

Hepcidina: um importante regulador do metabolismo de ferro na doença renal crônica

Hepcidin: an important iron metabolism regulator in chronic kidney disease

Autores

Sandra Azevedo Antunes¹
 Maria Eugênia Fernandes Canziani²

¹ Hospital Universitário da Universidade Federal de Alagoas.

² Universidade Federal de São Paulo.

RESUMO

Anemia é uma complicação frequente e seu impacto na morbimortalidade é bem conhecido em pacientes com doença renal crônica (DRC). A descoberta da hepcidina e de suas funções contribuíram para melhor compreensão dos distúrbios do metabolismo de ferro na anemia da DRC. Hepcidina é um peptídeo produzido principalmente pelos hepatócitos, e através de sua ligação com a ferroportina, regula a absorção de ferro no duodeno e sua liberação das células de estoque. Altas concentrações de hepcidina descritas em pacientes com DRC, principalmente em estádios mais avançados, são atribuídas à diminuição da excreção renal e ao aumento de sua produção. Elevação de hepcidina tem sido associada à ocorrência de infecção, inflamação, aterosclerose, resistência à insulina e estresse oxidativo. Algumas estratégias foram testadas para diminuir os efeitos da hepcidina em pacientes com DRC, entretanto, serão necessários mais estudos para avaliar o impacto de sua modulação no manejo da anemia nessa população.

Palavras-chave: anemia; doença renal crônica; diálise renal; inflamação; peptídeos.

ABSTRACT

Anemia is a common complication and its impact on morbimortality in patients with chronic kidney disease (CKD) is well known. The discovery of hepcidin and its functions has contributed to a better understanding of iron metabolism disorders in CKD anemia. Hepcidin is a peptide mainly produced by hepatocytes and, through a connection with ferroportin, it regulates iron absorption in the duodenum and its release of stock cells. High hepcidin concentrations described in patients with CKD, especially in more advanced stages are attributed to decreased renal excretion and increased production. The elevation of hepcidin has been associated with infection, inflammation, atherosclerosis, insulin resistance and oxidative stress. Some strategies were tested to reduce the effects of hepcidin in patients with CKD, however more studies are necessary to assess the impact of its modulation in the management of anemia in this population.

Keywords: anemia; chronic; inflammation; peptides; renal dialysis; renal insufficiency.

INTRODUÇÃO

A anemia é uma complicação frequente em pacientes com doença renal crônica (DRC) e seu impacto na morbidade e mortalidade é bem conhecido nessa população.¹⁻³ A anemia se manifesta desde os estádios iniciais e aumenta sua prevalência com a evolução da DRC.⁴ Dados da Sociedade Brasileira de Nefrologia em 2012 mostram que a anemia, definida por hemoglobina < 11 g/dL, estava presente em 34% dos pacientes em diálise, apesar do livre acesso a agentes estimulantes de eritropoiese e suplementação de ferro em nosso país.⁵ A deficiência de eritropoietina

é a principal causa da anemia nessa população,¹ entretanto, fatores como a deficiência de ferro e a inflamação crônica contribuem de forma importante para sua ocorrência.⁶

O ferro é um mineral vital para a homeostase celular. Sua deficiência absoluta ou funcional está associada com comprometimento da síntese de hemoglobina, gerando anemia e redução da oxigenação tecidual.⁷ O ferro utilizado pelo organismo é obtido de duas fontes principais: da dieta e da reciclagem de hemácias senescentes. A homeostase do ferro é regulada por dois mecanismos: um intracelular, de acordo

Data de submissão: 11/03/2016.
 Data de aprovação: 04/05/2016.

Correspondência para:

Maria Eugênia Fernandes Canziani.
 Disciplina de Nefrologia,
 Universidade Federal de São Paulo.
 Rua Pedro de Toledo, nº 282,
 São Paulo, SP, Brasil. CEP:
 04039-000
 E-mail: dialisefor@uol.com.br

DOI: 10.5935/0101-2800.20160053

com a quantidade de ferro presente na célula, e o outro sistêmico, no qual a hepcidina tem papel de destaque.⁸ A descoberta da hepcidina e de seu papel no controle da disponibilização do ferro para os tecidos contribuiu para melhorar a compreensão da fisiopatologia da deficiência de ferro, inclusive na anemia da DRC.⁹

A hepcidina, um peptídeo cujo gene está localizado no cromossomo 19, é sintetizada e secretada por várias células, sendo os hepatócitos seu principal sítio de produção. Essa proteína tem quatro pontes dissulfídicas entre oito resíduos de cisteína, o que lhe confere uma configuração molecular similar à drosomicina, potente antifúngico presente no inseto *Drosophila*.¹⁰

Inicialmente, é sintetizada uma proteína precursora com 84 aminoácidos (pré-pró-hepcidina), que é clivada formando a pré-hepcidina com 60 aminoácidos, e posteriormente a forma ativa, um peptídeo de 25 aminoácidos.^{11,12} Formas com menor número de aminoácidos são menos abundantes e provavelmente representam produtos de degradação.¹¹

Estima-se que 11% da hepcidina plasmática estejam livres na circulação e o restante circule associado à macroglobulina α_2 , uma proteína plasmática com alta afinidade pela hepcidina¹², e à albumina.¹³ O nível sérico da hepcidina-25, determinado com uso da técnica de ELISA em voluntários normais, varia de 2 a 56 ng/mL.¹⁴ A depuração da hepcidina ocorre através de degradação celular após sua ligação com a ferroportina e por excreção renal.¹³

MECANISMO DE AÇÃO DA HEPCIDINA

Apesar da hepcidina ter sido isolada inicialmente na urina humana em 2001,¹⁰ seu papel na homeostase do ferro foi estabelecido em estudos posteriores realizados *in vitro* e em camundongos.¹⁵ A principal ação dessa proteína é controlar o ferro plasmático, em que uma alta expressão de hepcidina diminui o ferro, enquanto sua baixa expressão aumenta a concentração de ferro circulante.

A hepcidina exerce sua função através da sua ligação à ferroportina, uma proteína presente na membrana celular de macrófagos, enterócitos, hepatócitos e sincitiotrofoblastos placentários, impedindo a saída de ferro das células. Após a formação do complexo hepcidina-ferroportina, este é internalizado e posteriormente degradado nos lisossomos.^{11,16,17} Vale ressaltar que a ferroportina é o único poro por onde ocorre a saída de ferro das células.¹⁶ Embora a ferroportina seja um transportador de outros metais como manganês, zinco e cobalto, sua maior afinidade é com o ferro.^{18,19}

REGULAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE HEPCIDINA

A síntese de hepcidina é mediada por processos fisiológicos e patológicos.¹² Fisiologicamente, é regulada pela concentração plasmática de ferro, onde na condição de suficiência, o ferro se liga ao receptor de transferrina 1, deslocando a proteína da hemocromatose. Este complexo se liga ao receptor de transferrina 2, aumentando a transcrição de hepcidina diretamente ou pela ativação do complexo proteína óssea morfogenética 6-hemojuvelin.

Por outro lado, a síntese da hepcidina pode ser suprimida por sinais endócrinos (testosterona, estrogênio e fatores de crescimento) e pela atividade eritropoiética. Contudo, esse mecanismo ainda não está completamente estabelecido.²⁰ A eritroferone, hormônio produzido pelos eritroblastos em resposta à eritropoetina, identificado recentemente, parece ser o mediador da supressão da hepcidina durante a eritropoiese.²¹

Em condições patológicas, tais como deficiência de ferro e hipóxia, ocorre a redução da síntese hepática de hepcidina. Já a presença de infecção, inflamação¹² e atividade física²² induzem o aumento da síntese hepática de hepcidina mediada pela interleucina 6. Elevadas concentrações de hepcidina têm sido descritas em associação com elevados níveis de marcadores inflamatórios (como interleucina 6 e proteína C reativa), de anemia (como hemoglobina e eritropoetina endógena) e de parâmetros de ferro (como ferritina) que neste último caso pode refletir a inibição da saída de ferro dos estoques.²³

IMPLICAÇÕES CLÍNICAS

Em estudos realizados em camundongos, observou-se que na ausência da expressão do gene da hepcidina os animais desenvolviam um quadro semelhante à hemocromatose nos humanos,²⁴ enquanto a excessiva produção desta proteína acarretava anemia por diminuição da disponibilização de ferro para eritrogênese.²⁵

Vale ressaltar que a hepcidina é produzida por vários tipos de células além do hepatócito, tais como macrófagos,²⁶ adipócitos,²⁷ cardiomiócitos²⁸ e células renais (principalmente túbulo distal),²⁹ tendo, além do efeito sobre o metabolismo de ferro, efeitos autócrinos nesses tecidos.¹²

Estudos *in vitro* sugerem um efeito antimicrobiano da hepcidina.¹⁰ Este efeito, entretanto, requer concentrações muito mais elevadas que aquelas encontradas na circulação sanguínea, mesmo em vigência de infecção.¹⁰ Isto sugere que essas altas concentrações parecem ser atingidas localmente em fagossomas de macrófagos

infectados.³⁰ A capacidade da hepcidina em causar ferropenia, ou seja, diminuição do ferro extracelular, também teria efeito protetor sobre o hospedeiro, já que baixos níveis de ferro parecem ser bacteriostáticos¹² e que algumas espécies de bactérias têm o ferro como importante fator para aumento de virulência.³¹

De fato, alguns estudos têm demonstrado que o aumento da hepcidina pode promover elevação do crescimento intracelular de alguns patógenos específicos, entre eles destacam-se a *Salmonella*, *Chlamydia psittaci* e *Legionella pneumophila*,³² justamente por aumentar a concentração de ferro no interior de células infectadas.

Mais recentemente, a expressão da hepcidina foi identificada em várias barreiras epiteliais,^{33,34} que frequentemente confrontam patógenos, incluindo células do túbulo renal.²⁹ Um estudo experimental com camundongos demonstrou que a diminuição da expressão de hepcidina esteve envolvida na diminuição da resistência da barreira epitelial à infecção por *E. coli*. Nesse estudo os autores sugerem a possibilidade de novas estratégias terapêuticas com hepcidina para aumentar a defesa do hospedeiro ou prevenir respostas inflamatórias não-adaptativas que levam a lesão renal em uma variedade de condições infecciosas e não infecciosas.³⁵

Por outro lado nível elevado de hepcidina tem sido considerado um fator de risco independente de aterosclerose em diferentes populações,^{36,37} incluindo pacientes em hemodiálise.^{9,36} Alguns estudos demonstraram o acúmulo de ferro nas células endoteliais e macrófagos da placa de ateroma.³⁸ Além disso, estudos recentes têm demonstrado associação positiva entre a concentração de hepcidina e a espessura média intimal,³⁶ assim como com a velocidade de onda pulso em pacientes em hemodiálise.³⁹

Concentração sérica elevada da hepcidina têm sido associada a maiores níveis de pressão arterial sistólica em indivíduos saudáveis do sexo masculino.⁴⁰ O papel da hepcidina na doença isquêmica não está totalmente esclarecido, mas tem sido sugerida uma associação da elevação de sua concentração à resistência à insulina,⁴¹ inflamação³⁶ e aumento do estresse oxidativo.⁴²

HEPCIDINA NA DRC

Como o rim é responsável pela excreção de hepcidina, muitos estudos têm demonstrado a elevação da concentração desta proteína entre pacientes portadores de DRC, principalmente em estádios mais avançados e em tratamento dialítico.^{12,14,20,43} Coyne⁴³ descreve uma correlação inversa entre a taxa de filtração glomerular e a concentração plasmática de hepcidina nos pacientes com DRC não dialíticos. Alguns autores, entretanto, não

observaram essa associação.⁴⁴ Diferentes métodos de mensuração da hepcidina, estudos com amostras pequenas e características distintas das populações estudadas são os fatores citados para explicar essas diferenças.⁴⁵

Em pacientes submetidos à hemodiálise observa-se elevação das concentrações de hepcidina.^{14,46,47} De fato, Ashby *et al.*¹⁴ descreveram que a mediana da forma ativa da hepcidina foi de 26,5 e 58,5 ng/mL, em pacientes com DRC e sob hemodiálise, respectivamente. Zaritsky *et al.*,⁴⁶ utilizando também método de ELISA, evidenciaram uma mediana ainda mais elevada, de 270 ng/mL em pacientes com DRC e 652 ng/mL em pacientes em tratamento dialítico.⁴⁷

O aumento da concentração de hepcidina na DRC tem sido atribuído não só à diminuição de excreção renal, mas também por aumento de sua síntese em resposta à presença de inflamação,⁹ sendo a hepcidina o elo entre inflamação e os distúrbios do metabolismo de ferro nessa população.³

MÉTODOS DE MEDIDA DE HEPCIDINA

Inicialmente, a determinação dos níveis séricos e urinários de hepcidina era realizada pela detecção de RNAm em animais de laboratório e em culturas de células, sendo apenas raramente realizada em humanos devido à dificuldade técnica.¹⁵ Após o desenvolvimento do método ELISA, que media a pró-hepcidina e não conseguia distinguir entre suas diferentes isoformas, estudos com dosagem sérica dessa proteína começaram a ser realizados.

Contudo, a relevância desses dados é discutível, já que os níveis de pró-hepcidina não se correlacionam com os níveis de hepcidina-25 sérica e urinária.^{15,48} Posteriormente, ensaios de ELISA para hepcidina-25 foram disponibilizados comercialmente e, mais recentemente, dois novos ensaios utilizando espectrometria de massa.^{20,48}

Esta última técnica possibilita uma dosagem quantitativa confiável e de boa reprodutividade de hepcidina sérica e urinária, mas ainda tem um alto custo, o que limita sua utilização na prática clínica.⁴⁸ Existe uma forte correlação entre os ensaios utilizados, no entanto, observamos uma diferença nas concentrações absolutas em diferentes estudos.^{46,47,49} O motivo destas diferenças ainda não está esclarecido, porém claramente dificulta a comparação direta dos valores de hepcidina entre os estudos, bem como o estabelecimento de níveis séricos como referência.⁴⁹

NOVAS PERSPECTIVAS

Apesar de um pouco mais de uma década desde a primeira publicação sobre a hepcidina, um grande

número de pesquisas de terapias encontra-se em desenvolvimento, o que era esperado, considerando o importante papel dessa proteína no metabolismo do ferro e suas várias implicações clínicas.

Alguns estudos tentaram suprimir a expressão da hepcidina modificando diretamente a condição clínica que causou sua elevação. Wang *et al.*⁵⁰ utilizaram anti-BMP com o objetivo de reduzir a expressão da hepcidina e aumentar os níveis séricos de ferro em animais de laboratório com colite. Neste estudo observou-se uma redução das citocinas inflamatórias, porém modesta melhora da anemia. Em estudo com pacientes sob hemodiálise, Antunes *et al.*⁵¹ não observaram efeito da pentoxifilina, utilizada como agente anti-inflamatório, sobre os níveis séricos de hepcidina.

A utilização de estabilizadores de *HIF* (fator induzido por hipóxia) parece reduzir a expressão de hepcidina por uma ação direta, por meio da diminuição de citocinas inflamatórias,⁵²⁻⁵⁴ ou do aumento da eritropoiese, proporcionando uma melhora no perfil de ferro.⁵⁵ Tendo em vista que este fator estimula a produção de eritropoetina e reestabelece o ritmo fisiológico de sua secreção, estabilizadores de *HIF*, que são de administração oral, têm sido estudados como uma nova abordagem terapêutica da anemia da inflamação crônica em pacientes com DRC.^{53,55}

Em estudo recente, Brigandi *et al.*⁵⁶ evidenciaram melhora da anemia utilizando um inibidor de HIF em pacientes portadores de DRC tanto em tratamento conservador quanto em diálise.

Em recente revisão, Fung e Nemeth⁵⁷ descreveram várias estratégias que vêm sendo estudadas para diminuir o efeito da elevação da hepcidina. Entre elas, a diminuição da produção de hepcidina através de ações nas vias regulatórias (via relacionada com ferro, inflamação ou via eritropoiética); a neutralização da hepcidina; a interferência na ligação entre hepcidina com ferroportina (prevenindo a sua degradação); e a estimulação da produção de ferroportina.

Apesar dos grandes avanços no conhecimento desta proteína ao longo da última década, ainda serão necessários mais estudos para avaliar o real impacto da modulação da hepcidina no manejo da anemia na DRC.

REFERÊNCIAS

1. Babitt JL, Lin HY. Mechanisms of anemia in CKD. *J Am Soc Nephrol* 2012;23:1631-4. DOI: <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2011111078>
2. Locatelli F, Pisoni RL, Combe C, Bommer J, Andreucci VE, Piera L, et al. Anaemia in haemodialysis patients of five European countries: association with morbidity and mortality in the Dialysis Outcomes

- and Practice Patterns Study (DOPPS). *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:121-32. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfg458>
3. KDOQI; National Kidney Foundation: KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Anemia in Chronic Kidney Disease. *Am J Kidney Dis* 2006;47:S11-145. PMID: 16678659
4. Ribeiro-Alves MA, Gordan PA. Diagnóstico de anemia em pacientes portadores de doença renal crônica. *J Bras Nefrol* 2014;36:9-12.
5. Sesso RC, Lopes AA, Thomé FS, Lugon JR, Watanabe Y, Santos DR. Relatório do censo brasileiro de diálise crônica 2012. *J Bras Nefrol* 2014;36:48-53. DOI: <http://dx.doi.org/10.5935/0101-2800.20140009>
6. Toto RD. Anemia of chronic disease: past, present, and future. *Kidney Int Suppl* 2003;S20-3. PMID: 14531769 DOI: <http://dx.doi.org/10.1046/j.1523-1755.64.s87.4.x>
7. Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. *N Engl J Med* 2005;352:1011-23. DOI: <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMra041809>
8. Nairz M, Weiss G. Molecular and clinical aspects of iron homeostasis: From anemia to hemochromatosis. *Wien Klin Wochenschr* 2006;118:442-62. PMID: 16957974 DOI: <http://dx.doi.org/10.1007/s00508-006-0653-7>
9. van der Weerd NC, Grooteman MP, Bots ML, van den Dorpel MA, den Hoedt CH, Mazairac AH, et al.; CONTRAST Investigators. Heparin-25 in chronic hemodialysis patients is related to residual kidney function and not to treatment with erythropoiesis stimulating agents. *PLoS One* 2012;7:e39783. PMID: 22808058 DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0039783>
10. Park CH, Valore EV, Warning AJ, Ganz T. Heparin, a urinary antimicrobial peptide synthesized in the liver. *J Biol Chem* 2001;276:7806-10. DOI: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M008922200>
11. Rivera S, Nemeth E, Gabayan V, Lopez MA, Farshidi D, Ganz T. Synthetic hepcidin causes rapid dose-dependent hypoferrremia and is concentrated in ferroportin-containing organs. *Blood* 2005;106:2196-9. PMID: 15933050 DOI: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2005-04-1766>
12. Tsuchiya K, Nitta K. Heparin is a potential regulator of iron status in chronic kidney disease. *Ther Apher Dial* 2013;17:1-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/1744-9987.12001>
13. Ikonen O, Stenman UH, Parkkinen J, Soliymani R, Baumann M, Hämmäläinen E. Binding of hepcidin to plasma proteins. *Clin Chem* 2012;58:1158-60. DOI: <http://dx.doi.org/10.1373/clinchem.2012.186916>
14. Ashby DR, Gale DP, Busbridge M, Murphy KG, Duncan ND, Cairns TD, et al. Plasma hepcidin levels are elevated but responsive to erythropoietin therapy in renal disease. *Kidney Int* 2009;75:976-81. DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2009.21>
15. Kemna EH, Tjalsma H, Willems HL, Swinkels DW. Heparin: from discovery to differential diagnosis. *Haematologica* 2008;93:90-7. PMID: 18166790 DOI: <http://dx.doi.org/10.3324/haematol.11705>
16. Donovan A, Lima CA, Pinkus JL, Pinkus GS, Zon LI, Robine S, et al. The iron exporter ferroportin/Slc40a1 is essential for iron homeostasis. *Cell Metab* 2005;1:191-200.
17. Preza GC, Pinon R, Ganz T, Nemeth E. Cellular catabolism of the iron-regulatory peptide hormone hepcidin. *PLoS One* 2013;8:e58934.
18. Mitchell CJ, Shawki A, Ganz T, Nemeth E, Mackenzie B. Functional properties of human ferroportin, a cellular iron exporter reactive also with cobalt and zinc. *Am J Physiol Cell Physiol* 2014;306:C450-9. PMID: 24304836
19. Loréal O, Cavey T, Bardou-Jacquet E, Guggenbuhl P, Ropert M, Brissot P. Iron, hepcidin, and the metal connection. *Front Pharmacol* 2014;5:128.
20. Tomosugi N, Kawabata H, Wakatabe R, Higuchi M, Yamaya H, Umehara H, et al. Detection of serum hepcidin in renal failure and inflammation by using ProteinChip System. *Blood* 2006;108:1381-7. PMID: 16621968
21. Kautz L, Jung G, Valore EV, Rivella S, Nemeth E, Ganz T. Identification of erythroferrone as an erythroid regulator of iron metabolism. *Nat Genet* 2014;46:678-84. PMID: 24880340

22. Peeling P, Sim M, Badenhorst CE, Dawson B, Govus AD, Abbiss CR, et al. Iron status and the acute post-exercise hepcidin response in athletes. *PLoS One* 2014;9:e93002.
23. Wagner M, Ashby DR, Kurtz C, Alam A, Busbridge M, Raff U, et al. Heparin-25 in diabetic chronic kidney disease is predictive for mortality and progression to end stage renal disease. *PLoS One* 2015;10:e0123072.
24. Nicolas G, Bennoun M, Devaux I, Beaumont C, Grandchamp B, Kahn A, et al. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001;98:8780-5. PMID: 11447267
25. Ganz T. Molecular control of iron transport. *J Am Soc Nephrol* 2007;18:394-400.
26. Pigeon C, Ilyin G, Courselaud B, Leroyer P, Turlin B, Brissot P, et al. A new mouse liver-specific gene, encoding a protein homologous to human antimicrobial peptide hepcidin, is overexpressed during iron overload. *J Biol Chem* 2001;276:7811-9. PMID: 11113132
27. Bekri S, Gual P, Anty R, Luciani N, Dahman M, Ramesh B, et al. Increased adipose tissue expression of hepcidin in severe obesity is independent from diabetes and NASH. *Gastroenterology* 2006;131:788-96. PMID: 16952548
28. Merle U, Fein E, Gehrke SG, Stremmel W, Kulaksiz H. The iron regulatory peptide hepcidin is expressed in the heart and regulated by hypoxia and inflammation. *Endocrinology* 2007;148:2663-8. PMID: 17363462
29. Kulaksiz H, Theilig F, Bachmann S, Gehrke SG, Rost D, Janetzko A, et al. The iron-regulatory peptide hormone hepcidin: expression and cellular localization in the mammalian kidney. *J Endocrinol* 2005;184:361-70.
30. Sow FB, Florence WC, Satoskar AR, Schlesinger LS, Zwilling BS, Lafuse WP. Expression and localization of hepcidin in macrophages: a role in host defense against tuberculosis. *J Leukoc Biol* 2007;82:934-45. PMID: 17609338
31. Abboud S, Haile DJ. A novel mammalian iron-regulated protein involved in intracellular iron metabolism. *J Biol Chem* 2000;275:19906-12. PMID: 10747949 DOI: <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M000713200>
32. Paradkar PN, De Domenico I, Durchfort N, Zohn I, Kaplan J, Ward DM. Iron depletion limits intracellular bacterial growth in macrophages. *Blood* 2008;112:866-74. DOI: <http://dx.doi.org/10.1182/blood-2007-12-126854>
33. Frazier MD, Mamo LB, Ghio AJ, Turi JL. Heparin expression in human airway epithelial cells is regulated by interferon- γ . *Respir Res* 2011;12:100. DOI: <http://dx.doi.org/10.1186/1465-9921-12-100>
34. Schwarz P, Kübler JA, Strnad P, Müller K, Barth TF, Gerloff A, et al. Heparin is localised in gastric parietal cells, regulates acid secretion and is induced by *Helicobacter pylori* infection. *Gut* 2012;61:193-201. DOI: <http://dx.doi.org/10.1136/gut.2011.241208>
35. Houamel D, Ducrot N, Lefebvre T, Daher R, Moulouel B, Sari MA, et al. Heparin as a Major Component of Renal Antibacterial Defenses against Uropathogenic *Escherichia coli*. *J Am Soc Nephrol* 2016;27:835-46. DOI: <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2014101035>
36. Li H, Feng SJ, Su LL, Wang W, Zhang XD, Wang SX. Serum hepcidin predicts uremic accelerated atherosclerosis in chronic hemodialysis patients with diabetic nephropathy. *Chin Med J (Engl)* 2015;128:1351-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.4103/0366-6999.156781>
37. Nakanishi T, Hasuike Y, Otaki Y, Kida A, Nonoguchi H, Kuragano T. Heparin: another culprit for complications in patients with chronic kidney disease? *Nephrol Dial Transplant* 2011;26:3092-100.
38. Shah SV, Alam MG. Role of iron in atherosclerosis. *Am J Kidney Dis* 2003;41:S80-3. PMID: 12612959 DOI: <http://dx.doi.org/10.1053/ajkd.2003.50091>
39. Kuragano T, Itoh K, Shimonaka Y, Kida A, Furuta M, Kitamura R, Yahiro M, et al. Heparin as well as TNF- α are significant predictors of arterial stiffness in patients on maintenance hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26:2663-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfq760>
40. Suárez-Ortegón MF, Arbeláez A, Mosquera M, Moreno-Navarrete JM, Aguilar-Plata C, Fernández-Real JM. Circulating hepcidin is independently associated with systolic blood pressure in apparently healthy individuals. *Arch Med Res* 2015;46:507-13. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.arcmed.2015.07.007>
41. Martinelli N, Traglia M, Campostrini N, Biino G, Corbella M, Sala C, et al. Increased serum hepcidin levels in subjects with the metabolic syndrome: a population study. *PLoS One* 2012;7:e48250. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0048250>
42. Choi SO, Cho YS, Kim HL, Park JW. ROS mediate the hypoxic repression of the hepcidin gene by inhibiting C/EBP α and STAT-3. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;356:312-7. PMID: 17349976 DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2007.02.137>
43. Coyne DW. Heparin: clinical utility as a diagnostic tool and therapeutic target. *Kidney Int* 2011;80:240-4. PMID: 21677632 DOI: <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2011.141>
44. Peters HP, Laarakkers CM, Swinkels DW, Wetzels JF. Serum hepcidin-25 levels in patients with chronic kidney disease are independent of glomerular filtration rate. *Nephrol Dial Transplant* 2010;25:848-53. DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfp546>
45. Swinkels DW, Wetzels JF. Heparin: a new tool in the management of anaemia in patients with chronic kidney disease? *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:2450-3.
46. Zaritsky J, Young B, Wang HJ, Westerman M, Olbina G, Nemeth E, et al. Heparin-a potential novel biomarker for iron status in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:1051-6. DOI: <http://dx.doi.org/10.2215/CJN.05931108>
47. Rubab Z, Amin H, Abbas K, Hussain S, Ullah MI, Mohsin S. Serum hepcidin levels in patients with end-stage renal disease on hemodialysis. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2015;26:19-25. DOI: <http://dx.doi.org/10.4103/1319-2442.148716>
48. Macdougall IC, Cooper AC. Erythropoietin resistance: the role of inflammation and pro-inflammatory cytokines. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:39-43. DOI: http://dx.doi.org/10.1093/ndt/17.suppl_11.39
49. Arezes J, Nemeth E. Heparin and iron disorders: new biology and clinical approaches. *Int J Lab Hematol* 2015;37:92-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.1111/ijlh.12358>
50. Wang L, Trebicka E, Fu Y, Ellenbogen S, Hong CC, Babbitt JL, et al. The bone morphogenetic protein-hepcidin axis as a therapeutic target in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2012;18:112-9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1002/ibd.21675>
51. Antunes SA, Vilela RQ, Vaz JD, Canziani ME. Pentoxifylline does not alter the concentration of hepcidin in chronic kidney disease patients undergoing hemodialysis. *Int J Artif Organs* 2014;37:521-8. DOI: <http://dx.doi.org/10.5301/ijao.5000340>
52. Peyssonnaud C, Nizet V, Johnson RS. Role of the hypoxia inducible factors HIF in iron metabolism. *Cell Cycle* 2008;7:28-32. DOI: <http://dx.doi.org/10.4161/cc.7.1.5145>
53. Ding H, Yan CZ, Shi H, Zhao YS, Chang SY, Yu P, et al. Heparin is involved in iron regulation in the ischemic brain. *PLoS One* 2011;6:e25324. DOI: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0025324>
54. Mastrogiannaki M, Matak P, Keith B, Simon MC, Vaulont S, Peyssonnaud C. HIF-2 α , but not HIF-1 α , promotes iron absorption in mice. *J Clin Invest* 2009;119:1159-66. DOI: <http://dx.doi.org/10.1172/JCI38499>
55. Yousaf F, Spinowitz B. Hypoxia-Inducible Factor Stabilizers: a New Avenue for Reducing BP While Helping Hemoglobin? *Curr Hypertens Rep* 2016;18:23.
56. Brigandi RA, Johnson B, Oei C, Westerman M, Olbina G, de Zoysa J, et al.; PH112844 Investigators. A Novel Hypoxia-Inducible Factor-Prolyl Hydroxylase Inhibitor (GSK1278863) for Anemia in CKD: A 28-Day, Phase 2A Randomized Trial. *Am J Kidney Dis* 2016;67:861-71. DOI: <http://dx.doi.org/10.1053/j.ajkd.2015.11.021>
57. Fung E, Nemeth E. Manipulation of the hepcidin pathway for therapeutic purposes. *Haematologica* 2013;98:1667-76. PMID: 24186312 DOI: <http://dx.doi.org/10.3324/haematol.2013.084624>