

Роль гепсидина в развитии анемии у больных ревматоидным артритом

Е.А. Галушко, Д.А. Беленький, Е.Н. Александрова, Л.Н. Кашникова

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт ревматологии» РАМН, Москва

Research Institute of Rheumatology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

Контакты: Елена Андреевна Галушко
orgcom@iramn.ru

Contact: Elena Andreyevna Galushko
orgcom@iramn.ru

Поступила 23.01.2012

Анемия хронического заболевания (АХЗ), которая диагностируется у многих больных ревматоидным артритом (РА), была описана в начале 70-х годов прошлого века. Нарушения метаболизма железа при АХЗ, как отмечено ранее, — ее диагностическая особенность, а открытие гепсидина — железорегулирующего острофазового белка — позволило во многом прояснить связь между иммунным механизмом нарушения гомеостаза железа и развитием АХЗ.

Цель — определить роль гепсидина в дифференциальной диагностике АХЗ и истинного дефицита железа у больных РА. **Материал и методы.** В исследование были включены 76 больных РА (критерии ACR 1987 г.), поступивших на стационарное лечение в ФГБУ «НИИР» РАМН. Больные разделены на две группы. Основная группа — больные с анемией (n=47). Критерием анемии по данным ВОЗ считали снижение уровня гемоглобина (Hb) ниже 120 г/л для женщин и ниже 130 г/л для мужчин. Контрольная группа (n=29) — больные без анемии. Больные РА с анемией и без нее были сопоставимы (p>0,05) по возрасту (45,5±14,3 и 49,8±14,3 года соответственно) и длительности заболевания (от 2 мес до 20 лет). У всех больных, включенных в анализ, проводилось изучение показателей метаболизма железа: сывороточного железа (СЖ), общей железосвязывающей способности сыворотки (ОЖСС) и насыщения трансферрина железом (НТЖ), трансферриновых рецепторов (ТрФ) и ферритина сыворотки (ФС), а также прямым иммуноферментным методом определялся уровень прогормона гепсидина (набор Hepcidin Prohormone Enzyme Immunoassay Kit фирмы IBL, Германия). Цитокины (интерлейкин 6, фактор некроза опухоли α) определяли методом иммуноферментного анализа (фирма Bender MedSystems, Австрия). Для диагностики дефицита железа применялся дифференциально-диагностический алгоритм, разработанный в институте, с использованием ФС, ОЖСС и НТЖ. Диагностика основывалась на двух этапах оценки показателей железа: при уровне ФС ниже нормы (<40 мкг/л) ставится диагноз изолированной железодефицитной анемии (ЖДА). Если ФС ≥40 мкг/л, но при этом имеется одновременное повышение ОЖСС выше нормы (>70 мкм/л) и снижение НТЖ (<20%), то у данного больного можно заподозрить смешанный генез анемии, при которой обнаруживается как дефицит железа, так и АХЗ. У остальных больных можно ставить диагноз изолированной АХЗ.

Результаты. В результате проведенного исследования было установлено, что уровень сывороточного прогормона гепсидина у обследуемых больных РА вне зависимости от уровня гемоглобина в среднем составил 89,2±65,1 пг/мл и был значительно выше, чем у доноров (64,9±21,6 пг/мл; p<0,05). Анализ биохимических показателей крови, характеризующих метаболизм железа, показал, что по сравнению с донорами у больных РА вне зависимости от наличия анемии было выявлено повышение уровня ФС, являющегося острофазовым показателем и отражающего высокую активность воспалительного процесса. Для исключения ЖДА больные РА с анемией в соответствии с дифференциально-диагностическим алгоритмом были разделены на три подгруппы. В первую вошли больные РА с изолированной АХЗ — 13 человек (28% от основной группы); во вторую — 17 пациентов (32%) с анемией смешанного генеза (АХЗ+ЖДА), а в третью — с изолированной ЖДА (n=17). Анализ клинико-лабораторных показателей РА в зависимости от характера анемии показал, что только больные с изолированной АХЗ имели достоверно более высокие средние значения прогормона гепсидина (120,3±56,1 пг/мл) по сравнению с группой контроля (90,3±37,9 пг/мл) и больными РА с дефицитом железа (как с изолированной ЖДА, так и смешанного генеза). В этой же подгруппе пациентов отмечалась и более высокая воспалительная активность РА, характеризующаяся наиболее высокими значениями DAS 28, С-реактивного белка и ФС.

Заключение. Гепсидин является отрицательным регулятором обмена железа и может применяться для дифференциальной диагностики АХЗ и истинного дефицита железа у больных РА.

Ключевые слова: анемия хронического заболевания, железодефицитная анемия, гепсидин

ROLE OF HEPCIDIN IN THE DEVELOPMENT OF ANEMIA IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS E.A. Galushko, D.A. Belenky, E.N. Aleksandrova, L.N. Kashnikova

Chronic disease anemia (CDA) diagnosed in many patients with rheumatoid arthritis (RA) was described in the early 1970s. As earlier noted, iron metabolic disturbances in CDA are its diagnostic feature and the discovery of hepcidin, an iron-regulatory acute-phase protein, could largely clarify an association between the immune mechanism of impaired iron homeostasis and the development of CDA.

Objective: to define the role of hepcidin in the differential diagnosis of CDA and true iron deficiency in patients with RA.

Subjects and methods. The investigation enrolled 76 patients with RA (1987 ACR criteria) admitted to the Research Institute of Rheumatology, Russian Academy of Medical Sciences, to be treated. The patients were divided into two groups. A study group comprised anemic patients (n = 47). The WHO criteria for anemia were considered to be hemoglobin (Hb) levels of below 120 g/l for women and below 130 g/l for men. A control group consisted of non-anemic patients (n = 29). The anemic and non-anemic patients were matched for age (45.5±14.3 and 49.8±14.3 years, respectively) and disease duration (2 months to 20 years) (p > 0.05). Iron metabolic parameters, such as serum iron, total serum iron-binding capacity (TSIBC), iron transferrin saturation (ITS), transferrin receptors, and serum ferritin (SF), were studied and the level of hepcidin prohormone was estimated by direct enzyme immunoassay (Hepcidin Prohormone Enzyme Immunoassay Kit, IBL, Germany) in all the patients to be analyzed. Cytokines, such as interleukin 6, tumor necrosis factor-α were determined by enzyme immunoassay (Bender MedSystems, Austria). The Institute's differential diagnostic algorithm involving SF, TSIBC, and ITS was used to diagnose iron deficiency. The diagnosis was based on two stages of estimating iron values: isolated iron-deficiency anemia (IDA) was diagnosed if SF was below the normal value (< 40 μg/l). If the patient had SF of ≥40 μg/l with a simultaneous rise of TSIBC above the normal level (> 70 μg/l) and a drop of ITS (> 20%), he/she might be suspected as having the mixed genesis of anemia, in which both iron deficiency and CDA are detectable. The other patients could be diagnosed as having isolated CDA.

Results. The study has established that irrespective of the hemoglobin level, the content of serum hepcidin prohormone in the examined patients with RA averaged 89.2±65.1 pg/ml and was much higher than that in donors (64.9±21.6 pg/ml; p < 0.05). An analysis of the blood biochemical parameters characterizing iron metabolism showed that, whether they were anemic or non-anemic, the patients with RA, as compared with donors, were found to have an elevated level of SF that is an acute-phase indicator and reflects the high activity of an inflammatory process. To rule out IDA, the anemic patients with RA were subdivided into 3 subgroups according to the differential diagnostic algorithm. Subgroup 1 included patients with isolated CDA (n = 13 patients (28% of those in the study group)); Subgroup 2 consisted of 17 (32%) patients with anemia of mixed genesis (CDA + IDA), and Subgroup 3 comprised 17 patients with IDA. An analysis of the clinical and laboratory parameters in RA independent of the nature of anemia demonstrated that only the patients with isolated CDA had significantly higher mean values of hepcidin prohormone (120.3±56.1 pg/ml) as compared to the control group (90.3±37.9 pg/ml) and RA patients with iron deficiency (both isolated IDA and that of mixed genesis). The same subgroup had a higher inflammatory RA activity characterized by the highest values of DAS 28, C-reactive protein, and SF.

Conclusion. Hepcidin is a negative regulator of iron metabolism and may be used for the differential diagnosis of CDA and true iron deficiency in patients with RA.

Key words: chronic disease anemia, iron-deficiency anemia, hepcidin

Одним из важных и недостаточно изученных проявлений ревматоидного артрита (РА) является анемия, которая ухудшает течение основного процесса и может препятствовать применению фармакологических средств.

В целом анемия при РА классифицируется как анемия хронического заболевания (АХЗ) — опосредованная цитокинами анемия, сопровождающая инфекционные, ревматические болезни и злокачественные новообразования. Патогенез АХЗ мультифакторный, и в его основе лежит иммуноопосредованный механизм: цитокины и клетки ретикулоэндотелиальной системы (РЭС) вызывают изменения метаболизма железа, пролиферации эритроидных предшественников, продукции эритропоэтина и продолжительности жизни эритроцитов [1, 2].

По современным данным, ведущим патогенетическим фактором в развитии АХЗ является нарушение метаболизма железа [3]. Характерной чертой этого типа анемии, в отличие от железодефицитной анемии (ЖДА), является сочетание пониженного уровня железа сыворотки (гипоферремия) с достаточными его запасами в РЭС. Доказано, что при АХЗ происходит обратное поступление железа из эритроидных клеток в костномозговые макрофаги, т. е. развивается так называемый феномен нарушения утилизации железа [4]. Дисрегуляция его гомеостаза ведет к последующей недостаточности доступного для эритроидных предшественников железа, ослаблению пролиферации этих клеток вследствие негативного влияния на них нарушения биосинтеза гема [5]. В эксперименте показано, что при введении мышам интерлейкина цитокина (ИЛ 6), но не фактора некроза опухоли (ФНО α) и ИЛ 1, развиваются гипоферремия и анемия, которые сопровождаются повышением цитокин-индуцируемого синтеза ферритина — основного белка, отражающего запасы железа [6].

В норме в регуляции метаболизма железа принимает участие ряд белков, которые контролируют его всасывание из пищи в тонком кишечнике и рециркуляцию из макрофагов. Белки, ответственные за метаболизм железа, экспрессируются в соответствии с потребностью организма. В настоящее время открыто около 20 регуляторных молекул, контролирующих этот сложный высокоорганизованный процесс [1, 5, 7]. В течение последних лет широко обсуждается роль гепсидина как ключевого регулятора метаболизма железа [8–11].

Гепсидин, богатый цистеином полипептид (молекулярная масса 470 кДа), синтезируется, главным образом, гепатоцитами и экскретируется почками. Впервые гепсидин был выделен из мочи и описан С.Н. Park и соавт. [5]. В дальнейшем этот пептид был выделен также из плазмы. Гепсидин образуется из С-терминальной части 84-аминокислотного предшественника — прогепсидина, который находится в плазме [5, 10]. Необычной чертой молекулы гепсидина является присутствие дисульфидных связей между двумя соседними цистеинами, что является характерным химическим признаком стрессовой ситуации и может определять высокую реактивность. Было отмечено, что уровень гепсидина в моче при развитии системной инфекции повышается в 100 раз и более [7]. Однако, как было выяснено в последние годы, роль гепсидина в организме значительно многограннее, чем только антибактериальная защита, поскольку нарушения в экспрессии гена гепсидина связаны с клиническими отклонени-

ями в параметрах обмена железа, а в некоторых случаях — с анемией [9, 11].

Связь между гепсидином и метаболизмом железа была впервые показана С. Pigeon и соавт. [8], которые доказали, что избыток железа индуцирует синтез гепсидина гепатоцитами, причем было выявлено, что митохондриальная РНК (мРНК) экспрессируется не только под воздействием ферротерапии, но и под влиянием липополисахаридов (ЛПС). В последующих работах [9–11], 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 гипоферремию и может быть ответственна за анемию при хронических заболеваниях. Биосинтез острофазовых белков гепатоцитами регулируется всей группой провоспалительных цитокинов, но ИЛ 6 отводится особая роль «гепатоцит-активирующего фактора», регулирующего гемопоэз. Авторы пришли к выводу, что гепсидин обладает блокирующим эффектом на транспорт железа повсеместно, включая внутритканевый эпителий, макрофаги, плаценту и другие типы клеток [11].

Однако до сих пор многие стороны метаболизма железа и лабораторные изменения при анемии у больных РА, в частности при АХЗ, остаются не до конца уточненными, что может являться предпосылкой для поздней диагностики и неадекватной терапии [1, 3, 12]. Поэтому целью нашего исследования явилось изучение роли гепсидина в развитии анемии у больных РА.

Материал и методы

В исследование были включены 76 больных РА (критерии Американской коллегии ревматологов — ACR — 1987 г.), последовательно поступивших на стационарное лечение в ФГБУ «НИИР» РАМН. В обследуемой когорте было 65 женщин (86%), отношение мужчины:женщины составило 1:6.

Критерии включения больных: возраст 18 лет и старше, отсутствие острой кровопотери, мегалобластной и гемолитической анемии на момент включения в исследование, отсутствие тяжелых сопутствующих заболеваний, таких как онкологические, туберкулез, хроническое неспецифическое заболевание легких, нарушение функции почек (острая и хроническая почечная недостаточность, гломерулонефрит) и печени (хронический активный гепатит), тяжелый ДВС-синдром.

Больные были разделены на две группы. В первую (основную) группу вошли больные с анемией в количестве 47 человек. Критерием анемии по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) считали снижение уровня гемоглобина (Hb) ниже 120 г/л для женщин и ниже 130 г/л для мужчин. Вторая группа (контрольная) состояла из 29 больных без анемии.

Как видно из табл. 1, больные РА с анемией и без нее были сопоставимы по возрасту и длительности заболевания. В обеих группах отмечалось выраженное преобладание развернутой и поздней клинических стадий РА. В большинстве случаев определялась позитивность по ревматоидному фактору (РФ) и антителам к циклическому цитруллинированному пептиду (АЦЦП) — у 83 и 70% соответственно среди больных с анемией и 86 и 79% — без анемии. У подавляющего большинства больных РА, как с ане-

Таблица 1 Клиническая характеристика больных

Показатели	Больные РА с анемией (n=47)	Больные РА без анемии (n=29)	p
Возраст, годы, M±σ	45,5±14,3	48,9±14,3	0,3
Пол (м:ж), n	5:42	6:23	0,2
Длительность болезни, мес, Me [Q25;Q75]	60 [36; 96]	60 [17; 84]	0,8
Клиническая стадия, n (%):			
очень ранняя (<6 мес)	2 (4)	2 (7)	0,68
ранняя (6–12 мес)	4 (8)	4 (10)	
развернутая (>1–2 лет)	8 (17)	8 (24)	
поздняя (>2 лет)	33 (71)	33 (59)	
Позитивность по РФ/АЦП, n	39/33	25/23	0,7/0,4
Активность заболевания по DAS 28, n (%):			
ремиссия (DAS 28 <2,6)	0	0	0,65
низкая (2,6 < DAS 28 <3,2)	0	0	
умеренная (3,2 < DAS 28 <5,1)	10 (21)	8 (28)	
высокая (DAS 28 >5,1)	37 (79)	21 (72)	
DAS 28, баллы, M±σ	6,4±1,7	5,9±1,0	0,2
Системные проявления, n (%)	14 (29)	7 (24)	0,6
Эрозивный артрит, n	38	24	0,7
Рентгенологическая стадия, n (%):			
I	1 (2)	0	0,76
II	10 (21)	8 (28)	
III	22 (47)	14 (48)	
IV	14 (30)	7 (24)	

Примечание. Me – медиана, Q – квартили.

мией, так и без нее, находящихся на стационарном лечении в ФГБУ «НИИР» РАМН, была диагностирована высокая воспалительная активность заболевания (79 и 72% соответственно), у остальных пациентов – умеренная степень активности. Ни у одного больного, включенного в исследование, не было низкой степени активности или ремиссии. В основной группе больных у 29% были выявлены системные проявления, в контрольной группе – у 24%. При рентгенологическом исследовании определялась чаще III стадия вне зависимости от уровня гемоглобина (47 и 48% соответственно). Эрозивный артрит был диагностирован у 83 и 81% больных.

Наряду с общепринятым клиническим обследованием у всех больных, включенных в анализ, проводилось изучение показателей метаболизма железа: сывороточного железа (СЖ), общей железосвязывающей способности сыворотки (ОЖСС) и насыщения трансферрина железом (НТЖ), трансферриновых рецепторов (ТрФ) и ферритина сыворотки (ФС), а также прямым иммуноферментным методом определялся уровень прогормона гепсидина (набор Hcpidin Prohormone Enzyme Immunoassay Kit фирмы IBL, Германия). Цитокины (ИЛ 6, ФНО α) определяли иммуноферментным методом (фирма Bender MedSystems, Австрия).

В качестве группы сравнения использовались показатели метаболизма железа 10 здоровых доноров. Средний возраст доноров был сопоставим с обследуемой когортой больных РА (42,3±7,3 года), соотношение мужчины:женщины составило 1:5.

Для диагностики дефицита железа применялся дифференциально-диагностический алгоритм, разработанный в ФГБУ «НИИР» РАМН [13], с использованием трех показателей обмена железа (ФС, ОЖСС и НТЖ). Диагностика основывалась на двух этапах оценки показателей железа: при уровне ФС ниже нормы (<40 мкг/л) ставится диагноз

изолированной ЖДА. Если ФС ≥40 мкг/л, но при этом имеется одновременное повышение ОЖСС выше нормы (>70 мкм/л) и снижение НТЖ (<20%), то у данного больного можно заподозрить смешанный генез анемии, при которой обнаруживается как дефицит железа, так и АХЗ. У остальных больных можно ставить диагноз изолированной анемии хронического заболевания.

Статистическая обработка материала проводилась методами параметрической и непараметрической статистики. Результаты представлены в виде средних значений и средних квадратических отклонений для количественных признаков, имеющих нормальное распределение (M±σ), медианы и интерквартильного интервала (Me [Q25;Q75]) для других распределений количественных признаков. Анализ взаимосвязи двух признаков проводился с использованием непараметрического корреляционного анализа по методу Спирмена. Для сравнения двух независимых групп мы использовали непараметрический критерий Манна–Уитни (U-тест). Достоверными считались различия при p<0,05.

Результаты исследования

В результате проведенного исследования было установлено, что уровень сывороточного прогормона гепсидина у обследуемых больных РА вне зависимости от уровня Hb в среднем составил 89,2±65,1 пг/мл и был значительно выше, чем у доноров (64,9±21,6 пг/мл; p<0,05).

Учитывая, что при РА индекс DAS 28 является основным показателем активности заболевания, мы попытались установить наличие зависимости между его уровнем и значением гепсидина. Несмотря на то что больные в обеих группах были сопоставимы по активности воспалительного процесса, только у больных с анемией была выявлена прямая корреляция между гепсидином и DAS 28 ($r_{DAS\ 28}=0,42$; p<0,05).

Таблица 2 Показатели метаболизма железа у больных РА в сравнении с донорами

Показатель	Больные РА с анемией (n=47)	Больные РА без анемии (n=29)	Доноры (n=10)
Нб, г/л, M±σ	105,8±9,5*	127,9±7,7	126,3±3,9
Гепсидин, нг/мл, M±σ	86,6±67,1	90,33±7,9**	64,92±1,6
ФС, нг/мл, Me [Q25; Q75]	63,1 [26,4; 97,9]**	70,9 [27,5; 122,0]**	41,4 [19,5; 73,7]
СЖ, мкм/л, M±σ	9,5±5,6*	18,5±7,7	18,4±0,6
ОЖСС, мкм/л, M±σ	73,7±11,9*	64,3±10,1	60,8±3,9
НТЖ, %, M±σ	20,8±13,2*	31,7±19,4	30,2±1,1
Трансферриновые рецепторы, г/л, M±σ	6,0±4,1	4,9±2,9	5,5±1,1

Примечание. * – p<0,05 между основной и контрольной группами; ** – p<0,05 между больными РА и донорами.

Анализ биохимических показателей крови, характеризующих метаболизм железа (табл. 2), продемонстрировал, что по сравнению с донорами у больных РА вне зависимости от наличия анемии было выявлено повышение уровня ФС, являющегося острофазовым показателем и отражающего высокую активность воспалительного процесса.

Уровень гепсидина у больных РА с анемией и с нормальным уровнем гемоглобина не различался, но в группе без анемии он был достоверно выше, чем у доноров (86,6±67,1; 90,3±37,9 и 64,9±21,6 пг/мл соответственно). С другой стороны, обращает на себя внимание, что только у пациентов с анемией было выявлено снижение уровней СЖ (9,5±5,6 мкм/л) и НТЖ (20,8±13,2%), находившихся на нижней границе нормы и косвенно указывающих на наличие дефицита железа либо на гипорегенераторный характер эритропоэза. Уровень ТрФ был сопоставим в обеих группах (6,0±4,1 и 4,9±2,9 г/л соответственно).

Учитывая полученные результаты, был проведен корреляционный анализ между уровнем гепсидина, Нб и другими показателями метаболизма железа (ФС, СЖ, НТЖ, ОЖСС) в обеих выборках. В контрольной группе (без анемии) не было выявлено корреляции гепсидина с показателями метаболизма железа и Нб. Только у больных РА с анемией гепсидин коррелировал с уровнями Нб, СЖ и ОЖСС ($r_{Нб}=0,34$; $r_{СЖ}=0,6$; $r_{ОЖСС}=-0,4$). Корреляции с ФС и НТЖ выявлено не было ($r_{ФС}=0,13$; $r_{НТЖ}=0,23$).

Обращает на себя внимание, что наиболее высокие значения гепсидина (99,2±64,1 пг/мл) были выявлены у больных РА с легкой степенью анемии (n=34), а наименьшие – у больных с Нб ниже 100 г/л (59,4±42,6 пг/мл; см. рисунок).



Значения сывороточного прогормона гепсидина в зависимости от уровня Нб у больных РА

Данные, полученные в ходе проведенного анализа, позволили предположить, что группа больных РА с анемией может быть неоднородной и включать в себя больных не только с АХЗ, но и с ЖДА.

Для исключения ЖДА больные РА с анемией в соответствии с дифференциально-диагностическим алгоритмом были разделены на три подгруппы. В первую вошли больные РА с изолированной АХЗ – 13 человек (28% от основной группы); во вторую – 17 (32%) пациентов с анемией смешанного генеза (АХЗ+ЖДА), а в третью – с изолированной ЖДА (n=17).

Анализ клинико-лабораторных показателей РА в зависимости от характера анемии показал (табл. 3), что только больные с изолированной АХЗ имели достоверно более высокие значения прогормона гепсидина (120,3±56,1 пг/мл) по сравнению с группой контроля (90,3±37,9 пг/мл) и больными РА с дефицитом железа (как с изолированной ЖДА, так и смешанного генеза). В этой же подгруппе отмечалась и более высокая воспалительная активность РА, характеризующаяся наиболее высокими значениями DAS 28, С-реактивного белка (СРБ) и ФС.

Исходя из патогенеза анемии при хронических заболеваниях, где основная роль отводится провоспалительным цитокинам, нами были проанализированы значения ИЛ 6 и ФНО α, а также уровень биомаркеров РА (РФ и АЦЦП) в зависимости от характера анемического синдрома (см. табл. 3). Оказалось, что при изолированной АХЗ уровень исследуемых провоспалительных цитокинов (ИЛ 6 и ФНО α) и биомаркеров был в 2 раза выше (p<0,05), чем в подгруппах больных РА с дефицитом железа (как при ЖДА, так и при анемии смешанного генеза).

В то же время обращает на себя внимание, что, несмотря на различия в уровнях гепсидина у больных РА без анемии и с АХЗ (см. табл. 3), средние значения РФ, АЦЦП и провоспалительных цитокинов были сопоставимы. В связи с этим был проведен корреляционный анализ, который показал, что только при изолированной АХЗ прогормон гепсидин коррелировал с ИЛ 6 ($r_{ИЛ6}=0,8$), при другом характере анемии и у больных без анемии такой взаимосвязи выявлено не было. Корреляции с ФНО α ни в одной подгруппе не наблюдалось.

Обсуждение

АХЗ, которая диагностируется у многих больных РА, была описана в начале 70-х годов прошлого века [12]. Несмотря на многообразие причин (инфекционные и воспалительные заболевания, онкология и т. д.), АХЗ имеет ряд общих черт – закономерность появления при указан-

Таблица 3 Клинико-лабораторная характеристика больных РА в зависимости от характера анемии

Показатель	I подгруппа – АХЗ при РА (n=13)	II подгруппа – ЖДА+АХЗ при РА (n=17)	III подгруппа – ЖДА при РА (n=17)	Контрольная группа – больные РА без анемии (n=29)
Нб, г/л, M±σ	108,2±10,5	107,2±9,0	102,8±9,2	127,9±7,7***
Гепсидин, пг/мл, M±σ	120,3±56,1	84,6±37,2*	66,9±34,5**	90,3±37,9***
DAS 28, баллы, M±σ	6,6±1,1	6,2±1,0	5,8±0,9**	5,9±1,0***
СРБ, мг/л, Me [Q25; Q75]	44,5 [20,3; 110,2]	46,7 [31,3; 88,8]	40,8 [22,6; 56,6]	19,9***[12,7; 47,2]
РФ, МЕ/мл, Me [Q25; Q75]	171,4 [9,5; 621,1]	78,3* [9,5; 399,2]	85,6** [9,5; 324,7]	123 [47,2; 377,4]
АЦЦП, нг/мл, Me [Q25; Q75]	189,3 [7,0; 431,3]	104,6 [13,1; 295,7]	41,4** [0,4; 372,9]	238,7 [33,8; 500]
ИЛ 6, нг/мл, Me [Q25; Q75]	146,4 [19,5; 268,6]	20,6* [4,3; 97,7]	19,3** [1,4; 33,3]	60,6 [6,9; 324,3]
ФНО α, нг/мл, Me [Q25; Q75]	14,2 [9,3; 16,9]	10,5 [0,6; 17,9]	0,08** [0,02; 12,6]	13,1 [6,9; 16,7]
Ферритин, нг/мл, M±σ	207,9±106,4	66,3±15,7*	20,5±11,3**	93,7±78,7***

Примечание. * – $p_{(I-II)} < 0,05$ – между АХЗ и ЖДА+АХЗ; ** – $p_{(I-III)} < 0,05$ – между АХЗ и ЖДА; *** – $p_{(I-IV)} < 0,05$ – между АХЗ и без анемии.

ных состояниях, постепенность развития, обычно легкая либо умеренная степень снижения уровня Нб, нормохромный характер, зависимость уровня Нб от остроты и распространенности основного заболевания, отсутствие эффекта от рутинных антианемических средств, уменьшение или исчезновение анемии при успешном лечении основного заболевания [12].

Нарушения метаболизма железа при АХЗ, как отмечено ранее, – ее диагностическая особенность, а открытие гепсидина – железорегулирующего острофазового белка – позволило во многом прояснить связь между иммунным механизмом нарушения гомеостаза железа и развитием АХЗ [9, 11].

За последнее время в связи с широким применением метода иммуноферментного анализа и возможностью получения моноклональных антител проведен ряд работ по определению уровня гепсидина при различных заболеваниях [3, 5, 14, 15]. Так, например, при лимфопролиферативных и инфекционных заболеваниях содержание гепсидина значительно превышает нормальные значения, однако у каждого больного выявляются эпизоды и резкого понижения его содержания в сыворотке. Авторы предполагают, что эти изменения связаны с активацией макрофагальной системы, поскольку у больных этих групп резко повышены значения ФС [5]. Эти результаты подтверждают данные о том, что гепсидин не только регулирует метаболизм железа, но его повышение в сыворотке больных при хроническом воспалении – одно из проявлений острофазового ответа.

В результате проведенного нами исследования было установлено, что у больных РА вне зависимости от наличия анемии значения сывороточного прогормона гепсидина и другого маркера, отражающего запасы железа, – ферритина – были значительно выше, чем у здоровых доноров, что совпадает с данными литературы. В 2010 г. было опубликовано исследование [16], в котором авторы выявили существенные различия в уровнях гепсидина у больных с активным и неактивным РА. К сожалению, в нашей выборке не было пациентов с низкой активностью РА, что не позволило нам провести подобный анализ. С другой стороны, несмотря на то что больные в обеих выборках (как с анемией, так и без нее) были сопоставимы по активности и длительности заболевания, только при анемии было выявлено повышение уровня гепсидина при нарастании значения индекса DAS 28 ($r=0,42$), являющегося основным показателем активности воспалительного процесса. Эти дан-

ные показывают, что гепсидин – не только потенциальный маркер активности РА.

При анализе общей группы больных с анемией не было выявлено достоверных различий в уровне гепсидина по сравнению с таковыми без анемии, что могло поставить под сомнение теоретические предпосылки развития АХЗ у больных РА, как было сделано в одном из исследований [16]. Нетипичным для АХЗ являлось и то, что уровень Нб положительно коррелировал с концентрацией гепсидина в сыворотке крови, т. е. наибольшие значения гепсидина выявлялись у пациентов с легкой степенью анемии, и почти в 2 раза ниже они были у больных с уровнем гемоглобина < 100 г/л.

Анализ показателей метаболизма железа у больных РА выявил разнонаправленность изменений. В общей группе больных РА с анемией уровни СЖ, НТЖ находились на нижней границе нормы, но в то же время при сравнении с контрольной группой без анемии и донорами отмечено их значимое понижение. Также определялось достоверное повышение ОЖСС, отражающее степень «голодания» сыворотки и уменьшение насыщения железом трансферрина, что указывает на дефицит железа. Это позволило предположить, что выявленная биохимическая гетерогенность у больных РА показателей метаболизма железа, в том числе и гепсидина, была обусловлена не только АХЗ, но и наличием у части больных ЖДА, что и подтвердилось при дальнейшем исследовании.

У пациентов с РА на фоне АХЗ уровень гепсидина, как и ожидалось, был значительно повышен и колебался в пределах 120 пг/мл. В этой же подгруппе больных отмечалась очень высокая воспалительная активность РА (среднее значение DAS $> 6,6$ балла), характеризующаяся не только значительным повышением СРБ и ФС, но и наиболее высокими уровнями исследуемых провоспалительных цитокинов (ИЛ 6, ФНО α) и биомаркеров РА. Только у больных с изолированной АХЗ была получена четкая корреляционная связь между уровнем гепсидина и ИЛ 6 ($r=0,8$; $p < 0,05$), а корреляций с прочими цитокинами не выявлено, что согласуется с данными других исследований [17, 18]. В подгруппах со смешанным генезом анемии и в контрольной группе такой взаимосвязи не было отмечено (даже при высоких средних значениях ИЛ 6 у больных РА без анемии). Вероятно, концентрация ИЛ 6 резко увеличивается при воспалении, обуславливая индукцию синтеза гепсидина гепатоцитами. Гепсидин блокирует выход железа из макрофагов и абсорбцию железа в кишечнике, что приводит к гипоферремии и в дальней-

шем — к анемии. К тому же повышенная гиперпродукция гепсидина играет «псевдозащитную» роль: блокируя абсорбцию железа из кишечника, гепсидин подавляет пролиферативные процессы и эритропоэз, способствуя прогрессированию анемии, а высокая концентрация ИЛ 6 индуцирует синтез гепсидина на высоком уровне [5]. Вероятно, все это угнетает нормальную выработку эритропоэтина, что поддерживает анемию и способствует персистенции воспаления.

У больных РА с верифицированной ЖДА, несмотря на наличие высокой активности воспалительного процесса, наоборот, выявлялось значительное снижение концентрации гепсидина в сыворотке, судя по предварительным данным, имеющее прямую корреляцию с уровнем Hb, что соответствует данным литературы [5, 17, 18] и вполне объяснимо с точки зрения роли гепсидина в метаболизме железа и стремлении организма восполнить его запасы для обеспечения нормального процесса синтеза Hb. Именно наличие истинного дефицита железа у больных РА так существенно нивелировало средние показатели гепсидина в общей группе больных с анемией.

Таким образом, полученные в ходе данного исследования результаты доказывают, что гепсидин является отри-

цательным регулятором обмена железа и может применяться для дифференциальной диагностики АХЗ и истинного дефицита железа у больных РА, поскольку уровень гепсидина резко повышается при изолированной АХЗ и снижается при ЖДА, несмотря на высокую воспалительную активность заболевания. 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.

До последнего времени в литературе не было однозначных указаний на то, при каких показателях Hb крови у больных РА следует начинать лечение или профилактические мероприятия, какому методу отдавать предпочтение [12]. Однако в настоящее время стратегию лечения АХЗ при РА связывают с применением тоцилизумаба — единственного блокатора эффектов ИЛ 6, а следовательно, и антагониста гепсидина, который разрешен к применению при заболеваниях человека [19, 20]. Возможно, полученные данные станут шагом вперед в отношении лечения анемии хронического заболевания у больных РА, контроль над которой до последнего времени оставался сложной задачей.

ЛИТЕРАТУРА

- Weiss G., Goodnough L.T. Anemia of chronic disease. *New Eng J Med* 2005;352(10):1011–23.
- Nikolaisen C., Figenschau Y., Nossent J.C. Anemia in early rheumatoid arthritis is associated with interleukin 6-mediated bone marrow suppression, but has no effect on disease course or mortality. *J Rheumatol* 2008;35(3):380–6.
- Jaworski J., Maslinski W., Pazdur J. et al. Decreased expression of integrins by hematopoietic cells in patients with rheumatoid arthritis and anemia: relationship with bone marrow cytokine levels. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2008;18(1):17–21.
- Nissenson A.R., Goodnough L.T., Dubois R.W. Anemia: not just an innocent bystander? *Arch Intern Med* 2003;163:1400–4.
- Левина А.А., Казюкова Т.В., Цветаева Н.В. и др. Гепсидин как регулятор гомеостаза железа. *Педиатрия* 2008;8(1):67–75.
- Andrews N.C. Anemia of inflammation: the cytokine-hepcidin link. *J Clin Invest* 2004;113:1251–3.
- Ganz T. Heparin in iron metabolism. *Curr Opin Hematol* 2004;11(4):251–4.
- Pigeon C., Ilyin G., Courselaud B. 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.
- Nicolas G., Chauvet C., Viatte L. et al. The gene encoding the iron regulatory peptide hepcidin is regulated by anemia, hypoxia, and inflammation. *J Clin Invest* 2002;110:1037–44.
- Nemeth E., Valore E.V., Territo M. et al. Heparin, a putative mediator of anemia of inflammation, is a type II acute phase protein. *Blood* 2003;101:2461–3.
- Nemeth E., Rivera S., Gabayan V. et al. IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest* 2004;113:1271–6.
- Галушко Е.А. Анемия хронического заболевания. *Науч-практич ревматол* 2009;3(Прил.):70–8.
- Галушко Е.А., Левина А.А., Муравьев Ю.В. Дифференциальная диагностика характера анемии у больных ревматоидным артритом. *Науч-практич ревматол* 2003;3:23–6.
- Demirjian S.G., Nurko S. Anemia of chronic kidney disease: when normalcy becomes undesirable. *Cleve Clin J Med* 2008;75(5):353–6.
- Masson C. Rheumatoid anemia. *Joint Bone Spine* 2011;78(2):131–7.
- Kim H.R., Kim K.W., Yoon S.Y. et al. Serum pro-hepcidin could reflect disease activity in patients with rheumatoid arthritis. *J Korean Med Sci* 2010;25(3):348–52.
- Demirag M., Haznedaroglu S.R., Banu S.K. et al. Circulating hepcidin in the crossroads of anemia and inflammation associated with rheumatoid arthritis. *Inter Med* 2009;48:421–6.
- Jayarane S., Sthaneshwar P., Sokkalingam S. Serum prohepcidin concentrations in rheumatoid arthritis. *Pathology* 2009;41(2):178–82.
- Genovese M.C., McKay J.D., Nasonov E.L. et al. Interleukin-6 receptor inhibition with tocilizumab reduces disease activity in rheumatoid arthritis with inadequate response to disease-modifying antirheumatic drugs: the tocilizumab in combination with traditional disease-modifying antirheumatic drug therapy study. *Arthr Rheum* 2008;58(10):2968–80.
- Насонов Е.Л., Панасюк Е.Ю., Булдаков С.Г. и др. Эффективность и безопасность тоцилизумаба при ревматоидном артрите (промежуточные результаты российского многоцентрового исследования). *Науч-практич ревматол* 2010;2:21–30.