

ГЕМАТОЛОГИЯ

© СУРЖИКОВА Г.С., КЛОЧКОВА-АБЕЛЬЯНЦ С.А., 2017

УДК 616.155.194.8-07:616.153.96-078.33

Суржикова Г.С., Клочкова-Абельянц С.А.

ГЕПСИДИН-25: НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ В ДИАГНОСТИКЕ ЖЕЛЕЗОДЕФИЦИТНЫХ АНЕМИЙ И АНЕМИЙ ХРОНИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

ГБОУ ДПО «Новокузнецкий институт усовершенствования врачей» Минздрава РФ, 654005, Новокузнецк, Российская Федерация

В работе представлены собственные данные по исследованию содержания гепсидина в крови при железодефицитных анемиях и при анемиях, развившихся у пациентов с ревматоидным артритом и при бактериальных инфекциях. Приведены собственные данные по содержанию гепсидина у практически здоровых людей. Полученные результаты исследования свидетельствуют о крайне низком уровне гепсидина при железодефицитной анемии, в то время как у больных с анемией хронических заболеваний содержание гепсидина значимо высоко. Отмечено отсутствие различий в уровнях гепсидина у людей с АХЗ при ревматоидном артрите и при бактериальных инфекциях различной локализации. Исследование уровня гепсидина в сыворотке крови может быть использовано в алгоритме дифференциальной диагностики железодефицитной анемии и функционального дефицита железа.

Ключевые слова: анемия железодефицитная; анемия хронических заболеваний; гепсидин; цитокины.

Для цитирования: Суржикова Г.С., Клочкова-Абельянц С.А. Гепсидин-25: новые возможности в диагностике железодефицитных анемий и анемий хронических заболеваний. Клиническая лабораторная диагностика. 2017; 62 (7): 414-417. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-7-414-417>

Surzhikova G.S., Klochkova-Abelyants S.A.

THE GEPSIDIN-25: NEW POSSIBILITIES IN DIAGNOSTIC OF IRON-DEFICIENCY ANEMIAS AND ANEMIAS OF CHRONIC DISEASES

The Novokuznetskii institute of advanced training of physicians of Minzdrav of Russia, 654005 Novokuznetsk, Russia

The article presents original data concerning analysis of content of hepsidin in blood under iron-deficiency anemia and anemia developed in patients with rheumatoid arthritis and under bacterial infections. The original data is presented related to content of hepsidin in healthy individuals. The obtained study results testify a very low level of hepsidin under iron-deficiency anemia while in patients with anemia of chronic diseases content of hepsidin is significantly higher. The absence of differences is marked related to levels of hepsidin in individuals with anemia of chronic diseases under rheumatoid arthritis and bacterial infections of various localization. The analysis of level of hepsidin in blood serum can be applied in algorithm of differential diagnostic of iron-deficiency anemia and functional iron deficiency.

Key words: iron-deficiency anemia; anemia of chronic diseases; hepsidin; cytokines.

For citation: Surzhikova G.S., Klochkova-Abelyants S.A. The Gepsidin-25: new possibilities in diagnostic of iron-deficiency anemias and anemias of chronic diseases. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics) 2017; 62 (7): 414-417. (in Russ.). DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2017-62-7-414-417>

For correspondence: Klochkova-Abelyants S.A., candidate of medical sciences, associate professor of the chair clinical laboratory diagnostic. e-mail: satenikka@mail.ru

Conflict of interests. The authors declare absence of conflict of interests.

Acknowledgment. The study had no sponsor support.

Received 01.03.2017

Accepted 07.03.2017

В регуляции метаболизма железа принимает участие ряд белков, которые контролируют его всасывание из пищи в тонком кишечнике и рециркуляцию железа из макрофагов. Белки, ответственные за метаболизм железа, экспрессируются в соответствии с потребностью организма. Открыто около 20 регуляторных молекул, контролирующих этот высоко-

организованный процесс. В течение последних лет широко обсуждается роль гепсидина как ключевого регулятора метаболизма железа [1, 2].

Гепсидин – богатый цистеином полипептид (молекулярная масса 470 кДа). Его предшественник – препропептид (84 аминокислоты) – преобразуется в прогормон прогепсидин (60 аминокислот), который протеолитически расщепляется до биоактивного гепсидина – гепсидина-25. Гепсидин синтезируется главным образом гепатоцитами и экскретируется почками.

Для корреспонденции: Клочкова-Абельянц Сатеник Аршавиловна, канд. мед. наук, доц. каф. клин. лаб. диагностики; e-mail: satenikka@mail.ru

Впервые гепсидин выделен из мочи и описан С.Н. Park и соавт. [3]. В дальнейшем этот пептид был выделен также и из плазмы. Гепсидин обладает выраженными антибактериальными свойствами. А.А. Левиной и соавт. [4] установлено, что у человека экспрессия гепсидина в печени отмечается уже на 5-й неделе внутриутробного развития. Эти же авторы показали, что у плодов, погибших вследствие бактериальной инфекции, экспрессия пептида была в десятки раз выше, чем у плодов без признаков инфицирования. В то же время у плодов, умерших от вирусной инфекции, экспрессия гепсидина повышалась незначительно, в среднем примерно в 1,5 раза, что подтверждает преимущественно антибактериальную направленность этого звена врожденного иммунитета.

В последние годы выяснено, что роль гепсидина в организме значительно многограннее, чем только антибактериальная защита, поскольку нарушения в экспрессии гена гепсидина связаны с клиническими отклонениями в показателях обмена железа, а также с анемией [5]. Связь между гепсидином и метаболизмом железа впервые представили С. Pigeon и соавт. [6], которые доказали, что избыток железа способствует экспрессии гена синтета гепсидина, причем было показано, что мРНК экспрессируется не только под воздействием богатой железом диеты, но также и под влиянием липополисахаридов.

В работах, проведенных как в модельных экспериментах на трансгенных линиях мышей, так и на людях с инфекционными заболеваниями и воспалением, было показано, что гиперпродукция гепсидина во время инфекции и воспаления вызывает гипоферримию и может быть ответственна за анемию при хронических заболеваниях [7]. Е. Nemeth и соавт. [8] показано, что через 3 ч после введения агента воспаления происходит увеличение значений провоспалительного цитокина – интерлейкина-6, а уже через 6 ч определяется пик экспрессии гепсидина и снижение уровня железа в сыворотке.

Ведущая роль IL-6 в регуляции продукции гепсидина подтверждается данными о том, что при лечении моноклональными антителами к рецептору интерлейкина-6 у пациентов быстро снижался уровень гепсидина [9].

Уровень гепсидина существенно влияет на лечение анемии при хронической болезни почек, когда воспаление и, возможно, снижение клиренса гепсидина приводит к повышению его плазменного уровня, что способствует ограничению участия железа в эритропоэзе и резистентности к эритропоэтину. Соответственно высокий уровень гепсидина диктует потребность парентерального введения железа для предотвращения нарушения эритропоэза и повышения доз для подавления продукции гепсидина. Низкий уровень гепсидина может быть показателем лучшего ответа на введение препаратов железа. Вполне вероятно, что именно уровень гепсидина может стать уникальным маркером, определяющим тактику терапии препаратами железа.

Нами проведено исследование содержания гепсидина в сыворотке крови при гипохромных анемиях различного генеза с целью оценки роли гепсидина в

формировании анемического синдрома и возможности использования данного показателя в дифференциальной диагностике гипохромных анемий.

Материал и методы. В исследование были включены женщины ($n = 375$) в возрасте от 16 до 60 лет; 79 из них были практически здоровыми и составили контрольную группу, у 296 человек выявлен анемический синдром, из них 103 женщины страдали железодефицитной анемией (ЖДА), 193 – анемией хронических заболеваний (АХЗ). У 121 женщины с АХЗ диагностирована анемия, развившаяся на фоне аутоиммунных заболеваний соединительной ткани (ревматоидный артрит), у 72 – анемия хронических заболеваний при бактериальных инфекциях (хронический тонзиллит, бактериальный эндокардит, хронический пиелонефрит).

Характер анемии устанавливали на основании результатов исследования показателей обмена железа с учетом клинических и гематологических данных. У женщин с АХЗ на фоне ревматоидного артрита (РА) анемия легкой степени тяжести регистрировалась в 69 случаях, средней – у 52 больных. Продолжительность РА составила от 1,5 года до 15 лет, начало заболевания у всех больных имело достаточный характер и в последующем принимало затяжное прогрессирующее течение. Внесуставные симптомы с вовлечением почек, сердца и других органов установлены у 95 больных, у 69 была отмечена умеренная (II) и у 52 – высокая (III) степень активности с функциональной недостаточностью суставов II–III стадии. У 46 женщин с АХЗ при инфекционно-воспалительных заболеваниях легкая степень тяжести анемии, средняя – у 26. Воспалительная реакция подтверждалась высоким уровнем белков острой фазы: С-реактивного белка, α_1 -кислого гликопротеида, неоптерина.

Долабораторное клиническое обследование проводили с помощью анкеты-опросника, включившей разделы, касающиеся жалоб, анамнеза жизни и болезни, наличия сопутствующих заболеваний, данных объективного обследования. Методы исследования включали оценку показателей периферического звена эритрона, метаболизма железа, уровня цитокинов и гепсидина. Исследование показателей периферического звена эритрона и метаболизма железа проводили стандартными общепринятыми способами. Оценивали запасы железа по уровню сывороточного ферритина, который исследовали иммуноферментным методом с использованием тест-систем фирмы Orgentec diagnostika (Германия). Цитокиновый статус (IL-6, ФНО α , ИФН- γ) исследовали с использованием тест-систем фирмы «Вектор-Бест» методом иммуноферментного анализа. Гепсидин-25 в сыворотке у обследованных больных определяли методом ИФА с помощью тестовых систем фирмы Peninsula Laboratories, LLC (США).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программных пакетов MS-EXCEL, MS-WORD, BIostat, Version 4.03. Результаты исследований обрабатывали методом вариационной статистики, для оценки достоверности результатов исследований использовали t -критерий Стьюдента. Нормальное распределение определялось

Таблица 1

Показатели периферического звена эритрона при гипохромных анемиях различного генеза

Показатель	Контрольная группа	АХЗ при инфекционно-воспалительных процессах	АХЗ при РА	ЖДА
Эритроциты, $10^{12}/л$	4,18±0,05	3,23±0,28*	3,52±0,13*	3,57±0,07*
Гемоглобин, г/л	135,88±3,08	91,00±7,55*	103,00±3,87*, **	90,14±1,99*
Гематокрит, %	36,88±1,1	25,4±2,89*	27,02±1,35*	29,09±0,71*
MCV, фл	89,15±1,38	76,00±3,88*	76,67±2,99*	74,8±1,18*
MCH, пг	33,15±0,31	26,8±1,97*	27,99±1,22*, **	23,46±0,64*
MCHC, г/дл	37,44±0,55	34,1±0,89*, **	35,22±0,047*, **	31,28±0,6*
RDW, %	11,09±0,11	16,53±0,92*, **	15,59±0,62*	14,29±0,4*

Примечание. * – достоверность различий показателей по сравнению с контрольной группой при $p < 0,05$; ** – достоверность различий показателей у больных с АХЗ по сравнению с показателями при ЖДА при $p < 0,05$.

Таблица 2

Показатели метаболизма железа у пациентов с АХЗ и ЖДА

Показатель	Контрольная группа	АХЗ при инфекционно-воспалительных процессах	АХЗ при РА	ЖДА
СЖ, мкмоль/л	20,4±1,02	11,07±1,9*	9,52±1,0*	8,44±0,32*
ОЖСС, мкмоль/л	65,68±1,83	53,24±4,5*, **	49,65±6,56*, **	80,96±1,25*
ЛЖСС, мкмоль/л	44,53±1,87	42,91±4,38**	38,42±8,02**	71,41±1,45*
КНТ, %	32,32±1,84	14,99±2,73*	16,74±2,02*, **	11,4±0,52*
СФ, нг/мл	33,55±2,59	178,59±75,52*, **	238,38±64,16*, **	4,91±0,66*
Гепсидин-25, нг/мл	8,07±0,2	39,33±0,38*, **	45,05±0,38*, **	0,25±0,02*

Примечание. Здесь и в табл. 4: * – достоверность различий показателей по сравнению с показателем контрольной группы; ** – достоверность различий показателей у пациентов с АХЗ по сравнению с показателями при ЖДА.

с помощью критерия Шапиро–Уилка. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

Результаты. Результаты исследования периферического звена эритрона у лиц с анемическим синдромом представлены в табл. 1.

При оценке метаболизма железа у всех обследованных больных железodefицитной анемией отмечалось достоверное снижение уровня сывороточного железа и КНТ при значимо повышенных ОЖСС и ЛЖСС по сравнению с таковыми у здоровых лиц ($p = 0$) (табл. 2). Уровень ферритина сыворотки у пациентов с железodefицитной анемией составил в среднем $4,91±0,66$ нг/мл и был значимо ниже по сравнению с таковым в контрольной группе ($p = 0$), что в совокупности с клиническими данными, результатами гематологических исследований и показателями метаболизма железа свидетельствовало о микроцитарном, гипохромном, железodefицитном характере анемии.

Нарушение метаболизма железа у пациентов с АХЗ характеризовалось низким уровнем сывороточного железа, пониженным коэффициентом насыщения трансферрина при высоком содержании сывороточного ферритина (см. табл. 2).

Повышение уровня сывороточного ферритина у пациентов с анемией хронических заболеваний на фоне инфекционно-воспалительных процессов и при ревматоидном артрите происходит параллельно с повышением уровня плазменных белков острой фазы (С-реактивный белок, α_1 -кислый гликопротеид, неоптерин).

У практически здоровых уровень гепсидина варьи-

ровал от 5 до 12 нг/мл, составляя в среднем $8,07±0,2$ нг/мл. При использовании закона Гауссова распределения нормальными лабораторными показателями являются средние значения для здоровой популяции ± 2 стандартных отклонения ($\pm 2SD$). В наших исследованиях $\pm 2SD$ соответствовало значению $\pm 3,74$, соответственно диапазон нормальных показателей гепсидина-25 у здоровых составил от 4,33 до 11,81 нг/мл. У больных с ЖДА с верифицированным дефицитом железа выявлено значительное снижение уровня гепсидина. Содержание гепсидина в сыворотке крови больных ЖДА в среднем составило $0,25±0,02$ нг/мл против такового в контрольной группе – $8,07±0,2$ нг/мл. У больных с АХЗ уровень гепсидина был значимо высоким по сравнению с таковым у здоровых и у пациентов с ЖДА ($p = 0$), причем повышение уровня гепсидина не зависело от этиологии заболевания и локализации воспалительного процесса. Значимых различий в уровнях гепсидина у пациентов с АХЗ на фоне ревматоидного артрита и АХЗ при бактериаль-

Таблица 3

Показатели гепсидина и гемоглобина у больных с АХЗ

Группа пациентов с АХЗ	Показатель		r
	гемоглобин, г/л	гепсидин, нг/мл	
АХЗ при РА	103,0±3,87	45,05±0,38	-0,722, $p = 0,000$
АХЗ при инфекционно-воспалительных процессах	91,0±7,55	39,33±0,38	-0,749, $p = 0,000$

Таблица 4

Содержание провоспалительных цитокинов в сыворотке крови при гипохромных анемиях различного генеза, пг/мл

Показатель	Контрольная группа	АХЗ при инфекционно-воспалительных заболеваниях	АХЗ у пациентов с РА	ЖДА
ФНО α	0,77 \pm 0,1	2,29 \pm 0,56*	8,67 \pm 2,95*, **, ***	0,84 \pm 0,12
IL-6	2,78 \pm 0,23	48,27 \pm 12,86*, **	43,39 \pm 11,93*, **	2,67 \pm 0,47
ИФН- γ	3,41 \pm 0,26	9,97 \pm 1,24*, **	8,2 \pm 0,69*, **	4,52 \pm 0,34*

Примечание. *** – достоверность различий у больных с АХЗ при РА по сравнению с показателями пациентов с АХЗ при инфекционно-воспалительных процессах.

ных инфекциях различной локализации не отмечалось (см. табл. 2).

Высокий уровень гепсидина у больных с АХЗ коррелировал с выраженностью анемического синдрома у них же, при этом имела место обратная корреляционная зависимость (табл. 3).

Наряду с исследованием гепсидина нами было проведено исследование содержания провоспалительных цитокинов в сыворотке крови у обследованных пациентов (табл. 4).

Наиболее выраженное повышение обнаружено нами при оценке уровня IL-6 при значимом увеличении уровня ФНО α и интерферона- γ при АХЗ. Так, средние значения IL-6 в группах с АХЗ на фоне РА и при инфекционно-воспалительных заболеваниях были значимо выше, чем в контрольной, и составили соответственно 43,39 \pm 11,93 пг/мл ($p = 0,005$) и 48,27 \pm 12,86 пг/мл ($p = 0$) против 2,78 \pm 0,23 пг/мл у здоровых (см. табл. 4).

Мы видим, что при АХЗ наблюдается прямая корреляция между сывороточными концентрациями IL-6 и гепсидина. Это согласуется с современными представлениями об активации и повышенном синтезе под влиянием IL-6 железорегуляторного белка гепсидина, играющего роль негативного медиатора в регуляции обмена железа и инкорпорации его в эритроидные клетки, что приводит к железодефицитному эритропоэзу и анемии [10].

Полученные результаты исследования свидетельствуют, что гепсидин служит регулятором обмена железа и может быть использован в алгоритме дифференциальной диагностики АХЗ (функционального дефицита железа) и истинного дефицита железа – железодефицитной анемии. Увеличение гепсидина-25 свыше 11,81 нг/мл свидетельствует об анемии хронических заболеваний, а значение менее 4,33 нг/мл – о железодефицитной анемии (4,33–11,81 нг/мл – диапазон уровня гепсидина-25 у практически здоровых).

Заключение. Снижение уровня гепсидина при ЖДА вполне объяснимо с точки зрения роли гепсидина в метаболизме железа и стремлении организма восполнить запасы железа для обеспечения синтеза гемоглобина в эритроидных клетках костного мозга и восполнения числа эритроцитов. Низкий уровень

гепсидина может служить индикатором скрытого железодефицита, когда еще нет изменения других показателей обмена железа, таких как уровень ферритина. Это имеет важное практическое значение: некорректная трактовка пациента с АХЗ как имеющего дефицит железа влечет за собой неэффективную терапию препаратами железа с риском развития осложнений.

Модуляция биологической активности гепсидина, являющегося ключевым фактором в регуляции гомеостаза железа, обуславливает клинические возможности лечения больных с анемией хронических заболеваний и других гипохромных анемий, связанных с нарушением обмена железа.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1, 3, 5–10 см. REFERENCES)

- Смирнов О.А. Железо – регуляторный гормон печени гепсидин и его место в системе врожденного иммунитета. *Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии.* 2010; 5: 10–4.
- Левина А.А., Казюкова Т.В., Цветаева Н.В. Гепсидин как регулятор гомеостаза железа. *Педиатрия.* 2008; 87 (1): 67–74.

REFERENCES

- Deicher R., Horl W.H. New insights into the regulation of iron homeostasis. *Eur. J. Clin. Inv.* 2006; 36: 301–8.
- Smirnov O. A. The Iron – regulatory liver hormone hepcidin and its place in the system of innate immunity. *Rossiyskiy zhurnal gastroenterologii, gepatologii, koloproktologii.* 2010, 5: 10–4. (in Russian)
- Park C.H., Valore E.V., Waring A.J. et al. Hepcidin: a urinary antibacterial peptide synthesized in the liver. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 7806–10.
- Levina A. A., Kazyukova T. V., Tsvetaeva N. V. Mamukova Yu.I., Romanova E.A. et al. Hepcidin as a regulator of iron homeostasis. *Pediatriya.* 2008; 87 (1): 67–74. (in Russian)
- Nicolas G., Bennoun M., Porteu A. et al. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002; 99 (7): 4596–601.
- Pigeon C., Ilyin G., Courselaud B. et al. A new mouse liver-specific protein homologous to human antibacterial peptide hepcidin is overexpressed during iron overload. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 7811–9.
- Weinstein D., Cindy N., Roy C. et al. Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: implications for the anemia of chronic disease. *Blood.* 2002; 100: 3776–81.
- Nemeth E., Rivera S., Gabajan V. et al. IL-6 mediates hypoferrremia inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J. Clin. Inv.* 2004; 113: 1271–6.
- Kawabata H., Tomosugi N., Kanda J. et al. Anti-interleukin 6 receptor antibody tocilizumab reduces the level of serum hepcidin in patients with multicentric Castleman's disease. *Haematologica.* 2007; 92: 857–8.
- Arnold J., Busbridge M., Sangwaiya A., Bhakal B., Paskaran P., Pal A., Geoghegan F., Kealey T. Prohepcidin Levels in Refractory Anaemia Caused by lead Poisoning. *Case Rep. Gastroenterol.* 2008; 2: 49–53.

Поступила 01.03.17
Принята к печати 07.03.17