

ГЕМАТОЛОГИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2024

Блиндарь В. Н., Зубрихина Г.Н., Климанов И.А

ЭНДОГЕННЫЙ ЭРИТРОПОЭТИН В ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У БОЛЬНЫХ КОЛОРЕКТАЛЬНЫМ РАКОМ С АНЕМИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ, 115522, Москва, Россия

Исследование показателей эритропоэтина (ЭПО), гепсидина -25 (ГП-25), ферритина (ФР) проведено с помощью иммуноферментного анализа в плазме крови у 58 больных колоректальным раком с анемическим синдромом (КРР с АС). Из них были 32 больных с железодефицитной анемией (ЖДА) и 26 больных с функциональным дефицитом железа (ФДЖ) на фоне анемии хронического заболевания (АХЗ). Группу сравнения составили 30 человек (сотрудники Центра) с ЖДА и без онкопатологии, контрольная группа - 30 условно здоровых лиц (сотрудники без онкопатологии и АС). Неадекватная продукция ЭПО отмечалась у большинства больных КРР с ФДЖ с распространенным опухолевым процессом (III - IV стадия), в меньшей степени у больных с I-II стадией КРР и ЖДА. Измерение уровня эндогенного ЭПО можно использовать в клинической практике для дифференциальной диагностики и адекватного лечения АС больных с КРР. Для достижения эффективности лечения АС необходим комплексный и персонализированный подход. Для восстановления метаболизма железа назначают препараты железа. Больным КРР с анемией и относительно низким уровнем значений ЭПО в плазме применяют рекомбинантные человеческие эритропоэтины (rEPO).

Ключевые слова: эритропоэтин; колоректальный рак; анемический синдром; функциональный дефицит железа; ферритин; гепсидин 25

Для цитирования: Блиндарь В. Н., Зубрихина Г.Н., Климанов И.А. Эндогенный эритропоэтин в периферической крови у больных колоректальным раком с анемическим синдромом. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2024; 69 (3): 148-152. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-3-148-152>

Для корреспонденции: Блиндарь Валентина Николаевна, д-р биол.наук, науч. конс.; e-mail: bld51@list.ru

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 30.10.2023

Принята к печати 12.01.2024

Опубликовано 01.03.2024

Blindar V.N., Zubrikhina G.N., Klimanov I.A.

ENDOGENOUS PERIPHERAL BLOOD ERYTHROPOETIN IN PATIENTS WITH COLORECTAL CANCER WITH ANEMIC SYNDROME.

Federal State Budgetary Institution "National Medical Research Center of Oncology N.N. Blokhin, Ministry of Health of the Russian Federation, 115522, Moscow, Russia

The study of erythropoietin (EPO), hepcidin-25 (GP-25), ferritin (FR) levels in blood plasma was carried out using ELISA in 58 patients with colorectal cancer with anemic syndrome (CRC with AS). Of these, there were 32 patients with iron deficiency anemia (IDA) and 26 patients with functional iron deficiency (FID) against the background of anemia of chronic disease (ACD). The comparison group consisted of 30 people (employees of the Center) with IDA and without cancer pathology, control group - 30 conditionally healthy individuals (employees without cancer and AS). Inadequate production of EPO was observed in the majority of patients with CRC with FID in patients with an advanced tumor process (III-IV stage), to a lesser extent in patients with stage I-II CRC and IDA. Measuring the level of endogenous EPO can be used in clinical practice for differential diagnosis and adequate treatment of AS in patients with colorectal cancer. To achieve effective treatment for AS, a comprehensive and personalized approach is required. To restore iron metabolism, iron supplements are prescribed. Recombinant human erythropoietins (rEPO) should be used in patients suffered from colorectal cancer with anemia and relatively low levels of EPO plasma values.

Key words: erythropoietin; colorectal cancer; anemic syndrome; functional iron deficiency; ferritin; hepcidin 25

For citation: Blindar V. N., Zubrikhina G. N., Klimanov I.A. Endogenous erythropoietin in peripheral blood in colorectal cancer patients with anemic syndrome. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2024; 69 (3): 148-152 (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2024-69-3-148-152>

For correspondence: Blindar Valentina Nikolaevna, Dr. biol. science, scientific consultant; e-mail: bld51@list.ru

Information about authors:

Blindar V.N., <https://orcid.org/0000-0002-4630-4988>;

Zubrikhina G.N., <https://orcid.org/0000-0002-5854-9755>;

Klimanov I.A., <https://orcid.org/0000-0001-8593-1098>.

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

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

Received 30.10.2023

Accepted 12.01.2024

Published 01.03.2024

Эритропоэтин (ЭПО) - гормон, который осуществляет контроль пролиферации и дифференцировки клеток-предшественников эритроидного ряда. Другой важной особенностью ЭПО является свойство предотвращать апоптоз на поздних стадиях развития эритрокариоцитов путем торможения их фагоцитоза макрофагами. Действие ЭПО начинается на уровне бурстобразующей эритроидной единицы (КОЕ-е) в костном мозге, увеличивается скорость образования эритроцитов. Основным действием ЭПО является терминальная дифференциация КОЕ в проэритробласты, последующий выход ретикулоцитов костного мозга в кровь и превращение их в зрелые эритроциты [1].

ЭПО вырабатывается почками в ответ на уменьшение тканевой оксигенации. Запасов ЭПО в организме не обнаружено, его референсный уровень в плазме крови 4,3-32,9 мЕ/мл во всех возрастных группах. Норма условная, при развитии анемического синдрома (АС) продукция ЭПО повышается соответственно степени тяжести АС, т.е. имеет место адекватная продукция ЭПО. Эмпирически доказано, что чем ниже уровень HGB, тем выше плазменный уровень ЭПО. Такая ситуация прослеживается у пациентов с начальной стадией ЖДА без онкопатологии. Для онкологических больных с АС характерна неадекватная продукция ЭПО [1,2].

Современные методы лабораторной диагностики позволяют с высокой точностью определять уровень ЭПО в сыворотке крови. ЭПО – важный показатель в оценке АС. Особенно это важно для дифференциальной диагностики железодефицитной анемии (ЖДА) и анемии хронического заболевания (АХЗ). При умеренной и выраженной ЖДА продукция ЭПО считается адекватной при его уровне в плазме более 150 мЕ/мл [2].

Известно, что у больных колоректальным раком (КРР) при диагностике заболевания или в процессе лечения часто выявляется АС, который существенно ухудшает качество жизни и является самостоятельным негативным фактором, снижающим продолжительность жизни. Механизм развития анемии опухолевого заболевания определяется многофакторным воздействием провоспалительных цитокинов на продукцию эритроцитов и обмен железа. В процессе развития опухоли АС проявляется в различных модификациях, связанных с дисбалансом провоспалительных цитокинов [3,4]. Считают, что в результате гиперэкспрессии гепсидина-25 (ГП-25) под воздействием интерлейкина-6 (ИЛ-6) блокируется основной клеточный транспортер железа - ферропортин. Железо не поступает к эритрокариоцитам костного мозга, развивается функциональный дефицит железа (ФДЖ). Некоторые цитокины, в частности, фактор некроза опухоли, тормозят синтез ЭПО почками и также уменьшают доступность железа,

накопленного ретикулоэндотелиальной системой [3,4].

Цель работы: оценить необходимость исследования уровня эндогенного ЭПО в плазме крови у больных КРР с АС для дифференциальной диагностики анемии и адекватного лечения.

Материал и методы. Исследование проведено у 58 больных КРР с АС до лечения, из них 32 больных с ЖДА и 26 больных с ФДЖ на фоне АХЗ. I стадия КРР выявлена у 2 больных, II стадия КРР – у 29, III стадия КРР – у 17, IV стадия – у 10 больных КРР. Группа сравнения состояла из 30 человек без онкопатологии и с железодефицитной анемией (ЖДА). Контрольная группа состояла из 30 человек соответствующего возраста без онкопатологии и АС. Клинический анализ периферической крови проведен на гематологическом анализаторе Sysmex ХЕ-2100 (Япония). Уровень ЭПО в плазме крови определяли иммуноферментным методом (ИФА) с использованием тест-наборов фирмы «Biomerica» (США), содержание ферритина (ФР) - с помощью наборов фирмы Orgentec Diagnostika GmbH (Германия), гепсидина-25 (ГП-25) – наборов Peninsula Laboratories International, Inc. (США) на планшетном фотометре «Multiskan Spectrum» (Финляндия). Критериями диагностики АС считали: у мужчин – уровень гемоглобина (HGB) менее 130 г/л, гематокрит (HCT) менее 39 %; у женщин – уровень HGB менее 120 г/л, HCT менее 36 %. Статистическую обработку полученных данных (определение среднего значения, среднеквадратического отклонения или стандартной ошибки, статистической значимости результатов) проводили с использованием программных пакетов MS Excel Biostat. Для оценки достоверности различия результатов использовали t-критерий Стьюдента, а при непараметрическом распределении - критерий Вилкоксона-Манна-Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05. Исследования выполняли в соответствии с принципами Хельсинкской Декларации, разработанной Всемирной Медицинской Ассоциацией [5].

Результаты. В контрольной группе, при уровнях HGB 14,5±0,7 г/дл и HCT 38,9±2,7%, средние значения ЭПО составили 15,9±3,8 мЕ/мл; ФР - 67,3 ±5,7 нг/мл; ГП-25 - 4,5±0,3 нг/мл. У сотрудников с ЖДА средние значения показателей были равны: HGB - 10,2±0,4 г/дл, HCT - 29,3±4,1%, ФР - 14,2±1,9 нг/мл, ГП-25 - 2,7±0,1 нг/мл. Низкие концентрации этих анализов свидетельствовали о дефиците железа (Fe). При этом показатели уровня ЭПО в среднем по группе с ЖДА составили 191,5±11,2 мЕ/мл и значительно превышали норму (p<0,001) (рис. 1). У больных КРР с ЖДА при показателях HGB 9,8±0,7 г/дл и HCT 28,7±3,4% средняя концентрация ФР (12,7±3,2 нг/мл) и ГП-25 (1,9±0,1 нг/мл)

была снижена по сравнению с контрольной группой ($p < 0,001$). Среднее значение ЭПО в этой группе составило $101,6 \pm 9,3$ мЕ/мл, что достоверно выше, чем в контроле, но ниже, чем у сотрудников с ЖДА ($p < 0,012$).

Напротив, у всех больных КРР с ФДЖ при средних значениях HGB $8,9 \pm 0,7$ г/дл и НСТ - $26,4 \pm 5,1\%$, концентрация ФР ($358,5 \pm 11,7$ нг/мл) и ГП-25 ($44,3 \pm 8,2$

нг/мл) значительно превышала норму ($p < 0,001$). Уровень ЭПО варьировал от 7,2 до 52,0 мЕ/мл (в среднем $27,9 \pm 3,8$ мЕ/мл), что достоверно ниже, чем у сотрудников и больных КРР с ЖДА ($p < 0,001$). Следует отметить, что среди пациентов с ЖДА преобладали больные с I-II стадией КРР, а у большинства больных с ФДЖ выявлена III-IV стадия КРР.

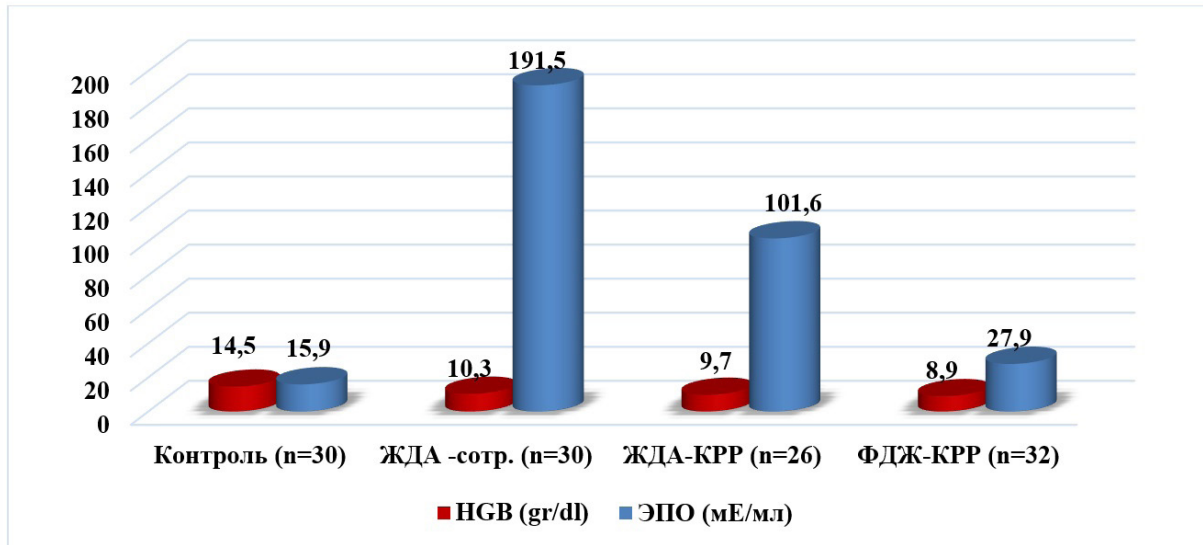


Рис. 1. Показатели уровня эндогенного эритропоэтина у больных колоректальным раком с ЖДА и ФДЖ.

Как упоминалось выше, сигналом для повышения синтеза ЭПО у онкологических больных с АС служит тканевая гипоксия в ответ на уменьшение напряжения кислорода ниже порогового уровня [1,2,6]. Если у больного, страдающего анемией, уровень ЭПО в плазме крови высок, значит, ответная реакция на тканевую гипоксию клеток, продуцирующих гормон, адекватна, однако имеется функциональная недостаточность костного мозга. Низкий уровень ЭПО у больного с АС свиде-

тельствует о недостаточной продукции гормона, которая в ряде случаев может сочетаться с нарушением функции костного мозга [6]. На рис. 2 представлен пример адекватной продукции ЭПО у сотрудников Центра с ЖДА без онкопатологии: концентрация ЭПО превышает норму у некоторых пациентов почти в 10 раз. У больных КРР с функциональным дефицитом железа прослеживается другая ситуация: уровень ЭПО не соответствовал степени тяжести АС у большинства из них (рис.3).

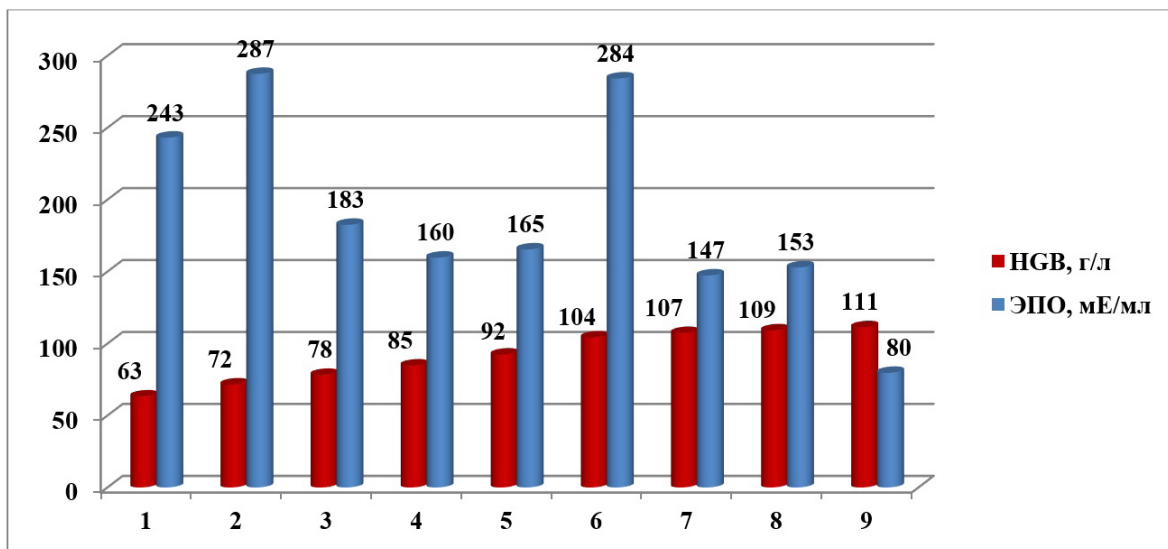


Рис. 2. Уровень эндогенного эритропоэтина в зависимости от степени тяжести анемии у пациентов с ЖДА, без онкопатологии. Здесь и на рис.3. по оси абсцисс – условные номера пациентов, по оси ординат – показатели HGB и ЭПО.

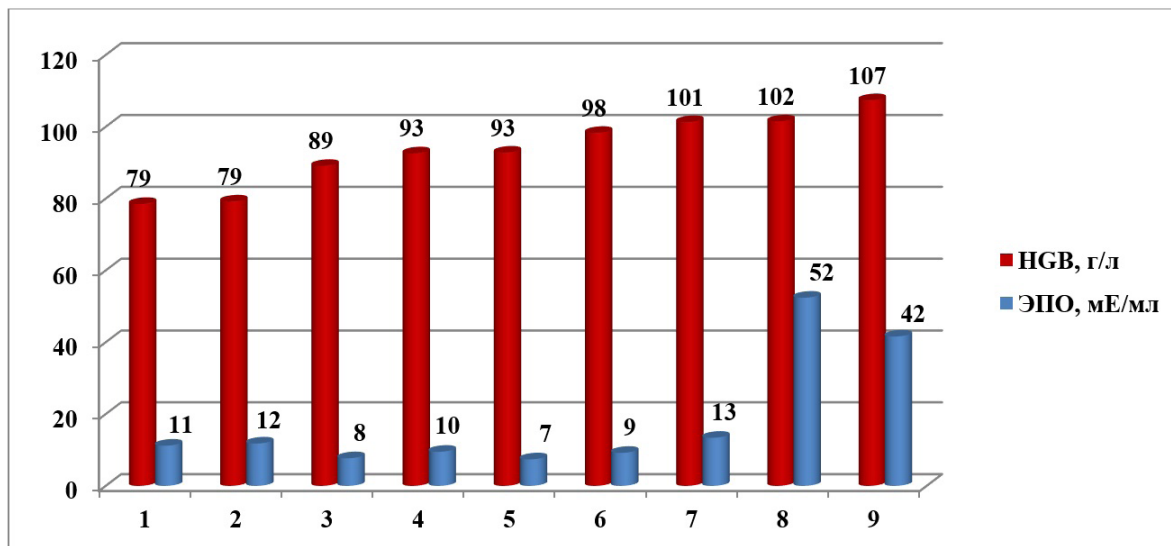


Рис. 3. Уровень эндогенного эритропоэтина в зависимости от степени тяжести анемии у больных колоректальным раком и с ФДЖ.

Обсуждение. Анемия у онкологических больных по-прежнему трудно поддается лечению. Это результат сложного патогенеза анемического синдрома и способности основной патологии к многофакторной модуляции процесса эритропоэза. Неадекватное лечение анемии может быть результатом диагностических ошибок, неадекватной терапии основного заболевания и недооценки пользы препаратов гемопоэтических факторов [7]. Следует подчеркнуть, что нельзя начинать лечение анемии без предварительной оценки метаболизма железа и гематологического анализа, который объективно отражает состояние эритропоэза. Основная цель лечения рака – продление жизни больного. При этом большое внимание в настоящее время, кроме выживаемости, уделяется облегчению симптомов и улучшению или сохранению качества жизни в ходе лечения и после лечения рака. В частности, это касается адекватной терапии АС у больных со злокачественными новообразованиями. Основные цели лечения анемии – уменьшение или устранение ее симптомов, особенно усталости, и улучшение качества жизни. Из-за высокой распространенности анемии, вызванной химиотерапией, и ее влияния на качество жизни даже легкую степень анемии следует выявлять и оценивать до начала лечения [7]. Когда диагноз АС установлен, ключевым вопросом становится определение типа дефицита железа: является ли он абсолютным (истинным) или функциональным? Принципиальная разница между ними состоит в том, что в случае абсолютного дефицита назначение препаратов железа приводит к активации эритропоэза. В периферической крови значительно увеличивается число ретикулоцитов, их объем и среднее содержание гемоглобина (RET-HE) восстанавливаются до нормы, что свидетельствует об адекватности проводимой терапии. При этом скорость восстановления эритропоэза может быть очень низкой, так как ЖДА у онкологических больных очень часто сочетается с недостаточной секрецией ЭПО [2]. Поэтому для обеспечения эффективности лечения ЖДА необходим комплексный

подход: для восстановления метаболизма железа назначают препараты железа, для усиления эритропоэза в костном мозге применяют рекомбинантные человеческие эритропоэтины (rEPO). Такая же схема лечения оправдана и для ФДЖ, поскольку есть данные, что ЭПО может воздействовать и на секрецию белка ГП-25 (неизвестными путями), снижая его концентрацию [8]. При сочетании неадекватно низкой продукции ЭПО с ФДЖ у онкологических больных с АС введение rEPO может привести к разблокировке железа в макрофагах и, как следствие, активации эритропоэза в костном мозге [8]. Гормон ЭПО необходим для выживания, пролиферации и дифференциации эритроидных предшественников [1,2]. Однако у врачей-онкологов существуют оправданные опасения относительно назначения rEPO, так как не исключен риск сокращения выживаемости и прогрессирования опухоли. В некоторых публикациях предполагалась потенциальная роль рецептора ЭПО (EpoR) на опухолевых клетках в прогрессировании опухоли [9,10]. Однако в более поздних работах при использовании специфических антител к этому рецептору доказательств негативного влияния rEPO на выживаемость онкологических больных не продемонстрировано [3,10]. Хотя нет абсолютных клинических доказательств того, что введение агентов, стимулирующих эритропоэз, способствует росту опухоли и смертности, на практике для коррекции АС rEPO широко применяются. Рекомендации ограничиваются лишь тем, что rEPO не следует назначать пациентам с активным онкологическим процессом, не получающим химио- или лучевую терапию. rEPO следует отменить после завершения курса химиотерапии, при этом целевой уровень HGB должен составлять не выше 120 г/л. Следует избегать повышения уровня HGB более чем на 20 г/л за 4-х недельный период [3]. Как отмечено выше, есть данные, что ЭПО может воздействовать и на секрецию белка ГП-25, снижая его концентрацию. При этом оправдано внутривенное введение препаратов железа при назначении rEPO, так как при ускорении

эритропоэза может развиваться абсолютный дефицит железа. Первое одобрение рекомбинантные ЭПО получили для терапии анемии у пациентов с хронической почечной недостаточностью [3,7]. В 1993 году FDA (U.S. Food and Drug Administration) также одобрило их для лечения анемии у онкологических больных. В настоящее время доступны различные препараты рекомбинантных ЭПО короткого и длительного действия: г-НуЕРО α , г-НуЕРО β и дарбопозтин- α . Рекомбинантные ЭПО являются биологически и фармакологически активными при введении внутривенно, внутривенно, но особенно подкожно. Стандартный терапевтический режим составляет 150 МЕ/кг или 12 000 МЕ 3 раза в неделю или 40 000 МЕ один раз в неделю для г-НуЕРО α [7,10].

Существуют разные мнения по поводу необходимости определения уровня эндогенного ЭПО при назначении гЕРО. В этом вопросе мы не согласны с рядом авторов [11], которые считают, что это делать необязательно. Исследования, проведенные ранее на большом клиническом материале [12], свидетельствуют об обратном: только 70–78 % онкологических больных с АС имеют относительно низкий уровень ЭПО, у остальных он более чем достаточный, иногда превышает норму в десятки раз. Об этом свидетельствует и настоящее исследование. У большинства больных КРР и с ЖДА продукция ЭПО была адекватной степени тяжести АС. Есть ли необходимость дополнительно вводить гЕРО этой группе пациентов? Вопрос дискуссионный, тем более, что это дорогостоящий метод лечения, имеющий ряд противопоказаний.

Заключение. Проведенное исследование показало, что измерение уровня эндогенного ЭПО, наряду с показателями феррокинетики, можно использовать в клинической практике для дифференциальной диагностики и адекватного лечения АС у больных КРР. Неадекватная продукция ЭПО отмечалась у большинства больных КРР с ФДЖ и, следовательно, у пациентов с распространенным опухолевым процессом (III - IV стадия); в меньшей степени - у больных с I-II стадией КРР и ЖДА. Для обеспечения эффективности лечения АС необходим комплексный персонализированный подход: восстановление метаболизма железа путем назначения его препаратов, и ускорение образования эритроцитов путем применения гЕРО у больных с относительно низким уровнем значений ЭПО в плазме крови.

ЛИТЕРАТУРА (П.П. 3-6, 8-10 СМ. R E F E R E N C E S)

1. Павлов А.Д., Моршчакова Е.Ф., Румянцев А.Г. Эритропоэз, эритропоэтин, железо. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2011. ISBN 978 5 9704 1986 1.
2. Блиндарь В.Н., Зубрихина Г.Н., Давыдова Т.В., Добровольская М.М., Хагажеева М.Н., Снеговой А.В. и др. Особенности метабо-

- лизма железа у больных раком молочной железы до адьювантной химиотерапии. *Российский биотерапевтический журнал*. 2022; 21(1): 33-41. DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-33-41.
7. Хагажеева М.Н., Снеговой А.В., Блиндарь В.Н., Келеметов А.М., Старостин Н.М., Таашева З.З. Лечение анемического синдрома у пациентов, получающих хирургическое и химиотерапевтическое лечение по поводу рака молочной железы и колоректального рака. *Медицинский совет (электронная версия)*. 2023; 3(7): 1-10. DOI: 10.21518/ms2023-228.
11. Рукавицын О.А. Актуальные вопросы диагностики и лечения анемии при хронических заболеваниях. *Онкогематология*. 2012; 5(4): 296-304.
12. Блиндарь В.Н., Зубрихина Г.Н., Матвеева И.И. Новая концепция диагностики анемии с нарушением метаболизма железа. *Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина*. 2015; 26(4-1):77-85.

REFERENCES

1. Pavlov A.D., Morshchakova E.F., Rumyantsev A.G. Erythropoiesis, erythropoietin, iron. Moscow: GEOTAR-Media; 2011. ISBN 978 5 9704 1986 1. (in Russian)
2. Blindar' V.N., Zubrikhina G.N., Davy'dova T.V., Dobrovolskaya M.M., Xagazheeva M.N., Snegovoy A.V. et al. Features of iron metabolism in breast cancer patients before adjuvant chemotherapy. *Rossiyskiy bioterapevticheskiy zhurnal*. 2022; 21(1): 33-41. DOI: 10.17650/1726-9784-2022-21-1-33-41. (in Russian)
3. Aapro M., Beguin Y., Bokemeyer C., Dicano M., Gascón P., Glaspie J. et al. Management of anemia and iron deficiency in patients with cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines. *Ann. Oncol.* 2018; 29(4): 96-110. DOI: 10.1093/annonc/mdx758.
4. Nemeth E., Ganz T. Hepcidin-ferroportin interaction controls systemic iron homeostasis. *Int. J. Mol. Sci.* 2021; 22: 6493. DOI: 10.3390/ijms221264937.
5. World Medical Association, Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. *JAMA*. 2013; 310(20): 2191-4. PMID: 24141714, DOI: 10.1001/jama.2013.281053.
6. Drücke T.B., Massy Z.A. Erythropoiesis-Stimulating Agents and Mortality. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2019; 30(6): 907-8. DOI: 10.1681/ASN.2019030266.
7. Xagazheeva M.N., Snegovoy A.V., Blindar' V.N., Kelemetov A.M., Starostin N.M., Taasheva Z.Z. Treatment of anemic syndrome in patients receiving surgical and chemotherapy treatment for breast and colorectal cancer. *Meditsinskiy sovet (e`lektronnaya versiya)*. 2023; 3(7): 1-10. DOI: 10.21518/ms2023-228. (in Russian)
8. Sasaki U., Noguchi-Sasaki M., Yasuno H., Yorozu K., Shimonaka Y. Stimulation with erythropoietin reduces the expression of hepcidin due to the hematopoietic activity of bone marrow cells in mice. *Int. J. Hematol.* 2012; 96(6): 692-700.
9. Henke M., Mattern D., Pepe M., Bezayet Ch. Do erythropoietin receptors on cancer cells explain unexpected clinical findings? *Clin. Oncol.* 2006; 24(29): 4708-13.
10. Andersen A.B., Bonn T.K., Bader J., Jung G., Ganz T., Nemeth E. et al. Effect of altitude and recombinant human erythropoietin on iron metabolism: a randomized controlled trial. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2021; 321(2): 152-61. DOI: 10.1152/ajp-regu.00070.2021. Epub 2021 June 23.
11. Rukavitsyn O.A. Topical issues of diagnosis and treatment of anemia in chronic diseases. *Onkogematologiya*. 2012; 5(4): 296-304. (in Russian)
12. Blindar' V.N., Zubrikhina G.N., Matveeva I.I. A new concept for diagnosing anemia with impaired iron metabolism. *Vestnik Rossiyskogo onkologicheskogo tsentra im. N.N. Blokhina*. 2015; 26(4-1): 77-85. (in Russian)