

## КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ УРОВНЯ ГЕПСИДИНА В РЕГУЛЯЦИИ ОБМЕНА ЖЕЛЕЗА У БОЛЬНЫХ С ВОСПАЛИТЕЛЬНЫМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КИШЕЧНИКА

Дроздов В.Н., Парфенов А.И., Лищинская А.А., Носкова К.К., Ткаченко Е.В., Варванина Г.Г.

ГУЗ Центральный научно-исследовательский институт гастроэнтерологии ДЗ г. Москвы

Лищинская Альбина Александровна

111123, Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86

E-mail: gastroenter@rambler.ru

### РЕЗЮМЕ

Гепсидин — железорегулирующий белок, который ингибирует ферропортин, ограничивая транспорт железа в клетку ворсинками тонкой кишки и блокируя выход железа из макрофагов. Это приводит к нарушению гомеостаза железа, железодефициту и развитию анемии.

*Цель:* изучить уровень гепсидина у больных ВЗК и определить его прогностическое значение для развития анемии.

*Материал и методы.* Обследовано 80 больных ВЗК — 45 (56%) мужчин и 35 (44%) женщин, средний возраст больных составил  $39,0 \pm 15,8$  года. У 40 больных с анемией и 40 больных с ВЗК без анемиического синдрома было проведено изучение состояния обмена железа, уровня гепсидина, ФНО- $\alpha$ , С-реактивного белка.

*Результаты.* Средний уровень гепсидина в крови больных с ВЗК составлял  $337,2 \pm 184,6$  пг/мл. У больных с уровнем гепсидина выше 300 пкг/мл уровень гемоглобина был достоверно ниже, уменьшалось насыщение трансферрина железом. Повышение уровня гепсидина сопровождалось достоверным повышением растворимого рецептора трансферрина; отмечались достоверно более высокие содержание ФНО- $\alpha$ , прямая корреляционная зависимость между уровнем гепсидина и повышением ФНО- $\alpha$  ( $r = 0,54$ ;  $p < 0,001$ ); повышение уровня гепсидина сопровождалось снижением уровня гемоглобина, коэффициент корреляции  $r = -0,31$ ;  $p = 0,005$ . Это приводило к увеличению частоты анемии у больных с высоким уровнем гепсидина. В группе больных со значением гепсидина выше 300 пкг/мл было 14 (35%) больных с анемией, что достоверно чаще, чем у больных с уровнем гепсидина менее 300 пкг/мл, — 5 (12,5%),  $p = 0,036$ . Между уровнем гепсидина, гемоглобином и частотой анемии был рассчитан относительный риск (ОР) развития анемии в зависимости от степени его повышения. При повышении его выше 300 ng/ml ОР составил 2,2 (0,93–5,18; 95% ДИ), а при повышении выше 500 ng/ml ОР составил 3,18 (1,95–5,19; 95% ДИ).

*Заключение.* При ВЗК системная воспалительная реакция приводит к повышению уровня гепсидина и увеличивает риск развития анемии при ВЗК. Определение гепсидина у больных ВЗК позволяет выделить группу риска больных по анемии и уточнить эффективность базисной терапии заболевания.

### SUMMARY

Gepsidin is an iron regulatory protein that inhibits ferroportin, limiting the transport of iron into the cell of the small intestine villi and blocking the exit of iron from macrophages, that often leads to disruption of iron homeostasis, iron deficiency and the development of anemia.

The Aim was to study the levels of hepsidin in patients with IBD and determine its prognostic significance for the development of anemia. We examined 80 patients with IBD, 45 (56%) men and 35 (44%) women with the average age of  $39,0 \pm 15,8$  years. In 40 patients with anemia and 40 patients with IBD without anemia syndrome, studies were conducted in the status of iron metabolism, the level of hepsidin, TNF, C-reactive protein.

Conclusion: IBD with systemic inflammatory response leads to increased levels hepsidina and increases the risk of anemia in IBD. Determination of hepsidin in IBD patients enables identify patients at risk for anemia and to clarify the effectiveness of the basic treatment of the disease.

Анемия хронических заболеваний (АХЗ) занимает второе место по частоте анемии при ВЗК после анемий, обусловленных дефицитом железа [1; 2]. АХЗ протекает как рефрактерная анемия, возникающая в результате нарушения утилизации запасов железа [3]. Патогенез АХЗ обусловлен нарушением эритропоэза: снижение чувствительности клеток-предшественников к действию эритропоэтина, сокращение продолжительности жизни эритроцитов, неспособность эритробластов утилизировать пищевое и эндогенное железо. Низкий уровень сывороточного железа объясняется депонированием его в макрофагах и снижением его абсорбции в кишечнике. Эти механизмы, в частности ограничение поступления железа из макрофагов, рассматривались как защитные в борьбе организма с инфекцией и опухолевым ростом [4]. В настоящее время описаны три транспортных белка: NRAMF 1 и 2 (natural resistance associated macrophage protein 1 and 2) и ферропортин, которые участвуют в фагоцитозе железа из отслуживших эритроцитов и дальнейшей реутилизации железа. В настоящее время исследуется роль гепсидина как недостающего связывающего звена в сложном механизме эритропоэза. Гепсидин — железорегулирующий белок, который синтезируется в печени в форме препропептида из 84 аминокислот при повышении концентрации провоспалительных цитокинов (ИЛ-1, ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6). В плазме крови препропептид преобразуется в прогепсидин, состоящий из 39 аминокислот, а затем собственно в гепсидин, имеющий несколько изомеров: состоящий из 20–22 аминокислот, определяется в моче у трансгенных мышей, и из 25 аминокислот, определяется в плазме крови человека. Гепсидин ингибирует ферропортин — белок-переносчик, осуществляющий транспорт железа в клетку, — за счет чего происходит нарушение всасывания железа в тонкой кишке. Второй механизм действия: гепсидин блокирует выход железа из макрофагов, «запирая» его внутри клетки. Оба механизма приводят к нарушению гомеостаза железа, собственно к железодефициту и развитию анемического синдрома.

Целью нашего исследования было изучить уровень гепсидина у больных ВЗК и определить его прогностическое значение для развития анемии.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Было обследовано 80 больных ВЗК — 45 (56%) мужчин и 35 (44%) женщин, средний возраст больных составил  $39,0 \pm 15,8$  года. По результатам клинико-инструментального обследования у 55 (69%) больных был диагностирован язвенный колит (ЯК), у 25 (31%) — болезнь Крона (БК). Наличие анемии устанавливалась согласно критериям ВОЗ (уровень

гемоглобина ниже 13,0 г/л для мужчин и 12,0 г/л — для женщин). У 40 больных с анемией и 40 больных с ВЗК без анемического синдрома было проведено изучение состояния обмена железа (определялись железо сыворотки, общая железосвязывающая способность сыворотки (ОЖСС), насыщение железа трансферрином (НТЖ), ферритин, трансферрин, растворимый рецептор трансферрина (РРТ)), гепсидина, ФНО- $\alpha$ , С-реактивный белок (СРБ).

Общий анализ крови выполнялся на автоматическом гематологическом анализаторе *Coulter*<sup>®</sup>A<sup>c</sup> фирмы *Beckman Coulter Inc.* Показатели обмена железа (железо сыворотки, норма 10,7–32,2 мкмоль/л; латентная железосвязывающая способность сыворотки (ЛЖСС), норма 27,8–53,7 мкмоль/л; ферритин, норма 10–250 мкг/л; трансферрин, норма 200–260 мг/дл) и СРБ, норма до 5 мг/л, определялись на автоматическом биохимическом анализаторе *Olympus*, Германия, с использованием коммерческих наборов фирмы *Olympus*, Германия. Насыщение железа трансферрином (НТЖ), норма 20–50%, и общая железосвязывающая способность сыворотки (ОЖСС), норма 44,8–71,6 мкмоль/л, рассчитывались по результатам установленных концентраций железа и ЛЖСС. Методом иммуноферментного анализа на автоматическом анализаторе была определена концентрация гепсидина (*Hepsidin Prohormone ELISA*, *IBL international GmbH*, Германия; норма 60–80 пкг/мл), растворимого рецептора трансферрина (*Human sTfR ELISA BioVendor*, Чешская Республика, норма 1,0–2,9 мкг/мл), ФНО- $\alpha$  (*human TNF $\alpha$  ELISA*, *Bender MedSystems GmbH*, Австрия; норма 8–32 пкг/мл). Результаты исследования представлены в таблице. Для исключения аутоиммунного гемолиза всем больным был проведен прямой антиглобулиновый тест на картах *Liss/Coombs* фирмы *DiaMed-ID*, ни в одном случае тест не был положительным.

Статистическая обработка результатов исследования проводилась при помощи пакета статистических программ *Statistika 6.0* и *Biostat*. Рассчитывались среднее значение, стандартное квадратичное отклонение, медиана, 95%-ный доверительный интервал среднего значения. Достоверность разницы определялись по критерию Стьюдента при нормальном распределении и по критерию Манна — Уитни — при отсутствии нормального распределения полученных результатов. Достоверность разницы непараметрических показателей определялась по критерию  $\chi^2$  или критерию Фишера в зависимости от численности сравниваемых групп, корреляционный анализ проводился по методу Пирсона.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Средний уровень гепсидина в крови больных с ВЗК составлял  $337,2 \pm 184,6$  пг/мл, медиана составляла 301,0 пг/мл и колебался от 95 до 1000 пг/мл. Распределение больных по уровню гепсидина представлено на рис. 1.

У всех обследованных нами больных уровень гепсидина был выше нормальных значений. Больные были разделены на две группы по медиане, в каждой из них рассчитаны показатели общего анализа крови, обмена железа и воспалительной активности у больных ВЗК (см. таблицу).

У больных с уровнем гепсидина выше 300 пкг/мл уровень гемоглобина был достоверно

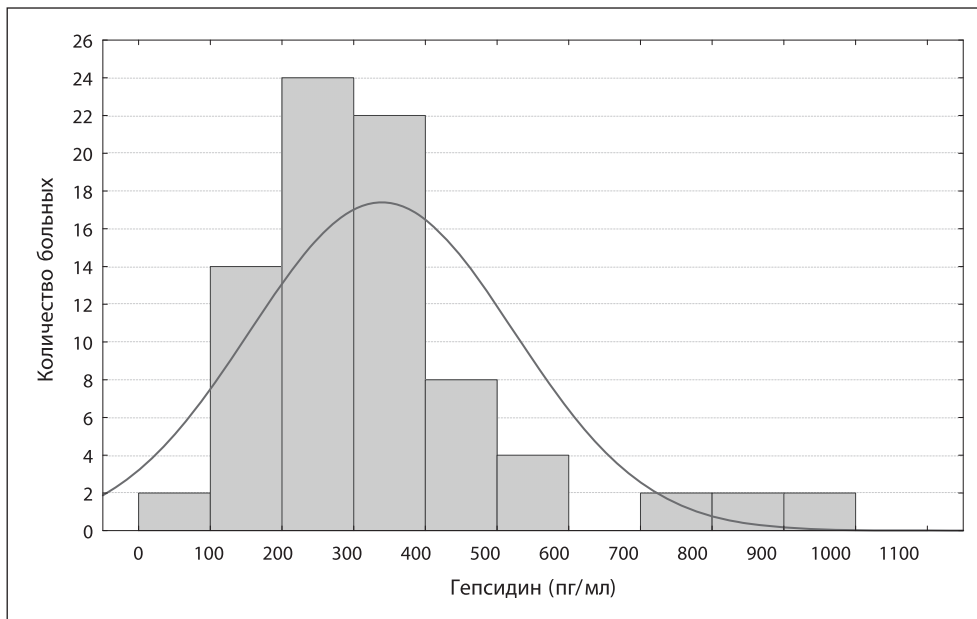


Рис. 1. Распределение больных по уровню гепсидина

ПОКАЗАТЕЛИ ОБЩЕГО АНАЛИЗА КРОВИ, ОБМЕНА ЖЕЛЕЗА И АКТИВНОСТИ ВОСПАЛЕНИЯ У БОЛЬНЫХ ВЗК С РАЗЛИЧНЫМ УРОВНЕМ ГЕПСИДИНА			
Показатели	Больные с уровнем гепсидина менее 301 пг/мл (n = 40)	Больные с уровнем гепсидина больше 301 пг/мл (n = 40)	Достоверность разницы между группами, p
Гемоглобин (г/л)	$13,5 \pm 2,0$	$12,4 \pm 2,7$	0,042
Эритроциты ( $\times 10^{12}/л$ )	$4,37 \pm 0,68$	$4,6 \pm 0,54$	0,098
Лейкоциты ( $\times 10^9/л$ )	$6,4 \pm 1,65$	$7,7 \pm 3,0$	0,019
Тромбоциты ( $\times 10^9/л$ )	$334,6 \pm 123,9$	$366,9 \pm 127,9$	0,255
СОЭ (мм/ч)	$23,8 \pm 27,4$	$22,4 \pm 16,3$	0,782
Железо (мкмоль/л)	$18,6 \pm 14,0$	$13,5 \pm 10,4$	0,068
ОЖСС (мкмоль/л)	$54,7 \pm 17,6$	$56,7 \pm 8,6$	0,52
ЛЖСС (мкмоль/л)	$46,3 \pm 11,5$	$48,3 \pm 11,7$	0,443
НТЖ (%)	$30,2 \pm 19,7$	$23,2 \pm 16,3$	0,087
Ферритин (мкг/л)	$141,7 \pm 57,0$	$144,2 \pm 40,2$	0,821
Трансферрин (мг/дл)	$343,2 \pm 52,6$	$334,6 \pm 39,5$	0,411
Растворимый рецептор трансферрина (мкг/мл)	$1,0 \pm 0,35$	$1,3 \pm 0,6$	0,008
Гепсидин (пкг/мл)	$220,1 \pm 60,3$	$454,4 \pm 193,4$	< 0,001
СРБ (мг/л)	$17,1 \pm 37,6$	$9,8 \pm 10,3$	0,24
ФНО- $\alpha$ (пкг/мл)	$14,1 \pm 17,8$	$23,7 \pm 21,7$	0,034

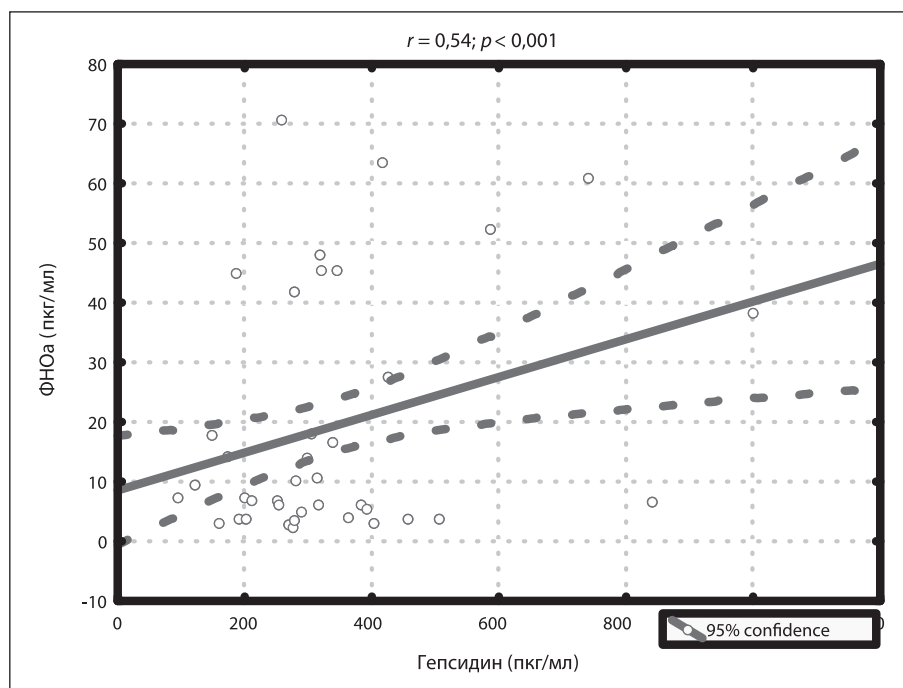


Рис. 2. Взаимосвязь между уровнем гепсидина и повышением ФНО-α

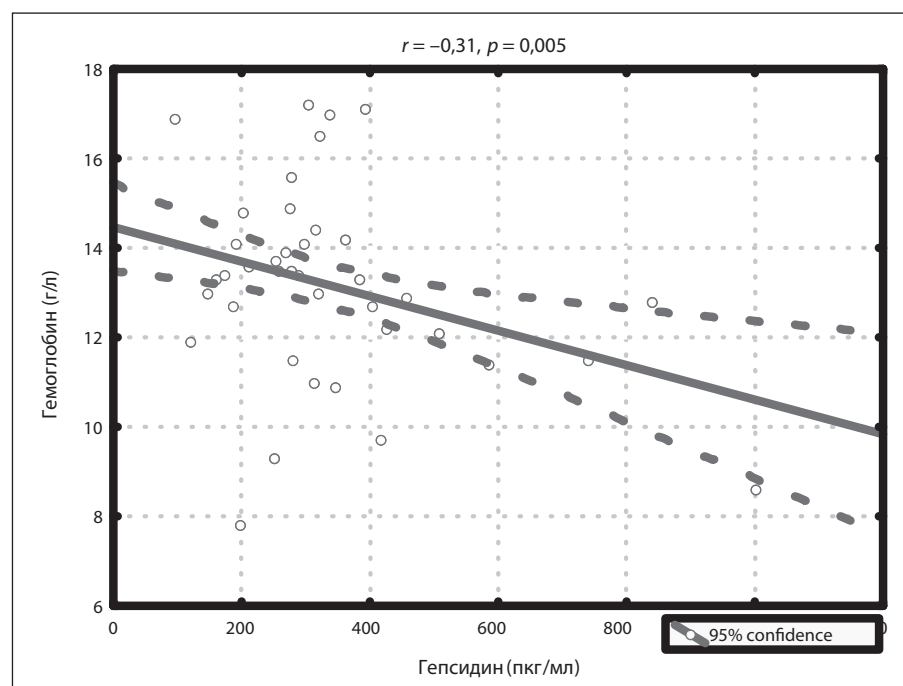


Рис. 3. Взаимосвязь между уровнем гепсидина и снижением уровня гемоглобина

ниже, уменьшалось насыщение трансферрина железом. Повышение уровня гепсидина также сопровождалось достоверным повышением растворимого рецептора трансферрина, что свидетельствовало о повышенной тканевой потребности к железу. В данной группе больных также получено достоверно более высокое содержание ФНО-α. При проведении корреляционного анализа отмечалась прямая зависимость между уровнем гепсидина и повышением ФНО-α ( $r = 0,54; p < 0,001$ ) (рис. 2).

Повышение уровня гепсидина сопровождалось снижением уровня гемоглобина, коэффициент

корреляции  $r = -0,31; p = 0,005$  (рис. 3). Такие изменения приводили к увеличению частоты анемии у больных с высоким уровнем гепсидина. В группе больных со значением гепсидина выше 300 пкг/мл было 14 (35%) пациентов с анемией, что было достоверно чаще, чем у больных с уровнем гепсидина менее 300 пкг/мл, — 5 (12,5%),  $p = 0,036$ .

В связи с выявленной зависимостью между уровнем гепсидина, гемоглобином и частотой анемии был рассчитан относительный риск (ОР) развития анемии в зависимости от степени его повышения. При повышении его выше 300

ng/ml ОР составил 2,2 (0,93–5,18; 95% ДИ), а при повышении более 500 ng/ml ОР составил 3,18 (1,95–5,19; 95% ДИ).

Таким образом, проведенное исследование показало, что развивающаяся при ВЗК системная воспалительная реакция приводит к повышению

уровня гепсидина, который нарушает метаболизм железа в организме и увеличивает риск развития анемии при ВЗК. Определение гепсидина у больных ВЗК позволяет выделить группу риска больных по анемии и уточнить эффективность базисной терапии заболевания.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Erichsen K., Hausken T., Ulvik R.J. et al.* Ferrous fumarate deteriorated plasma antioxidant status in patients with Crohn disease // *Scand. J. Gastroenterol.* — 2003. — Vol. 38. — P. 543–548.
2. *Gumaste V., Greenstein A.J., Meyers R., Sachar D.B.* Coombs-positive autoimmune hemolytic anemia in ulcerative colitis // *Dig. Dis. Sci.* — 1989. — Vol. 34, № 9. — P. 1457–1461.
3. *Rice L., Alfrey C.P., Driscoll T. et al.* Neocytolysis contributes to the anemia of renal disease // *Am. J. Kidney Dis.* — 1999. — Vol. 33, № 1. — P. 59–62.
4. *Gasche C., Lomer M.C., Cavill L., Weiss G.* Iron, anaemia, and inflammatory bowel diseases // *Gut.* — 2004. — Vol. 53. — P. 1190–1197.