

УДК: 616.155.392.2–008.9–053.2

## **ОСОБЕННОСТИ МЕТАБОЛИЗМА ЖЕЛЕЗА У ДЕТЕЙ С ОСТРЫМ ЛИМФОБЛАСТНЫМ ЛЕЙКОЗОМ**

**Тарасова Н.Е., Теплякова Е.Д., Шестопапов А.В., Сависько А.А., Асланян К.С.**

*ГБОУ ВПО Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Россия (344022, г. Ростов-на-Дону, пер. Нахичеванский, 29) [elenatepl@rambler.ru](mailto:elenatepl@rambler.ru)*

Проведен анализ показателей обмена железа, таких как содержание железа сыворотки крови, общая железосвязывающая способность сыворотки крови, ненасыщенная железосвязывающая способность сыворотки крови, коэффициент насыщения трансферина железом и содержание гепсидина у детей с острым лимфобластным лейкозом на этапах проведения полихимиотерапии. В проведенном исследовании выявлено повышение содержания железа и гепсидина на протяжении всей проводимой полихимиотерапии. При этом в каждый период наблюдения причины повышения гепсидина, по нашему мнению, различны. В начале заболевания в период разгара клинических проявлений основной причиной гиперпродукции гепсидина являются инфекционные осложнения и прогрессия опухолевого клона, вследствие чего происходит усугубление анемии. С другой стороны в дальнейшем после выхода пациентов в ремиссию, уменьшения инфекционных осложнений и вторичных воспалительных заболеваний, в условиях сохраняющейся гипоксии повышенный синтез гепсидина вероятнее всего обуславливает перегрузка железом, возникающая после многократных гемотрансфузий. Выявленные изменения обмена железа на различных этапах полихимиотерапии у детей с острым лимфобластным лейкозом подтверждают регуляторную роль гепсидина в метаболизме железа. Гепсидин может выступать в качестве высокоинформативного вспомогательного маркера, наряду с основными показателями обмена железа, которые целесообразно постоянно мониторировать у детей с острым лимфобластным лейкозом.

Ключевые слова: острый лимфобластный лейкоз, дети, обмен железа, гепсидин.

## **PECULIARITIES OF IRON METABOLISM AMONG CHILDREN WITH ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA**

**Tarasova N. E., Teplyakova E. D., Shestopalov A.V., Savisko A. A., Aslsnyan K.S.**

*Rostov State Medical University  
(344022 Russia, Roston-on-Don, Nahichevansky Street 29), [elenatepl@rambler.ru](mailto:elenatepl@rambler.ru)*

The analysis of indicators of iron metabolism, such as the iron content of blood serum, total iron binding capacity of blood serum, unsaturated iron binding capacity of blood serum, iron saturation coefficient of transferrin and content of hepcidin among children with acute lymphoblastic leukemia at the stages of chemotherapy was carried out. At the same time in each period of observation the causes of the increase of hepcidin, in our opinion, are different. At the beginning of the disease during the height of the clinical manifestations the leading cause of overproduction of hepcidin are infectious complications and progression of tumoral clone, resulting in anemia aggravation. Later on during the remission period, the reduction of infectious complications and secondary inflammatory diseases, in a persistent hypoxia conditions the increased synthesis of hepcidin is most likely caused by iron overloading that occurs after repeated blood transfusions. The revealed changes of iron metabolism at various stages of polychemotherapy among children with acute lymphoblastic leukemia confirm a regulatory role of hepcidin in iron metabolism. Hepcidin can act as a highly informative supporting marker, along with the core indicators of iron metabolism, which are to be constantly monitored among children with acute lymphoblastic leukemia.

Key words: acute lymphoblastic leukemia, children, the exchange of iron hepcidin.

Анемии у детей с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), получающих полихимиотерапию, не только снижает качество жизни больных, но также оказывает негативное влияние на результаты лечения, способствует частому развитию инфекционных и других осложнений [6]. Множественные трансфузии эритроцитарной массы, применяемые для коррекции анемии, также неблагоприятно влияют на результаты лечения, вызывают развитие перегрузки железом внутренних органов и оказывают иммунодепрессивное воздействие [2]. Однако метаболизм железа при анемии лейкоза в настоящее время изучен недостаточно, а данные об участии в этом процессе регулятора железа – гепсидина – практически отсутствуют.

Гепсидин является универсальным регулятором метаболизма железа, который влияет и на абсорбцию пищевого железа, его высвобождение из макрофагов при разрушении стареющих эритроцитов. Гепсидин – 25-аминокислотный пептид, вырабатываемый гепатоцитами. Также гепсидин может синтезироваться макрофагами [8], жировыми клетками и кардиомиоцитами [7]. Он циркулирует в плазме, фильтруется почками и аккумулируется в моче. К настоящему моменту установлено, что гепсидин является отрицательным регулятором метаболизма железа [7]. Изначально гепсидин был описан как мочевой антимикробный пептид, но его бактериальная и грибковая цитотоксическая роль сомнительна. Однако ген гепсидина ответствен за воспаление, в связи с этим его можно рассматривать в качестве посредника примитивного иммунного пути, ограничивающего использование железа инвазивными организмами. Повышение экспрессии гепсидина является характерным ответом на инфекцию.

В связи с вышеизложенным целью работы явилось исследование особенностей регуляции обмена железа у детей с ОЛЛ на этапах полихимиотерапии.

**Материалы и методы.** В исследование были включены 34 ребенка в возрасте от 2 до 16 лет, поступивших в детское отделение клиники Ростовского государственного медицинского университета и отделение онкологии и гематологии ГБУЗ «Областная детская больница» (г. Ростова-на-Дону) с впервые диагностированным ОЛЛ стандартной (SRG) и промежуточной (MRG) группами риска. Все пациенты получали полихимиотерапию по протоколу ALL-MB-2002, ALL-MB-2008. Больных группы высокого риска (HRG) в данное исследование не включали в связи с существенными отличиями в схеме терапии и характере течения основного заболевания. При этом у всех детей с ОЛЛ был констатирован статус ремиссии по основному заболеванию на 15 день протокольного химиотерапевтического лечения и после окончания интенсивного курса полихимиотерапии. Обследование больных проводили в динамике: при поступлении в клинику до начала химиотерапии (1а группа),

после проведения индукции ремиссии (1б группа) и после окончания интенсивной полихимиотерапии (1в группа). Всем пациентам на различных этапах полихимиотерапии проводилась трансфузионная терапия, в том числе переливание эритроцитарной массы. При этом основная трансфузионная нагрузка приходилась на следующие этапы терапии: до проведения ПХТ и в период проведения индукции ремиссии (таблица 1). Группу сравнения составили 32 ребенка I и II групп здоровья, сопоставимых по возрасту и полу.

**Таблица 1**

Объем проводимой трансфузионной терапии эритроцитарной массой у детей с ОЛЛ на этапах полихимиотерапии

Показатели	1а группа n=34	1б группа n=34	1в группа n=34
Количество детей, получивших переливание эритроцитарной массы, чел. (%)	29 (85,24%)	34 (100,00%)	11 (32,35%)
Среднее количество гемотрансфузий на 1 человека в группе, $M \pm m$	1,03 $\pm$ 0,07	4,28 $\pm$ 0,36	0,52 $\pm$ 0,11
Средний объем перелитой эритроцитарной массы на 1 человека в группе, мл, $M \pm m$	294,45 $\pm$ 32,14	1224,90 $\pm$ 146,51	150,91 $\pm$ 41,93

Всем пациентам было проведено клинико-инструментальное обследование, включающее определение содержания эритроцитов, гемоглобина (Hb), железа в сыворотке крови, общей железосвязывающей способности сыворотки (ОЖСС) крови, ненасыщенной железосвязывающей способности сыворотки (НЖСС), коэффициент насыщения трансферина железом (КНТ железом), гепсидина сыворотки. Гепсидин определяли с помощью иммуноферментного анализа (PeninsulaLaboratories, США).

Статистическая обработка результатов проведена с применением ПО MicrosoftOfficeExcel и Statistica, 6.0. Результаты представлены в виде средняя выборочная ( $M$ )  $\pm$  ошибка средней величины ( $m$ ). При нормальном распределении выборки для сравнения средних величин использовали критерий Стьюдента, а при отличии от нормального – критерий Манна – Уитни и Вилкоксона. Проверку на нормальность распределения проводили с помощью критерия Колмогорова – Смирнова. Различия принимали как статистически значимые при  $p < 0,05$ .

#### **Результаты исследования и их обсуждение**

Степень выраженности анемического синдрома верифицировали по количеству эритроцитов и гемоглобина (Hb). Количество эритроцитов  $> 3,0 \times 10^{12}/л$ , уровень Hb  $> 90$  г/л

соответствовал I степени, количество эритроцитов  $2,5-3,0 \times 10^{12}/л$ , уровень Hb 70-90 г/л – II степени, количество эритроцитов  $< 2,5 \times 10^{12}/л$ , уровень Hb  $< 70$  г/л – III степени.

Анализ содержания эритроцитов и Hb у детей с острым лимфобластным лейкозом выявил достоверное снижение обоих показателей во всех группах по сравнению с контрольной группой (таблица 2).

**Таблица 2**

Степень выраженности анемии у детей с ОЛЛ на разных этапах полихимиотерапии

Показатели	1а группа n=34	1б группа n=34	1в группа n=34
I степень	15 (44,12%)	16 (47,05%)	19 (55,88%)
II степень	11 (32,36%)*,**	6 (17,65%)*	3 (8,82%)**
III степень	6 (17,64%)***	0 (0%)*	1 (2,94%)**
Отсутствие анемии	2 (5,88%)***	12 (35,24%)*	11 (32,35%)**

Примечание: \* - статистически значимые различия при сравнении 1а и 1б групп ( $p < 0,05$ );  
\*\* - статистически значимые различия при сравнении 1а и 1в групп ( $p < 0,05$ )

При анализе показателей 1а группы анемический синдром был выявлен у 32 детей с ОЛЛ (94,12 %) (таблица 2).

У этих больных в дебюте заболевания было отмечено достоверное ( $p < 0,001$ ) снижение уровня эритроцитов до  $3,03 \pm 0,09 \times 10^{12}/л$ , Hb до  $88,50 \pm 2,80$  г/л по сравнению с контрольной группой при нормальном цветовом показателе. Выявленные изменения сопровождались достоверным повышением содержания железа в сыворотке крови ( $26,06 \pm 2,19$  мкМ/л) и значительным ( $p < 0,05$ ) снижением ОЖСС и НЖСС до  $42,22 \pm 1,16$  мкМ/л и  $15,71 \pm 2,36$  мкМ/л соответственно, по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ). Наряду с этим было определено достоверное двухкратное увеличение КНТ железом ( $p < 0,05$ ) по отношению к контрольной группе (таблица 3). Выявленная в начале заболевания картина свидетельствует о развитии анемии, которая не является железодефицитной. Напротив, уровень железа на данном этапе заболевания был повышенным. Это свидетельствует о снижении утилизации железа, что ведет к его накоплению в сыворотке крови, в результате чего повышается КНТ железом. Вместе с этим было установлено, что содержание гепсидина в сыворотке крови в данной группе превышает контрольные показатели в 22,64 раза ( $p < 0,05$ ).

**Таблица 3**

Показатели обмена железа детей с острым лимфобластным лейкозом на этапах полихимиотерапии

Показатели	Fe, мкМ/л M $\pm$ m n=34	ОЖСС, мкМ/л M $\pm$ m n=34	НЖСС, мкМ/л M $\pm$ m n=34	КНТ железом, % M $\pm$ m n=34	Гепсидин, пг/мл M $\pm$ m n=24
1а группа	26,06 $\pm$ 2,19*	42,22 $\pm$ 1,16*	15,71 $\pm$ 2,36*	63,50 $\pm$ 5,22*	232,30 $\pm$ 42,12*
1б группа	17,68 $\pm$ 1,26*	44,15 $\pm$ 0,90*	26,47 $\pm$ 1,44*	40,13 $\pm$ 2,96*	140,70 $\pm$ 38,36*
1в группа	19,39 $\pm$ 0,95*	44,81 $\pm$ 0,92*	25,19 $\pm$ 1,49*	44,82 $\pm$ 2,72*	105,29 $\pm$ 19,39*
Контрольная группа	14,82 $\pm$ 0,82	51,52 $\pm$ 0,85	35,69 $\pm$ 1,18	31,36 $\pm$ 1,61	10,26 $\pm$ 1,93

Примечание: \* – статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ), \*\* – статистически значимые различия по сравнению с 1а группой ( $p < 0,05$ )

Учитывая, что гепсидин является отрицательным регулятором метаболизма железа, блокирующим всасывание и рециркуляцию железа, включая воздействие на энтероциты и макрофаги [5], увеличение количества железа в организме может привести к стимуляции синтеза гепсидина, что в свою очередь способствует снижению абсорбцию железа в кишечнике и уменьшает его транспорт в циркуляцию.

Гипоксия является одним из механизмов, регулирующих выработку гепсидина, и может подавлять экспрессию гепсидина в гепатоцитах напрямую, без посредников. Кроме этого, гипоксия-индуцируемый фактор (HIF) является посредником ответной реакции гепсидина на гипоксию [1]. Однако при анемии ОЛЛ у детей в дебюте заболевания не наблюдается подавления выработки гепсидина на фоне гемической гипоксии. Возможно, это связано с тем, что анемию у этих больных можно рассматривать как анемию воспалительных процессов, вследствие наличия опухолевой массы и различных инфекционных заболеваний в дебюте ОЛЛ. При этом доминирующим активатором экспрессии гепсидина является ИЛ-6 [1]. Анемия воспалительного процесса связана с ненормальной утилизацией железа, низким ответом эритропоэтина, сниженной выживаемостью эритроцитов.

После проведения индукции ремиссии в 1б группе было выявлено сохранение анемии у 22 детей (63,1 %). Достоверно выше процент детей в данной группе по сравнению с 1а группой с отсутствием анемического синдрома (таблица 2). Вероятно, это связано с проведенными заместительными гемотрансфузиями и восстановлением активности эритроидного ростка кроветворения.

У пациентов этой группы было отмечено сохранение нормохромной анемии, наблюдавшейся до начала полихимиотерапии, но меньшей степени выраженности. Об этом

свидетельствует достоверно сниженный по сравнению с контрольной группой уровень эритроцитов и гемоглобина, составляющий  $3,49 \pm 0,08 \times 10^{12}/л$  и  $109,50 \pm 2,27$  г/л соответственно ( $p < 0,001$ ). Вместе с тем у детей с ОЛЛ на данном этапе полихимиотерапии содержание железа сыворотки крови оставалось достоверно повышенным ( $17,68 \pm 1,26$  мкМ/л) по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ), однако, в меньшей степени по сравнению с предыдущим сроком исследования. Одновременно с этим было установлено значимое снижение ОЖСС и НЖСС до  $44,15 \pm 0,90$  мкМ/л и  $26,47 \pm 1,44$  мкМ/л соответственно по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ). У детей данной группы также был в 1,27 раз повышен КНТ железом по сравнению с контрольной группой (таблица 3). На фоне постепенного восстановления показателей красной крови у детей 1б группы регистрировалось умеренное снижение содержания железа сыворотки относительно 1а группы. Вероятно, умеренное снижение железа сыворотки крови у детей 1б группы, остающееся, тем не менее, более высоким, чем в контрольной группе. Вышеизложенное может свидетельствовать о более эффективном, активном использовании железа в процессе эритропоэза. Одновременно с этим у данной группы больных регистрировалось достоверно повышенное содержание гепсидина сыворотки крови до  $140,70 \pm 38,36$  пг/мл ( $p < 0,05$ ) по отношению к контрольной группе, в то время как у детей 1а группы его концентрация достоверно уменьшается ( $p < 0,05$ ) (таблица 3). Некоторое снижение гепсидина по сравнению с началом заболевания может быть объяснено, с одной стороны, отсутствием опухолевой массы, снижением инфекционно-воспалительных заболеваний в этот период, а с другой стороны, сохраняющейся гемической гипоксией. Кроме того, совсем недавно в экспериментальных условиях было определено, что сигналы эритропоэтина снижают экспрессию гепсидина через механизм, вовлекающий транскрипционный фактор C/EBP $\alpha$ , который связывается со специфичными участками ДНК на промоторе гена гепсидина [9]. Эти и другие факторы, продуцируемые эритропоэтическими клетками в ответ на анемию или гипоксию, вносят непосредственный вклад в супрессию синтеза гепсидина в естественных условиях.

В тоже время содержание гепсидина не нормализуется, а превышает значения контрольной группы в 13,71 раз. Это может свидетельствовать о достаточно высоком содержании железа в организме, поскольку гепсидин является отрицательным регулятором обмена железа. Следовательно, высокий «лабильный» пул железа вызывает повышенную экспрессию гена гепсидина в печени, что приводит к повышению его концентрации в плазме.

После окончания интенсивного курса полихимиотерапии в 1в группе сохранялись изменения, установленные в 1б группе. При этом анемический синдром был выявлен у 23

детей (67,65 %) данной группы. Количество детей с отсутствием анемического синдрома было достоверно выше по сравнению с 1а группой и не отличалось от 1б группы (таблица 2).

Со стороны показателей красной крови определялась нормохромная анемия, о чем свидетельствовало достоверное снижение эритроцитов до  $3,42 \pm 0,06 \times 10^{12}/л$  и гемоглобина до  $108,30 \pm 2,07$  г/л по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,001$ ). Содержание железа сыворотки крови, также как и КНТ железом, оставалось достоверно повышенным и по сравнению с контрольной группой. При этом уровни ОЖСС и НЖЖЖ были достоверно снижены, как и в 1б группе (таблица 3). Вместе с тем было выявлено дальнейшее снижение содержания гепсидина сыворотки крови. В динамике терапии уровень гепсидина уменьшился в 2,2 раза в сравнении с 1а группой (таблица 3). Полученные данные свидетельствуют в пользу сохраняющейся гипоксии, несмотря на отсутствие опухолевой интоксикации и снижение интенсивности воспалительных и инфекционных процессов.

Однако по сравнению с группой контроля уровень гепсидина оставался еще повышенным. Данный факт можно объяснить тем, что при восстановленном кроветворении происходят качественные изменения собственных, а не полученных с гемотрансфузией, эритроцитов. Возможно, собственные эритроциты после достижения ремиссии заболевания способны более эффективно осуществлять кислородтранспортную функцию, что указывает на включение модуляционных механизмов, компенсирующих гемическую гипоксию [3,4]. Сохранение повышенного содержания гепсидина в сыворотке крови свидетельствует и о высоком содержании железа в организме, возникающем в результате проведенных гемотрансфузий.

#### Заключение

Таким образом, в проведенном исследовании выявлено повышение содержания железа и гепсидина сыворотки крови на протяжении всей проводимой полихимиотерапии у пациентов с ОЛЛ. При этом в каждый период проведения полихимиотерапии причины повышения гепсидина, по нашему мнению, были различны. По-видимому, в начале заболевания в период разгара клинических проявлений основной причиной гиперпродукции гепсидина являются инфекционные осложнения и прогрессия опухолевого клона, вследствие чего происходит усугубление анемии. С другой стороны, в дальнейшем после выхода пациентов в ремиссию, уменьшения инфекционных осложнений и вторичных воспалительных заболеваний, в условиях сохраняющейся гипоксии повышенный синтез гепсидина, вероятнее всего, обуславливает перегрузка железом, возникающая после многократных гемотрансфузий. Выявленные изменения обмена железа на различных этапах полихимиотерапии у детей с ОЛЛ могут свидетельствовать о регуляторной роли гепсидина в

метаболизме железа. При этом гепсидин может выступать в качестве высокоинформативного вспомогательного маркера, наряду с основными показателями обмена железа, которые целесообразно постоянно мониторировать у детей с ОЛЛ, а при необходимости проводить хелаторную терапию.

#### Список литературы

1. Павлов А.Д., Морщакова Е.Ф., Румянцев А.Г. Эритропоэз, эритропоэтин, железо. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 304 с.
2. Сараева Н.О. Механизмы развития анемии при гемабластозах // Гематология и трансфузиология. – 2007. – Т. 52, № 1. – С. 31-37.
3. Теплякова Е.Д. Оценка диастолической функции миокарда и кислородтранспортной функции крови у детей с острыми лимфобластными лейкозами на этапах проведения полихимиотерапии / Е.Д.Теплякова Н.Е. Тарасова, С.П. Пармон и др. // Вестник Волгоградского медицинского университета. – 2011. – Т. 3, № 39. – С.66-68.
4. Braliou G.G. 2-Oxoglutarate-dependent oxygenases control hepcidin gene expression // J. Hepatol. – 2008.Vol. 48, № 5. – P. 801-810.
5. Lesbordes-Brion J.C. Targeted disruption of the hepcidin 1 gene results in severe hemochromatosis // Blood. – 2006. – Vol. 108, № 4. – P. 1402-1405.
6. Ludwigg H. The European Cancer Anaemia Survey (ECAS): a large, multinational, prospective survey defining the prevalence, incidence, and treatment of anaemia in cancer patients / H. Ludwigg, S. Van Belle, P. Barrett-Lee // Eur. J. Cancer. – 2004. – № 40. – P. 2293-2306.
7. Merle U. The iron regulatory peptide hepcidin is expressed in the heart and regulated by hypoxia and inflammation // Endocrinology. – 2007. –Vol. 148, № 6. – P. 2663-2668.
8. Peyssonnaud C., Role of the hypoxia inducible factors HIF in iron metabolism / C. Peyssonnaud, V. Nizet, R.S. Johnson // Cell Cycle. – 2008. – Vol. 7, № 1. – P. 28-32.
9. Pinto J.P.. Erythropoietin mediates hepcidin expression in hepatocytes through EPOR signaling and regulation of C/EBPalpha // Blood. – 2008. – Vol. 111, № 12. – P. 5727-5733.

#### **Рецензенты:**

Никогосова О.В., д.м.н., зав. центром реабилитации ГБУ РО «Областная детская больница», г. Ростов-на-Дону.

Чепурная М.М., д.м.н., профессор, заведующая отделением пульмонологии ГБУ РО «Областная детская больница», г. Ростов-на-Дону.