalas, A. L., Vrettou, C., ... Papassotiriou, I. (2005). Dramatic elevations of interleukin-6 and acute-phase reactants in athletes participating in the ultradistance foot race Spartathlon: Severe systemic inflammation and lipid and lipoprotein changes in protracted exercise. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 90(7), 3914–3918.
 51. McClung, J. P. (2012). Iron status and the female athlete. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 26(2–3), 124–126.
 52. Melino, S., Garlando, L., Patamia, M., Paci, M., & Petruzzelli, R. (2005). A metal-binding site is present in the amino terminal region of the bioactive iron regulator hepcidin-25. *Journal of Peptide Research*, 66(SUPPL. 1), 65–71.
 53. Mena, N. P., Esparza, A., Tapia, V., Valdés, P., & Núñez, M. T. (2007). Hepcidin inhibits apical iron uptake in intestinal cells. *American Journal of Physiology - Gastrointestinal and Liver Physiology*, 294(1).
 54. Merkel, D., Huerta, M., Grotto, I., Blum, D., Rachmilewitz, E., Fibach, E., ... Shpilberg, O. (2009). Incidence of Anemia and Iron Deficiency in Strenuously Trained Adolescents: Results of a Longitudinal Follow-Up Study. *Journal of Adolescent Health*, 45(3), 286–291.
 55. Meynard, D., Kautz, L., Darnaud, V., Canonne-Hergaux, F., Coppin, H., & Roth, M. P. (2009). Lack of the bone morphogenetic protein BMP6 induces massive iron overload. *Nature Genetics*, 41(4), 478–481.
 56. Nemeth, E., Preza, G. C., Jung, C. L., Kaplan, J., Waring, A. J., & Ganz, T. (2006). The N-terminus of hepcidin is essential for its interaction with ferroportin: Structure-function study. *Blood*, 107(1), 328–333.
 57. Nemeth, E., Rivera, S., Gabayan, V., Keller, C., Taudorf, S., Pedersen, B. K., & Ganz, T. (2004). IL-6 mediates hypoferremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *Journal of Clinical Investigation*, 113(9), 1271–1276.
 58. Nemeth, E., Roetto, A., Garozzo, G., Ganz, T., & Camaschella, C. (2005). Hepcidin is decreased in TFR2 hemochromatosis. *Blood*, 105(4), 1803–1806.
 59. Nemeth, E., Tuttle, M. S., Powelson, J., Vaughn, M. D., Donovan, A., Ward, D. M. V., ... Kaplan, J. (2004). Hepcidin regulates cellular iron efflux by binding to ferroportin and inducing its internalization. *Science*, 306(5704), 2090–2093.
 60. Nemeth, E., Valore, E. V., Territo, M., Schiller, G., Lichtenstein, A., & Ganz, T. (2003). Hepcidin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute-phase protein. *Blood*, 101(7), 2461–2463.
 61. Newlin, M. K., Williams, S., McNamara, T., Harold, T., Swinkels, D. W., & Haymes, E. M. (2013). The Effects of Acute Exercise Bouts on Hepcidin in Women. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 23, 178–186.
 62. Nicolas, G., Chauvet, C., Viatte, L., Danan, J. L., Bigard, X., Devaux, I., ... Vaulont, S. (2002). The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *Journal of Clinical Investigation*, 110(7), 1037–1044.
 63. Nicolas, G., Viatte, L., Bennoun, M., Beaumont, C., Kahn, A., & Vaulont, S. (2002). Hepcidin, a new iron regulatory peptide. *Blood Cells, Molecules & Diseases*, 29(3), 327–335.
 64. Nishimoto, N., Kanakura, Y., Aozasa, K., Johkoh, T., Nakamura, M., Nakano, S., ... Ikeda, Y. (2019). Humanized anti - interleukin-6 receptor antibody treatment of multicentric Castleman disease. 106(8), 2627–2633.
 65. Ostrowski, K., Rohde, T., Asp, S., Schjerling, P., & Pedersen, B. K. (1999). Pro- and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. *Journal of Physiology*, 515(1), 287–291.
 66. Pak, M., Lopez, M. A., Gabayan, V., Ganz, T., & Rivera, S. (2006). Suppression of hepcidin during anemia requires erythropoietic activity. *Blood*, 108(12), 3730–3735.
 67. Papanikolaou, G., Samuels, M. E., Ludwig, E. H., MacDonald, M. L. E., Franchini, P. L., Dubé, M. P., ... Goldberg, Y. P. (2004). Mutations in HFE2 cause iron overload in chromosome 1q-linked juvenile hemochromatosis. *Nature Genetics*, 36(1), 77–82. <https://doi.org/10.1038/ng1274>
 68. Park, C. H., Valore, E. V., Waring, A. J., & Ganz, T. (2001). Hepcidin, a Urinary Antimicrobial

- Peptide Synthesized in the Liver. *Journal of Biological Chemistry*, 276(11), 7806–7810.
69. Pedersen, Bente K, & Febbraio, M. A. (2012). Muscles, exercise and obesity: Skeletal muscle as a secretory organ. *Nature Reviews Endocrinology*, 8(8), 457–465.
 70. Pedersen, Bente Klarlund, & Hoffman-Goetz, L. (2000). Exercise and the immune system: Regulation, integration, and adaptation. *Physiological Reviews*, 80(3), 1055–1081.
 71. Pedersen, Bente Klarlund, Steensberg, A., & Schjerling, P. (2001). Muscle-derived interleukin-6: possible biological effects. *The Journal of Physiology*, 536(2), 329–337.
 72. Peeling, P. (2010). Exercise as a mediator of hepcidin activity in athletes. *European Journal of Applied Physiology*, 110(5), 877–883.
 73. Peeling, P., Dawson, B., Goodman, C., Landers, G., Wiegerinck, E. T., Swinkels, D. W., & Trinder, D. (2009a). Cumulative effects of consecutive running sessions on hemolysis, inflammation and hepcidin activity. *European Journal of Applied Physiology*, 106(1), 51–59.
 74. Peeling, P., Dawson, B., Goodman, C., Landers, G., Wiegerinck, E. T., Swinkels, D. W., & Trinder, D. (2009b). Effects of exercise on hepcidin response and iron metabolism during recovery. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 19(6), 583–597.
 75. Peeling, P., Dawson, B., Goodman, C., Landers, G., Wiegerinck, E. T., Swinkels, D. W., & Trinder, D. (2009c). Training surface and intensity: Inflammation, hemolysis, and hepcidin expression. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 41(5), 1138–1145.
 76. Peslova, G., Petrak, J., Kuzelova, K., Hrdy, I., Halada, P., Kuchel, P. W., ... Vyoral, D. (2009). Hepcidin, the hormone of iron metabolism, is bound specifically to α -2-macroglobulin in blood. *Blood*, 113(24), 6225–6236.
 77. Peters, H. P. E., Laarakkers, C. M. M., Swinkels, D. W., & Wetzels, J. F. M. (2010). Serum hepcidin-25 levels in patients with chronic kidney disease are independent of glomerular filtration rate. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 25(3), 848–853.
 78. Pigeon, C., Ilyin, G., Courselaud, B., Leroyer, P., Turlin, B., Brissot, P., & Loréal, O. (2001). A New Mouse Liver-specific Gene, Encoding a Protein Homologous to Human Antimicrobial Peptide Hepcidin, Is Overexpressed during Iron Overload. *Journal of Biological Chemistry*, 276(11), 7811–7819.
 79. Piloto, N., Teixeira, H. M., Teixeira-Lemos, E., Parada, B., Garrido, P., Sereno, J., ... Reis, F. (2009). Erythropoietin promotes deleterious cardiovascular effects and mortality risk in a rat model of chronic sports doping. *Cardiovascular Toxicology*, 9(4), 201–210.
 80. Pinto, J. P., Ribeiro, S., Pontes, H., Thowfeeq, S., Tosh, D., Carvalho, F., & Porto, G. (2008). Erythropoietin mediates hepcidin expression in hepatocytes through EPOR signaling and regulation of C/EBP α . *Blood*, 111(12), 5727–5733.
 81. Poli, M., Girelli, D., Campostrini, N., Maccarinelli, F., Finazzi, D., Lusciati, S., ... Arosio, P. (2011). Heparin: A potent inhibitor of hepcidin expression in vitro and in vivo. *Blood*, 117(3), 997–1004.
 82. Qian, Z. M., Xiao, D. S., Tang, P. L., Yao, F. Y. D., & Liao, Q. K. (1999). Increased expression of transferrin receptor on membrane of erythroblasts in strenuously exercised rats. *Journal of Applied Physiology*, 87(2), 523–529.
 83. Ramey, G., Deschemin, J. C., Durel, B., Canonne-Hergaux, F., Nicolas, G., & Vaulont, S. (2010). Hepcidin targets ferroportin for degradation in hepatocytes. *Haematologica*, 95(3), 501–504.
 84. Ramirez, J. M., Schaad, O., Durual, S., Cossali, D., Docquier, M., Beris, P., ... Matthes, T. (2009). Growth differentiation factor 15 production is necessary for normal erythroid differentiation and is increased in refractory anaemia with ring-sideroblasts. *British Journal of Haematology*, 144(2), 251–262.
 85. Ramos, E., Kautz, L., Rodriguez, R., Hansen, M., Gabayan, V., Ginzburg, Y., ... Ganz, T. (2011). *and Chronic Iron Loading*. 53(4), 1333–1341. <https://doi.org/10.1002/hep.24178>. Evidence
 86. Reinke, S., Taylor, W. R., Duda, G. N., Von Haehling, S., Reinke, P., Volk, H. D., ... Doehner, W. (2012). Absolute and functional iron deficiency in professional athletes during training and recovery. *International Journal of Cardiology*, 156(2), 186–191.

87. Rivera, S., Nemeth, E., Gabayan, V., Lopez, M. A., Farshidi, D., & Ganz, T. (2005). Synthetic hepcidin causes rapid dose-dependent hypoferrremia and is concentrated in ferroportin-containing organs. *Blood*, 106(6), 2196–2199.
88. Roecker, L., Kowoll, R., Frasz, W., Battal, K., Brechtel, L., Brachmann, S., ... Kiesewettwr, H. (2006). Observation of serum erythropoietin concentrations in female athletes for up to eight days after a marathon run. *Clin Lab*, 52(9–10), 511–513.
89. Roecker, L., Meier-Buttermilch, R., Brechtel, L., Nemeth, E., & Ganz, T. (2005). Iron-regulatory protein hepcidin is increased in female athletes after a marathon. *European Journal of Applied Physiology*, 95(5–6), 569–571.
90. Schranz, M., Bakry, R., Creus, M., Bonn, G., Vogel, W., & Zoller, H. (2009). Activation and inactivation of the iron hormone hepcidin: Biochemical characterization of prohepcidin cleavage and sequential degradation to N-terminally truncated hepcidin isoforms. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 43(2), 169–179.
91. Schwoebel, F., Van Eijk, L. T., Zboralski, D., Sell, S., Buchner, K., Maasch, C., ... Klusmann, S. (2013). The effects of the anti-hepcidin Spiegelmer NOX-H94 on inflammation-induced anemia in cynomolgus monkeys. *Blood*, 121(12), 2311–2315.
92. Sim, M., Dawson, B., Landers, G., Swinkels, D. W., Tjalsma, H., Trinder, D., & Peeling, P. (2013). Effect of exercise modality and intensity on postexercise interleukin-6 and hepcidin levels. *International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism*, 23(2), 178–186.
93. Son, H. J., Kim, H. J., Kim, J. H., Ohno, H., & Kim, C. K. (2012). Erythropoietin, 2,3 DPG, oxygen transport capacity, and altitude training in adolescent alpine skiers. *Aviation Space and Environmental Medicine*, 83(1), 50–53.
94. Song, S. N. J., Tomosugi, N., Kawabata, H., Ishikawa, T., Nishikawa, T., & Yoshizaki, K. (2010). Down-regulation of hepcidin resulting from long-term treatment with an anti-IL-6 receptor antibody (tocilizumab) improves anemia of inflammation in multicentric Castleman disease. *Blood*, 116(18), 3627–3634.
95. Sow, F. B., Florence, W. C., Satoskar, A. R., Schlesinger, L. S., Zwilling, B. S., & Lafuse, W. P. (2007). Expression and localization of hepcidin in macrophages: a role in host defense against tuberculosis. *Journal of Leukocyte Biology*, 82(4), 934–945.
96. Sumboonnanonda, A., Malasit, P., Tanphaichitr, V., Ong-ajyooth, S., Sunthornchart, S., Pattanakitsakul, S., ... Vongjirad, A. (1998). Renal tubular function in betathalassemia. *Pediatric Nephrology*, 12, 80/83.
97. Swinkels, D. W., Girelli, D., Laarakkers, C., Kroot, J., Campostrini, N., Kemna, E. H. J. M., & Tjalsma, H. (2008). Advances in quantitative hepcidin measurements by time-of-flight mass spectrometry. *PLoS ONE*, 3(7), 1–7.
98. Tanno, T., Bhanu, N. V., Oneal, P. A., Goh, S. H., Staker, P., Lee, Y. T., ... Miller, J. L. (2007). High levels of GDF15 in thalassemia suppress expression of the iron regulatory protein hepcidin. *Nature Medicine*, 13(9), 1096–1101.
99. Tanno, T., Porayette, P., Sripichai, O., Noh, S. J., Byrnes, C., Bhupatiraju, A., ... Miller, J. L. (2009). Identification of TWSG1 as a second novel erythroid regulator of hepcidin expression in murine and human cells. *Blood*, 114(1), 181–186.
100. Theurl, I., Schroll, A., Sonnweber, T., Nairz, M., Theurl, M., Willenbacher, W., ... Weiss, G. (2011). Pharmacologic inhibition of hepcidin expression reverses anemia of chronic inflammation in rats. *Blood*, 118(18), 4977–4984.
101. Tian, Y., Zhao, J., Zhao, B., Gao, Q., Xu, J., & Liu, D. (2012). The ratio of sTfR/ferritin is associated with the expression level of TfR in rat bone marrow cells after endurance exercise. *Biological Trace Element Research*, 147(1–3), 261–266.
102. Tomosugi, N., Kawabata, H., Wakatabe, R., Higuchi, M., Yamaya, H., Umehara, H., & Ishikawa, I. (2006). Detection of serum hepcidin in renal failure and inflammation by using ProteinChip System. *Blood*, 108(4), 1381–1387.
103. Troadec, M. B., Lainé, F., Daniel, V., Rochcongar, P., Ropert, M., Cabillic, F., ... Brissot, P. (2009). Daily regulation of serum and urinary hepcidin is not influenced by submaximal cycling exercise in humans with normal iron metabolism.

- European Journal of Applied Physiology*, 106(3), 435–443.
104. Troutt, J. S., Rudling, M., Persson, L., Ståhle, L., Angelin, B., Butterfield, A. M., ... Konrad, R. J. (2012). Circulating Human hepcidin-25 concentrations display a diurnal rhythm, increase with prolonged fasting, and are reduced by growth hormone administration. *Clinical Chemistry*, 58(8), 1225–1232.
105. Tselepis, C., Ford, S. J., McKie, A. T., Vogel, W., Zoller, H., Simpson, R. J., ... Ward, D. G. (2010). Characterization of the transition-metal-binding properties of hepcidin. *Biochemical Journal*, 427(2), 289–296.
106. Valore, E. V. & Ganz, T. (2008). Posttranslational processing of hepcidin in human hepatocytes is mediated by the prohormone convertase furin. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 40(1), 132–138.
107. Van De Vosse, E., & Van Agtmael, M. A. (2007). Targets of anticytokine therapy and the risk of infections in humans and mice. *Current Opinion in Rheumatology*, 19(6), 626–635.
108. Vittoria, M., Falzacappa, V., Spasic, M. V., Kessler, R., Stolte, J., Hentze, M. W., & Muckenthaler, M. U. (2015). STAT3 mediates hepatic hepcidin expression and its inflammatory stimulation. *Blood*, 109(1), 353–359.
109. Vokurka, M., Krijt, J., Šulc, K., & Nečas, E. (2006). Hepcidin mRNA levels in mouse liver respond to inhibition of erythropoiesis. *Physiological Research*, 55(6), 667–674.
110. Wallace, D. F., Summerville, L., Crampton, E. M., Frazer, D. M., Anderson, G. J., & Subramaniam, V. N. (2009). Combined deletion of Hfe and transferrin receptor 2 in mice leads to marked dysregulation of hepcidin and iron overload. *Hepatology*, 50(6), 1992–2000.
111. Wan, L., Bellomo, R., Giantomasso, D. Di, & Ronco, C. (2003). The pathogenesis of septic acute renal failure. *Curr Opin Crit Care*, 9, 496–502.
112. Wrighting, D. M., & Andrews, N. C. (2006). Interleukin-6 induces hepcidin expression through STAT3. *Blood*, 108(9), 3204–3209.
113. Yu, P. B., Hong, C. C., Sachidanandan, C., Babbitt, J. L., Deng, D. Y., Hoyng, S. A., ... Peterson, R. T. (2008). Dorsomorphin inhibits BMP signals required for embryogenesis and iron metabolism. *Nat Chem Biol*, 4(1), 33–41.
114. Zhang, A.-S. (2010). Control of Systemic Iron Homeostasis by the Hemojuvelin-Hepcidin Axis. *Adv. Nutr.*, 1, 38–45.
115. Zhang, S. P., Wang, Z., Wang, L. X., & Liu, S. J. (2011). AG490: An inhibitor of hepcidin expression in vivo. *World Journal of Gastroenterology*, 17(45), 5032–5034.

Примљен: 23.09.2019.

Прихваћен: 28.10. 2019.

Online објављен: 15.11.2019.