

*Н. В. Строгая, Ж. А. Ибрагимова, Л. В. Картун,
Т. С. Колесникова, Е. В. Ходосовская*

КЛИНИКО-ДИАГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ ГЕПСИДИНА В РЕГУЛЯЦИИ ОБМЕНА ЖЕЛЕЗА У ПАЦИЕНТОВ С ЮВЕНИЛЬНЫМ ИДИОПАТИЧЕСКИМ АРТРИТОМ

УО «Белорусский государственный медицинский университет»

Введение. Анемия при ювенильном идиопатическом артрите (ЮИА), как правило, имеет мультифакторный генез, в основе которого лежит иммуноопосредованный механизм: цитокины при воспалении вызывают изменения метаболизма железа, что приводит к изменению продукции эритроцитов и их предшественников, ретикулоцитов; повышение содержания гепсидина вызывает нарушения метаболизма железа.

Цель исследования состояла в изучении уровня гепсидина у пациентов с ЮИА и определении его прогностического значения для развития анемии.

Материал и методы. Всего было обследовано 65 пациентов с ЮИА, находившихся на стационарном лечении в УЗ «2-я ГДКБ» г. Минска. Всем пациентам был проведен общий анализ крови на гематологическом анализаторе «Sysmex XS-800i» (Япония) с определением эритроцитарных и ретикулоцитарных, тромбоцитарных показателей. Биохимический анализ крови включал в себя определение показателей обмена железа. Методом иммуноферментного анализа было проведено исследование содержания цитокинов: интерлейкин-6 (ИЛ-6), интерлейкин-10 (ИЛ-10), фактор некроза опухоли- α (ФНО- α), интерлейкин-4 (ИЛ-4), интерлейкин-1 β (ИЛ-1 β) и γ -интерферон (γ -ИФН).

Результаты. Все пациенты были разделены на две группы по медиане значения гепсидина. В первую группу, в которой значения были менее 4760,0 пг/мл вошел 31 пациент, вторую группу в которой значения были более 4760,0 пг/мл составило 34 пациента. Повышение содержания гепсидина сопровождалось увеличением частоты развития анемии ($\chi^2 = 4,55$; $p = 0,03$). По результатам проведения корреляционного анализа по Пирсону (r) был выявлен ряд статистически значимых взаимосвязей концентрации гепсидина с уровнем ИЛ-6 ($r = 0,27$; $p < 0,05$); гемоглобина ($r = -0,28$; $p < 0,05$); содержанием гемоглобина в эритроците ($r = -0,29$; $p < 0,05$) и эритропоэтина ($r = 0,32$; $p < 0,05$).

Выводы. У детей с ювенильным идиопатическим артритом повышение содержания гепсидина в крови сопровождается увеличением риска развития анемии. Наиболее ранними маркерами развития данной анемии являются снижение содержания гемоглобина в эритроците, уменьшение среднего объема эритроцита, увеличение синтеза незрелых форм ретикулоцитов. Гепсидин выступает маркером как активности воспалительного процесса у детей с ЮИА, так и влияет на распределение железа между его хранением и функционально активным пулом.

Ключевые слова: ювенильный идиопатический артрит, дети, гепсидин, анемия, анемия хронического заболевания, эритроциты.

*N. V. Strohaya, Zh. A. Ibragimova, L. V. Kartun,
T. S. Kolesnikova, E. V. Khodosovskaya*

CLINICAL AND DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE OF HEPCIDIN IN THE REGULATION OF IRON METABOLISM IN PATIENTS WITH JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS

Introduction. Anemia in juvenile idiopathic arthritis (JIA), as a rule, has a multifactorial genesis, which is based on an immune-mediated mechanism: cytokines during inflammation

cause changes in iron metabolism, which leads to changes in the production of red blood cells and their precursors, reticulocytes; An increase in hepcidin content causes disturbances in iron metabolism.

The purpose of the study was to study hepcidin levels in patients with JIA and determine its prognostic value for the development of anemia.

Material and methods. A total of 65 patients with JIA who were undergoing inpatient treatment at the 2nd State Children's Clinical Hospital in Minsk were examined. All patients underwent a general blood test using a hematological analyzer "Sysmex XS-800i" (Japan) with determination of erythrocyte, reticulocyte, and platelet parameters. A biochemical blood test included determination of iron metabolism indicators. The enzyme immunoassay method was used to study the content of cytokines: interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-4 (IL-4), interleukin-1 β (IL-1 β) and γ -interferon (γ -IFN).

Results. All patients were divided into two groups according to the median hepcidin value. The first group, in which the values were less than 4760.0 pg/ml, included 31 patients, the second group, in which the values were more than 4760.0 pg/ml, included 34 patients. An increase in hepcidin content was accompanied by an increase in the incidence of anemia ($\chi^2 = 4.55$; $p = 0.03$). Based on the results of the Pearson correlation analysis (r), a number of statistically significant relationships between the concentration of hepcidin and the level of IL-6 were identified ($r = 0.27$; $p < 0.05$); hemoglobin ($r = -0.28$; $p < 0.05$); hemoglobin content in the erythrocyte ($r = -0.29$; $p < 0.05$ and erythropoietin ($r = 0.32$; $p < 0.05$).

Conclusions. In children with juvenile idiopathic arthritis, increased levels of hepcidin in the blood are accompanied by an increased risk of developing anemia. The earliest markers of the development of this anemia are a decrease in the hemoglobin content in the erythrocyte, a decrease in the average volume of the erythrocyte, and an increase in the synthesis of immature forms of reticulocytes. Hepcidin acts as a marker of both the activity of the inflammatory process in children with JIA and affects the distribution of iron between its storage and the functionally active pool.

Key words: juvenile idiopathic arthritis, children, hepcidin, anemia, anemia of chronic disease, red blood cells.

Ювенильный идиопатический артрит (ЮИА) – это хроническое аутоиммунное заболевание, которое характеризуется не только поражением суставов, но и внутренних органов, вызывая существенные изменения в процессе гомеостаза. Одним из недостаточно изученных проявлений ЮИА является анемия, которая, как правило, имеет мультифакторный генез, в основе которого лежит иммуноопосредованный механизм [1]: цитокины при воспалении вызывают изменения метаболизма железа, что приводит к изменению продукции эритроцитов и их предшественников, ретикулоцитов. В исследовании Andrews N. C. [2] и Nemeth E. et al. [3] показано, что при введении лабораторным мышам только интерлейкина-6 (ИЛ-6), но не интерлейкина-1 (ИЛ-1) и фактора некроза опухолей- α (ФНО- α), развиваются гипоферремия и анемия, которые сопровождаются повышением ферритина. В публикации Masson C. [4] описано исследование воздействия на гепатоциты человека группы ци-

токинов, и было показано, что ИЛ-6, но не ФНО- α или ИЛ-1, индуцирует выработку мРНК гепсидина, особого белка, который регулирует накопление железа в системе макрофагов.

Гепсидин представляет собой белок, который синтезируется в печени и участвует в метаболизме железа, регулируя всасывание железа в кишечнике и распределение железа из депо в активный пул. При ЮИА под воздействием воспаления происходит повышение секреции гепсидина, что вызывает снижение всасывания железа в кишечнике, накопление железа в макрофагах и, как следствие, снижение доступности железа для эритропоэза. Все выше перечисленные изменения приводят к развитию вторичной анемии или анемии хронического заболевания.

Определенную роль в развитии анемии имеет укорочение периода жизни эритроцитов, которое связано с повышением интенсивности фагоцитоза и активности ретикулоэндотелиальной системы (РЭС), синтезу провос-

палительных цитокинов, простагландинов, что в дальнейшем приводит к запрограммированному суициду эритроцитов (эриптоз) [5].

Эриптоз развивается под воздействием нескольких стрессоров: окислительный стресс, повышение концентрации простагландина E2, церамидов, активация Ca^{2+} -проницаемых катионных каналов, что приводит к потере KCl и уменьшению размера клеток [5]. Помимо этого, Ca^{2+} приводит к деградации цитоскелета эритроцита под воздействием кальпаина. Увеличение содержания провоспалительных цитокинов приводит к снижению отрицательного заряда эритроцитов, что в дальнейшем приводит к их агрегации, гибели и быстрому оседанию.

Цель исследования состояла в изучении уровня гепсидина у пациентов с ЮИА и определении его прогностического значения для развития анемии.

Материал и методы

Всего было обследовано 65 пациентов с ЮИА в возрасте $9,57 \pm 0,59$ лет, находившихся на стационарном лечении в период с февраля 2022 г. по май 2023 г. в УЗ «2-я ГКБ» г. Минска.

Всем 65 пациентам был проведен общий анализ крови на гематологическом анализаторе «Sysmex XS-800i» (Япония) с определением эритроцитарных и ретикулоцитарных, тромбоцитарных показателей.

Биохимический анализ крови включал в себя определение показателей обмена железа: сывороточного железа (СЖ), общей и латентной железосвязывающей способности сыворотки (ОЖСС и ЛЖСС), уровня трансферрина (ТФ), % насыщения трансферрина железом (% TSAT), ферритина. Методом иммуноферментного анализа определялось содержание: ИЛ-6, ИЛ-10 и ФНО- α (Вектор-Бест, РФ), ИЛ-4, ИЛ-1 β и ИФН- γ (FineTest, КНР). Определение концентрации гепсидина с целью оценки регуляции метаболизма железа у пациентов с ЮИА проводилось в сыворотке крови иммуноферментным методом с использованием набора реагентов FineTest, КНР.

Статистический анализ был выполнен с помощью программ Statistica 13.0 и MedCalc (ver 20.104). Полученные данные представлены в виде среднего значения (M), 95 %-ного доверительного интервала среднего значе-

ния, медианы (Me), 25-го и 75-го квартилей. Для сравнения двух независимых групп использовался *t*-критерий Стьюдента при нормальном распределении величин и *U*-критерий Манна-Уитни при распределении отличном от нормального. Проверку статистических гипотез осуществляли при критическом уровне значимости $p < 0,05$.

Относительный риск (далее – ОР) был рассчитан при помощи программы MedCalc (ver 20.104) с определением значения ОР, границ доверительного интервала.

Результаты исследования

Среднее содержание гепсидина в крови у пациентов с ЮИА составило 4873,18 (3928,03–5818,33) пг/мл, медиана (Me) при этом была 4760,0 пг/мл. Распределение пациентов по содержанию гепсидина представлено на рис. 1.

В дальнейшем все пациенты были разделены на две группы по медиане значения гепсидина. В первую группу, в которой значения были менее 4760,0 пг/мл вошел 31 пациент, вторую группу в которой значения были более 4760,0 пг/мл, составили 34 пациента.

В последующем между указанными группами сравнивались исследованные показатели общего и биохимического анализа крови, иммунные показатели воспаления, маркеры обмена железа. Результаты данного сравнения представлены в таблице 1.

Повышение содержания гепсидина сопровождалось увеличением частоты развития анемии ($\chi^2 = 4,55$; $p = 0,03$). Так в 1-й группе анемия была выявлена лишь у 19,4 % пациентов ($n = 6$), а среди пациентов 2-й группы с содержанием гепсидина выше 4760,0 пг/мл анемия отмечена у 44,1 % ($n = 15$). Такие изменения сопровождались снижением содержания гемоглобина в эритроците (RBC-He; $p = 0,02$), снижением содержания гемоглобина в ретикулоците (Ret-He; $p = 0,04$) и уменьшением среднего объема эритроцита (MCV; $p = 0,03$). Последнее изменение было обусловлено развитием микроцитарной анемии железodefицитного характера, что подтверждалось снижением уровня железа среди детей с анемией ($p < 0,001$) до 7,65 (5,73–9,57) мкмоль/л (среди детей без анемии уровень железа составил 13,64 (12,07–15,22) мкмоль/л. Недостаток железа для синтеза гемоглобина был обусловлен повышением содержания гепсидина ($p < 0,001$)

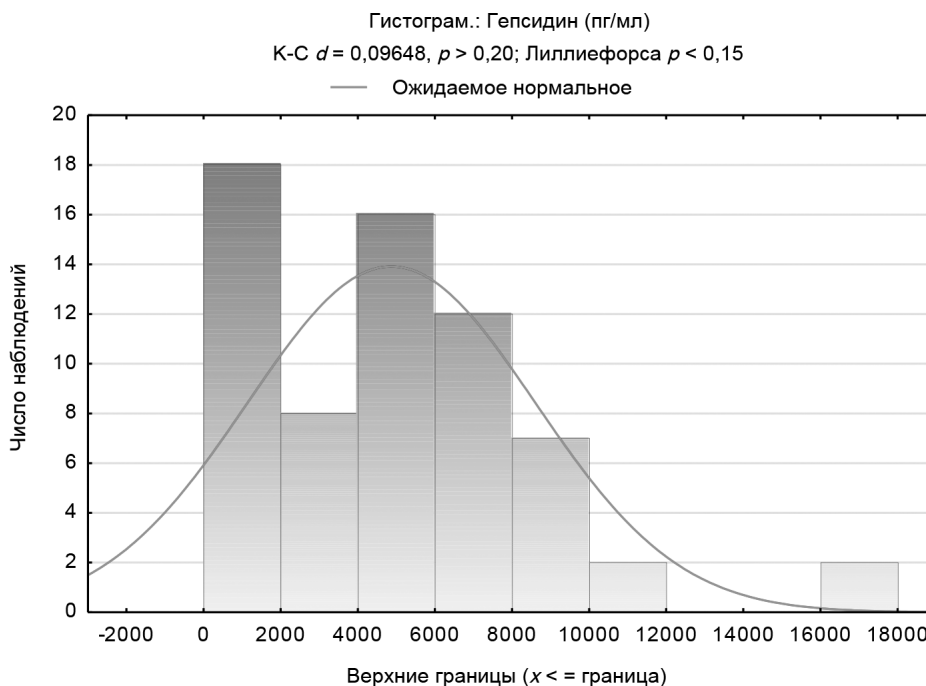


Рисунок 1. Распределение пациентов по уровню гепсидина

Таблица 1. Сравнение показателей общего анализа крови, обмена железа и воспаления у пациентов с различным уровнем гепсидина, М (ДИ ± 95 %)

Показатели	Пациенты с уровнем гепсидина менее 4760,0 пг/мл (n = 31)	Пациенты с уровнем гепсидина более 4760,0 пг/мл (n = 34)	Достоверность различий (t; p)
RBC, 10 ¹² /л	4,6 (4,43–4,77)	4,59 (4,41–4,77)	0,12; 0,91
Hb, г/л	126,81 (123,0–130,61)	123,63 (118,46–128,79)	1,02; 0,31
MCV, фл	82,99 (80,84–85,14)	86,75 (84,0–89,49)	-2,22; 0,03 ¹
MCH, пг	27,69 (26,87–28,52)	26,99 (26,25–27,75)	1,31; 0,19
HFR, %	1,93 (1,45–2,41)	3,0 (2,02–3,98)	-2,03; 0,02 ¹
Ret-He, пг	29,06 (27,89–30,22)	27,98 (26,83–29,13)	2,04; 0,04 ¹
RBC-He, пг	27,32 (26,26–28,38)	25,77 (24,9–26,63)	2,39; 0,02 ¹
СОЭ, мм/ч	11,65 (8,11–15,19)	24,09 (18,38–29,79)	-3,78; < 0,001 ¹
Гепсидин, пг/мл	1882,98 (1284,14–2481,81)	7599,53 (6553,48–8645,59)	-9,64; < 0,001 ¹
Железо, мкмоль/л	8,92 (7,97–9,87)	8,4 (7,36–9,45)	0,76; 0,45
Ферритин мкг/л,	44,19 (23,19–65,19)	167,6 (107,24–227,96)	-3,99; < 0,001 ¹
Трансферрин, г/л	308,87 (254,46–363,28)	273,73 (240,0–307,46)	1,16; 0,25
Эритропоэтин, МЕ/мл	8,49 (7,05–9,92)	10,87 (9,08–12,66)	-2,14; 0,04 ¹
ИЛ-6, пг/мл	7,06 (4,23–9,89)	48,55 (13,62–83,47)	-2,36; 0,02 ¹
ИЛ-10, пг/мл	7,3 (4,43–10,18)	9,03 (3,95–14,1)	-0,6; 0,55
ФНО-α, пг/мл	1,1 (0,27–1,93)	1,93 (0,72–3,14)	-1,16; 0,25
СРБ, мг/л	2,01 (0,59–3,43)	19,76 (6,69–32,82)	-2,69; < 0,01 ¹

под воздействием которого усиливается депонирование железа в ретикулоэндотелиальной системе организма. В свою очередь повышение содержания гепсидина было обусловлено высокой активностью воспалительного процесса во 2-й группе, что подтверждалось максимальными значениями содержания СОЭ ($p < 0,001$), СРБ ($p < 0,01$) и ИЛ-6 ($p = 0,02$). В связи с развитием анемии происходила активация эритропоэза с увеличением синтеза незрелых форм

ретикулоцитов, обнаруживаемых уже в периферической крови (HFR; $p = 0,02$).

Несмотря на отсутствие изменений в концентрации железа в обеих группах, отмечено достоверное ($p < 0,001$) увеличение содержания ферритина, являющегося одновременно маркером депонирования железа в макрофагах, РЭС и маркером воспаления. Достоверных изменений концентрации трансферрина в обеих группах не было установлено ($p = 0,25$),

что свидетельствовало об отсутствии нарушений транспорта железа в организме.

При недостатке железа для синтеза гема у детей с анемией происходят стимуляции эритропоэза, что сопровождалось в нашем исследовании достоверным ($p = 0,04$) увеличением синтеза эритропоэтина. Значения его были максимальны в группе с высокими значениями содержания гепсидина.

По результатам проведения корреляционного анализа по Пирсону (r) был выявлен ряд статистически значимых взаимосвязей концент-

рации гепсидина с уровнем ИЛ-6 ($r = 0,27$; $p < 0,05$); гемоглобина ($r = -0,28$; $p < 0,05$); содержанием гемоглобина в эритроците ($r = -0,29$; $p < 0,05$) и эритропоэтина ($r = 0,32$; $p < 0,05$). Максимальные значения коэффициента корреляции соответствовали прямой средней силы связи гепсидина с уровнем незрелых форм ретикулоцитов ($r = 0,44$; $p < 0,05$) и уровнем ферритина ($r = 0,49$; $p < 0,05$), что представлено на рис. 2 и 3.

Установлена сильная корреляционная связь между содержанием гепсидина и скоростью

Диаграмма рассеяния: HFR vs. Гепсидин (пг/мл) (Построч. удаление ПД)

$$\text{Гепсидин (пг/мл)} = 2865,6 + 790,40 * \text{HFR}$$

Корреляция: $r = 0,43955$

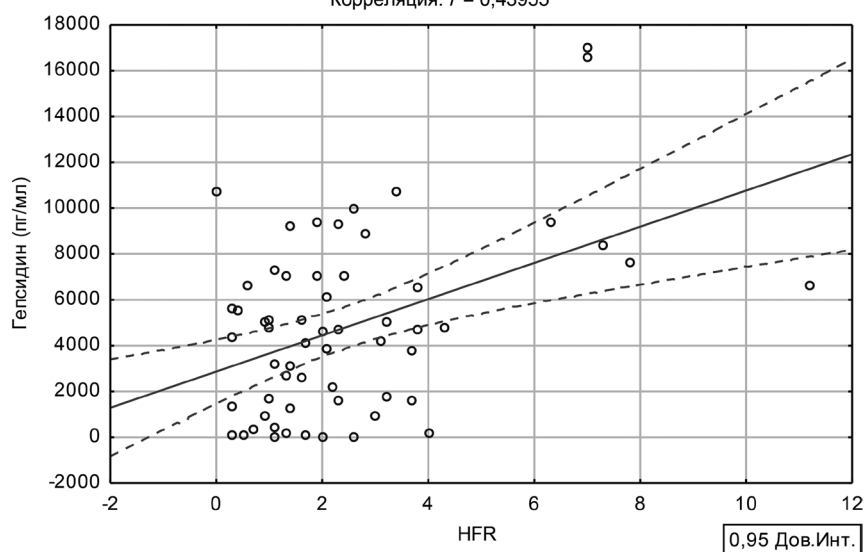


Рисунок 2. Взаимосвязь между уровнями содержания гепсидина и незрелых форм ретикулоцитов

Диаграмма рассеяния: Ферритин vs. Гепсидин (пг/мл) (Построч.удаление ПД)

$$\text{Гепсидин (пг/мл)} = 3288,2 + 13,963 * \text{Ферритин}$$

Корреляция: $r = 0,49398$

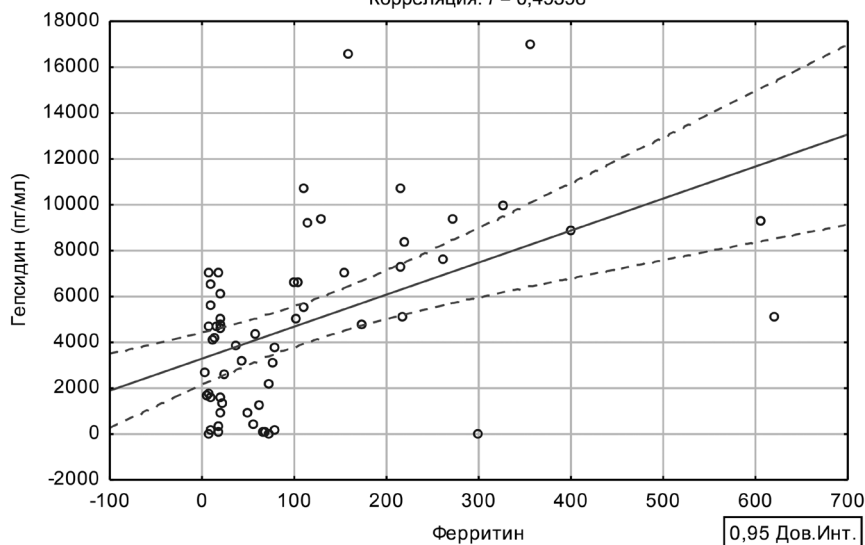


Рисунок 3. Взаимосвязь между уровнями содержания гепсидина и ферритина

Диаграмма рассеяния: СОЭ vs. Гепсидин (пг/мл) (Построч. удаление ПД)

$$\text{Гепсидин (пг/мл)} = 1945,3 + 153,96 * \text{СОЭ}$$

Корреляция: $r = 0,60306$

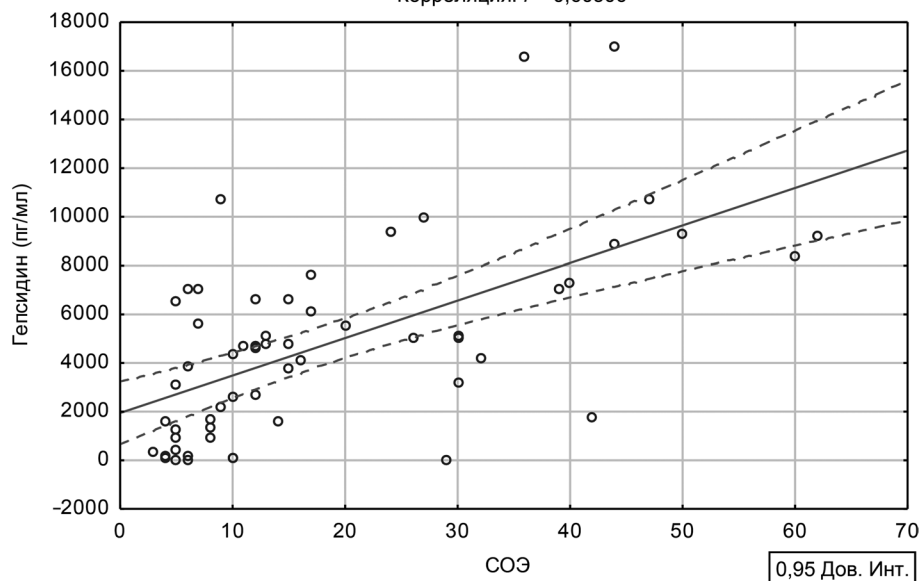


Рисунок 4. Взаимосвязь между уровнем гепсидина и скоростью оседания эритроцитов

оседания эритроцитов ($r = 0,60$; $p < 0,05$), что доказывает воспалительную причину повышения концентрации данного соединения у пациентов с ЮИА (рис. 4). Наличие воспалительного процесса, сопровождающегося повышением в крови провоспалительных белков (фибриноген, СРБ, иммунноглобулины), приводит к снижению отрицательного заряда эритроцитов, что способствует образованию агрегатов эритроцитов и увеличению молекулярной массы и более быстрому их оседанию (увеличение СОЭ).

Умеренные прямые корреляционные связи были выявлены с другими показателями воспаления: СРБ ($r = 0,37$; $p < 0,05$), ИЛ-6 ($r = 0,27$; $p < 0,05$), содержание сегментоядерных форм нейтрофилов ($r = 0,30$; $p < 0,05$).

Учитывая выявленные зависимости между содержанием гепсидина и развитием анемии был рассчитан относительный риск ее развития в зависимости от степени повышения гепсидина. При его увеличении более 4760,0 пг/мл относительный риск развития анемии составил 2,28 (1,01–5,13; 95 % ДИ, $p = 0,04$). Таким образом, имеется статистическая значимость влияния повышения гепсидина на частоту развития анемии у пациентов с ЮИА.

Выводы

1. У детей с ювенильным идиопатическим артритом повышение содержания гепсидина

в крови сопровождается увеличением риска развития анемии. Наиболее ранними маркерами развития данной анемии являются снижение содержания гемоглобина в эритроците, уменьшение среднего объема эритроцита, увеличение синтеза незрелых форм ретикулоцитов.

2. Нарушение обмена железа у детей с ювенильным идиопатическим артритом сопровождается активацией эритропоэза (увеличение синтеза эритропоэтина), увеличением запасов железа в ретикулоэндотелиальной системе (увеличение содержания ферритина) и отсутствием нарушений его транспорта (трансферрин).

3. Гепсидин выступает маркером как активности воспалительного процесса у детей с ЮИА, так и влияет на распределение железа между его хранением и функционально активным пулом. Определение содержания гепсидина у пациентов с ЮИА позволяет выявить риск развития анемии у данной группы пациентов, что указывает на необходимость проведения противовоспалительной базисной терапии.

Литература

1. Nikolaisen, C. Anemia in early rheumatoid arthritis is associated with interleukin 6-mediated bone marrow suppression, but has no effect on disease course or mortality / C. Nikolaisen [et al.] // J Rheumatol. – 2008. – Vol. 35, № 3. – P. 380–386.

2. *Andrews, N. C.* Anemia of inflammation: the cytokine-hepcidin link // *J Clin Invest.* 2004. – Vol. 113, № 9. – P. 1251–1253. doi: 10.1172/JCI21441.

3. *Nemeth, E.* IL-6 mediates hypoferraemia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin / *E. Nemeth [et al.] // J Clin Invest.* – 2004. – Vol. 113, № 9. – P. 1271–1276. doi: 10.1172/JCI20945.

4. *Masson, C.* Rheumatoid anemia // *Joint Bone Spine.* – 2011. – Vol. 78, № 2. – P. 131–137. doi: 10.1016/j.jbspin.2010.05.017.

5. *Lang, F.* Mechanisms and significance of eryptosis / *F. Lang [et al.] // Antioxid Redox Signal.* – 2006. – Vol. 8(7-8). – P. 1183–1192. doi: 10.1089/ars.2006.8.1183.

References

1. *Nikolaisen, C.* Anemia in early rheumatoid arthritis is associated with interleukin 6-mediated bone marrow suppression, but has no effect on disease course or mor-

tality / *C. Nikolaisen [et al.] // J Rheumatol.* – 2008. – Vol. 35, № 3. – P. 380–386.

2. *Andrews, N. C.* Anemia of inflammation: the cytokine-hepcidin link // *J Clin Invest.* 2004. – Vol. 113, № 9. – P. 1251–1253. doi: 10.1172/JCI21441.

3. *Nemeth, E.* IL-6 mediates hypoferraemia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin / *E. Nemeth [et al.] // J Clin Invest.* – 2004. – Vol. 113, № 9. – P. 1271–1276. doi: 10.1172/JCI20945.

4. *Masson, C.* Rheumatoid anemia // *Joint Bone Spine.* – 2011. – Vol. 78, № 2. – P. 131–137. doi: 10.1016/j.jbspin.2010.05.017.

5. *Lang, F.* Mechanisms and significance of eryptosis / *F. Lang [et al.] // Antioxid Redox Signal.* – 2006. – Vol. 8(7-8). – P. 1183–1192. doi: 10.1089/ars.2006.8.1183.

Поступила 05.01.2024 г.