

S-Hepcidin (LC-MS/MS)**S-Hepcidin-25 (LC-MS/MS) – NPU28841****Bakgrund, indikation och tolkning**

Hepcidin är själva järnregulatorn i kroppen. Den avgör hur mycket järn som tas upp från födan genom att hämma frisättning av järn från tarmepitelceller och hur mycket järn som görs tillgängligt i blodet genom att hämma frisättning från järndepåerna i benmärg och lever. Hepcidinsyntesen ökar vid tillgång på järn och vid inflammation. Ökningen av hepcidin vid inflammation förklarar uppkomsten av sekundäranemi, det vill säga anemi som uppkommer på grund av inflammatorisk sjukdom. De inflammatoriska cellerna, främst monocyter och lymfocyter, frisätter IL-6 som stimulerar hepcidinsyntesen. Det frisatta hepcidinet blockerar exporten av järn från makrofager till erytroblasterna. Erytroblasterna kan inte tillverka hemoglobin utan järn och mognar därför inte ut till erythrocyter. Hepcidin är också en antimikrobiell peptid, och det var som sådan den först blev känd. Kopplingen mellan järn och inflammation/infektion kan bero på att bakterier behöver järn för att tillväxa. Hepcidin är således både giftigt för bakterier och minskar deras järntillgång.

Syntesen av peptiden hepcidin sker i levern till pro-hepcidin (84 aminosyror, Uniprot P81172) varefter spjälkning till tre subformer sker, Hepcidin 20, 22 respektive 25 (numreringen beror på antalet aminosyror i peptiden). Efter transport ut till blodet har endast hepcidin-25 bioaktivitet genom blockering av ferroportins transportfunktion av järn i tarmceller respektive makrofager.

Halten av hepcidin-25 i blod kan användas för att skilja äkta järnbristanemi som har lågt hepcidin-25, från sekundäranemi som har högt hepcidin-25. Mycket höga nivåer av hepcidin-25 ses vid sepsis. Mycket låga hepcidin-25 nivåer ses vid thalassemi, trots att järntillgången är mycket god. Det förklarar varför thalassempatienter ofta får överskott av järn, sekundär hemokromatos. Mutationer i hepcidingenen leder till primär hemokromatos.

Analysprincip

Serum blandas med en bestämd mängd isotopinmärkt hepcidin-25 och appliceras på en prov-upparbetningskolonn (SPE). Endogent respektive isotopinmärkt hepcidin-25 retarderas på SPE-kolonnen, medan huvuddelen av de endogena ämnena tvättas ut vid det efterföljande tvättsteget. Kvarvarande substanser elueras därefter ut från SPE-kolonnen. Det uppenade provet analyseras med vätskekromatografi/tandem-masspektrometri (LC-MS/MS) i positiv mode (se Bilaga 3). Kvoten hepcidin-25/ isotopinmärkt hepcidin-25 beräknas och koncentrationen bestäms med hjälp av kalibratorer med känd koncentration. Isotopinmärkt hepcidin sätts till patientprover och kalibratorer för att kompensera för så väl experimentella som instrumentella variationer.

Referensintervall

1-12 nmol/L

Metodkaraktistika**Interferenser och felkällor**

Inga kända

Mätområde

0,5 – 100 nmol/L

Metodbeskrivning

S-Hepcidin (LC-MS/MS)Gäller för
Klinisk kemi

LU

Mätosäkerhet

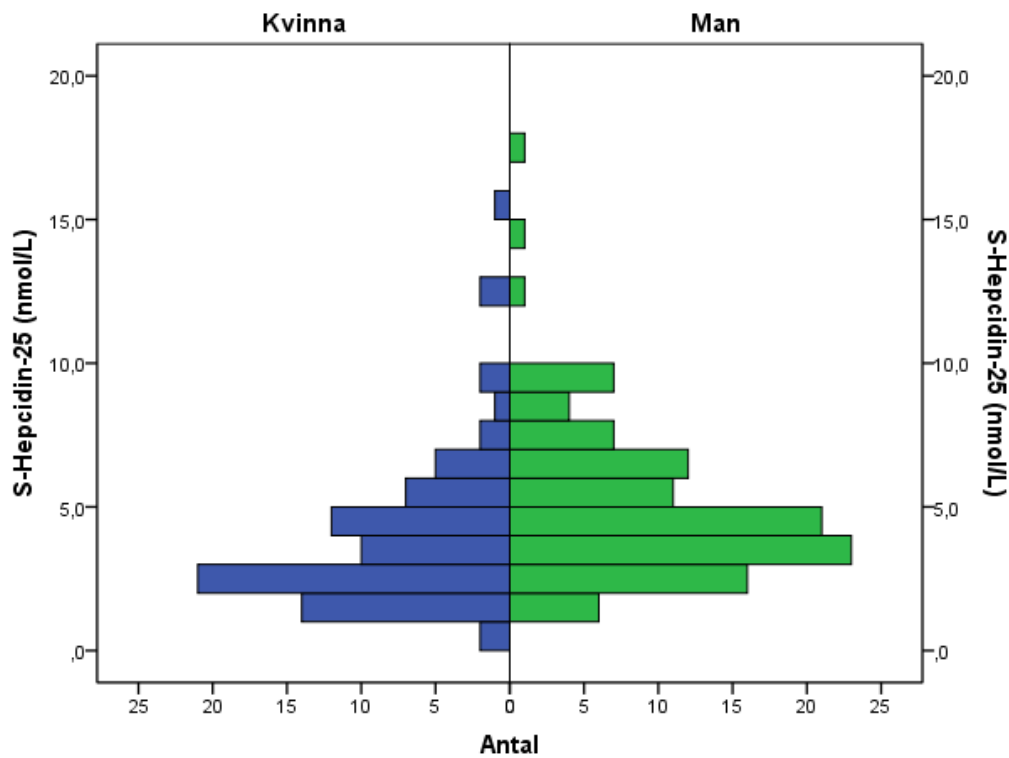
Sammanställning av 2022 års mätosäkerhet.

12 % vid 4,03 nmol/L.

10 % vid 59,4 nmol/L.

Spårbarhet

Egen studie: NOBIDA (figur nedan) sammanställningen ger samma referensområde som Galesloot T.E. et al (ref 2) och Itkonen O. et al (3). Urvalskriterier för normalmaterialet var friska Danska medborgare (ålder 18-84 år) samt Ferritin > 27 µg/L, Transferrinmättnad > 15 % samt CRP < 6 g/L.

**Ackreditering**

Metoden är inte ackrediterad.

Referenser

1. Li H. et al, Development of a method for sensitive and qualitative determination of hepcidin in human serum using LC-MS/MS, J. Pharm. Tox. Meth. 59(3), 171-180, 2009.
2. Galeloot T.E. et al, Serum hepcidin: reference ranges and biochemical correlates in the general population. Blood 117(25), 218-225, 2011.
3. Itkonen O. et al, Preanalytical factors and reference interval for serum hepcidin LC-MS/MS method. Clin Chim Acta 413, 696-701, 2012.