

© Коллектив авторов, 2007

А.А. Левина<sup>1</sup>, Т.В. Казюкова<sup>2</sup>, Н.В. Цветаева<sup>1</sup>, А.И. Сергеева<sup>3</sup>,  
Ю.И. Мамукова<sup>1</sup>, Е.А. Романова<sup>1</sup>, М.М. Цыбульская<sup>1</sup>

## ГЕПСИДИН КАК РЕГУЛЯТОР ГОМЕОСТАЗА ЖЕЛЕЗА

<sup>1</sup>ГУ «Гематологический научный центр РАМН», <sup>2</sup>ГОУ ВПО «Российский государственный медицинский университет Росздрава», Москва; <sup>3</sup>ГОУ ВПО «Чувашская медицинская академия Росздрава», г. Чебоксары, РФ

В работе анализируются современные представления о гепсидине – одном из основных метаболитов феррокинетики и представлены впервые публикуемые собственные данные, полученные в результате определения гепсидина иммунохимическим методом, разработанным авторами на основе применения антител к гепсидину. Используя литературные данные, авторы доказывают, что гепсидин является отрицательным регулятором обмена железа и может применяться для дифференциальной диагностики истинного дефицита железа и анемии хронических воспалительных заболеваний (АХВЗ), поскольку его уровень повышается при различных инфекциях и снижается при анемии и гипоксии. При анализе литературных источников большое внимание уделяется гепсидину как одному из антибактериальных агентов, который предотвращает поступление железа в очаг воспаления, тем самым препятствуя размножению патогенных микроорганизмов. Приведены собственные данные по содержанию гепсидина у здоровых детей и взрослых, а также у пациентов с различными заболеваниями (аутоиммунная гемолитическая анемия, АХВЗ, железодефицитная анемия, наследственный гемохроматоз). Впервые представлены результаты определения уровня гепсидина в тканях условно здоровых плодов (абортусы 5–12 нед гестации) и плодов (выкидыши 16–26 нед гестации), погибших в результате вирусной и бактериальной инфекции. Показана важность проведения дальнейших исследований для понимания роли гепсидина в патогенезе анемий, гемохроматоза и других патологических состояний.

Authors analyze current point of view on hepsidin – on of main metabolites of iron metabolism and present proper data of hepsidin determination by immunochemical method, which was outworked by authors on the basis of anti-hepsidin antibodies usage. On the basis of literature and proper data authors show that hepsidin is negative regulator of iron metabolism and can be used for differential diagnosis of true iron deficiency and anemia of chronic inflammatory diseases (ACID), because its level increases in cases of different infections and decreases in cases of anemia and hypoxia. Literature analysis showed that great attention is attracted to hepsidin as one of anti-bacterial agents, preventing iron delivery in focus of inflammation hampers pathogenic agents reproduction. Authors present proper data about hepsidin concentration in healthy children and adults and in patients with different diseases (autoimmune hemolytic anemia, ACID, iron-deficient anemia, hereditary hemochromatosis). Article presents new original results of hepsidin determination in tissue of aborted fetuses (5–12 weeks of gestation) and miscarried fetuses (18–26 weeks of gestation), then miscarriage was induced by viral or bacterial infection. Authors showed importance of further studies for determination of hepsidin role in pathogenesis of anemia, hemochromatosis and other pathologic states.

Железо (Fe) является необходимым элементом для всех живых организмов, поскольку входит в функциональные группы белков, транспортирующих кислород, и ферментов, катализирующих реакции генерации энергии и метаболических процессов. В то же время избыток свободного Fe ведет к локальному повреждению тканей за счет усиления активности образования свободных радикалов, а также активации бактерий, использующих Fe хозяина. Поэтому безопасный диапазон содержания Fe в организме достаточно узок и строго контролируется для того, чтобы избежать как дефицита Fe, так и его перегрузки.

Основное Fe, необходимое организму для процессов синтеза, поступает из макрофагов при его рециркуляции из стареющих эритроцитов. Этот

процесс осуществляется ферропортином, гемовой оксидазой, дуоденальным транспортером двухвалентных металлов (DMT-1), а регулируется несколькими протеинами, к числу которых относятся белок наследственного гемохроматоза (HFE), железосвязывающие элементы (IRE) и железосвязывающий протеин (IRP) [1].

В процессе регуляции гомеостаза Fe принимает участие ряд белков, которые контролируют всасывание Fe из пищи в тонком кишечнике и рециркуляцию Fe из макрофагов. Всасывание Fe происходит в клетках эпителиального слоя дуоденального отдела кишечника – энтероцитах [2]. Белки, ответственные за метаболизм Fe, экспрессируются в соответствии с запросами организма в Fe. Когда количество Fe в тканях падает ниже критического

уровня, энтероцит увеличивает его абсорбцию, пока не произойдет насыщения, после чего происходит восстановление внутреннего эпителия, и абсорбция Fe снижается [1]. На различных этапах этого процесса принимают участие DMT-1, IRE и IRP, от их взаимодействия зависит экспрессия трансферринового рецептора (ТФР) в дуоденальной крипте и, соответственно, всасывание Fe. В свою очередь, доставку Fe тканям осуществляют HFE и ферропортин. При этом HFE, связывая ТФР с высокой степенью аффинности, регулирует процессы трансфера, а при помощи ферропортина происходит непосредственный транспорт Fe через мембрану в плазму [3].

В плазму транспортную функцию по доставке Fe выполняет главный железотранспортный белок – трансферрин, а запасается и хранится Fe в ферритине. Кроме того, в метаболизме Fe принимает участие и лактоферрин (ЛФ) – железосвязывающий белок нейтрофилов и эпителиальных секретов. Основными регуляторами как выхода Fe из макрофагов, так и его абсорбции в кишечнике, являются потребность в нем для гемопоэза, пищевой фактор и насыщение в тканях [3].

Таким образом, абсорбция Fe, его рециркуляция, хранение и утилизация являются процессами связанными, но дистанционно удаленными. Поэтому естественно было предположить, что существует гуморальный регулятор, влияющий на эти процессы.

Как установлено в последние годы, роль универсального гуморального регулятора метаболизма Fe выполняет гепсидин. Гепсидин является 25-аминокислотным пептидом, богатым цистеином, с 4 дисульфидными мостиками, который синтезируется в печени. Человеческий гепсидин образуется из С-терминальной части 84-аминокислотного предшественника. Впервые гепсидин был изолирован и описан Park и соавт. из мочи [4]. В дальнейшем этот пептид был выделен также и из плазмы. Пропептид гепсидина кодируется мРНК, генерируемой из 3-го экзона USF-2 гена, расположенного на хромосоме 19. Hunter и соавт. [5] установили структуру молекулы гепсидина. Этот пептид представляет собой «шпильку», у которой две «руки» связаны дисульфидными мостиками в лестницеобразной конфигурации. Необычной чертой молекулы гепсидина является присутствие дисульфидных связей между двумя соседними цистеинами неподалеку от поворота «шпильки», что является характерным химическим признаком стрессовой ситуации и может иметь высокую реактивность.

Прежде всего гепсидин обладает ярко выраженными антибактериальными свойствами. Подобно другим антибактериальным пептидам гепсидин способен разрывать бактериальную мембрану, что происходит за счет его структуры – пространственного разделения боковых цепей: гидро-

фильных (положительнозаряженных) и гидрофобных (отрицательнозаряженных). Вместе с тем в отличие от других антибактериальных белков, гепсидины различных млекопитающих обладают поразительной идентичностью аминокислотных последовательностей. Постоянство молекулы гепсидина навело исследователей на мысль, что этот пептид предназначен также для специального взаимодействия с другими макромолекулами. Было отмечено, что уровень гепсидина в моче при развитии системной инфекции повышается в 100 и более раз. Это и легло в основу положения о том, что гепсидин является медиатором врожденного иммунитета. Однако, как было выяснено в последние годы, роль гепсидина в организме значительно многограннее, чем только антибактериальная защита. Связь между гепсидином и метаболизмом Fe была впервые показана Pigeon и соавт. [6], которые доказали, что избыток Fe индуцирует синтез гепсидина гепатоцитами, причем было показано, что мРНК экспрессируется не только под воздействием богатой Fe диеты, но также и под влиянием липополисахаридов (ЛПС).

Использование современных генноинженерных технологий с использованием трансгенных линий мышей дали возможность показать, что гепсидин является отрицательным регулятором захвата Fe в тонком кишечнике и выхода Fe из макрофагов, поскольку у линий мышей с отсутствием гена USF-2, т.е. при дефиците гепсидина наблюдается состояние, характерное для гемохроматоза. В последующих работах Fleming и Sly [7] предположили, что гиперпродукция гепсидина во время инфекции и воспаления может быть ответственна за анемию воспаления или анемию хронических заболеваний (АХВЗ). Дальнейшие исследования, проведенные на линиях трансгенных мышей с увеличенной продукцией гена USF-2, показали, что суперэкспрессия гепсидина ведет к острому дефициту Fe. То, что мыши этих линий умирают вскоре после рождения в результате острой анемии, указывает на то, что гепсидин является отрицательным регулятором транспорта Fe и на плацентарном уровне у плодов. Мыши с частичным блокированием гепсидинового гена выживают, хотя они и страдают от дефицита Fe, который не может быть полностью восполнен парентеральным Fe. Поэтому авторы пришли к выводу, что гепсидин обладает блокирующим эффектом на транспорт Fe повсеместно, включая внутренний эпителий, макрофаги, плаценту и другие типы клеток.

Работами Weinstein, Nicolas, Nemeth [8–10] доказано главенствующее влияние гепсидина на возникновение дефицита Fe при АХВЗ. Эти работы были проведены как в модельных экспериментах на трансгенных линиях мышей, так и на людях с инфекционными заболеваниями и воспалением. Nemeth и соавт. [11, 12] исследовали уровни гепсидина и ряда цитокинов у добровольцев при

воспалении, вызванном введением ЛПС. Выяснилось, что через 3 ч после введения агента воспаления происходит увеличение значений провоспалительного цитокина – интерлейкина (ИЛ) 6, а уже через 6 ч определяется пик экспрессии гепсидина и снижение уровня Fe в сыворотке. Изменение концентрации других цитокинов было непродолжительным и быстро возвращалось к норме, хотя одновременно резко повышались уровни интерферона (ИФН), фактора некроза опухоли (ФНО $\alpha$ ) и ИЛ1 $\beta$ . Было показано, что экспрессия мРНК гепсидина при бактериальной инфекции может повышаться в несколько тысяч раз, а уровень гепсидина в моче – в сотни раз. В этих экспериментах, с введением ЛПС как индуктора воспаления, одновременно с повышенной экспрессией гепсидина увеличивался уровень сывороточного ферритина и ИЛ6. Вероятно, бактерии и патоген-специфичные макромолекулы, такие как ЛПС, действуют на макрофаги, включая печеночные Купферовские клетки, и вызывают увеличенную продукцию ИЛ6. Этот цитокин, в свою очередь, инициирует синтез гепсидина гепатоцитами посредством индукции его мРНК. Та же ситуация наблюдается при опухолях: развивается анемия, повышаются уровни гепсидина, ферритина и ИЛ6 [11, 12]. Это еще раз подтверждает положение о том, что увеличение продукции гепсидина при воспалении и способность трансгенного или тумор-модифицированного гепсидина подавлять эритропоэз путем истощения запасов Fe связаны с ключевой ролью гепсидина в метаболизме Fe.

Обратная ситуация возникает при анемиях и гипоксии. В этих условиях наблюдается уменьшение экспрессии гена гепсидина, что ведет к увеличению захвата Fe как из макрофагов, так и из кишечника [13, 14]. При гипоксии происходит увеличение HIF-1 $\alpha$  (гипоксией индуцированного фактора), который контролирует экспрессию гена эритропоэтина (ЭПО), тем самым включаясь в метаболизм Fe. HIF так же, как и ЭПО синтезируется в почках и непосредственного взаимодействия между гепсидином и HIF, видимо, происходить не может, однако прослеживается опосредованное влияние этих гормонов на метаболизм Fe. Параллельно происходит увеличение уровня ЭПО и эритропоэтической активности, что ведет к быстрой мобилизации Fe из ретикулоэндотелиальных клеток и использованию его для синтеза гемоглобина (Hb) [15]. Подавление синтеза гепсидина присутствует как при дефиците Fe, например у трансгенных мышей линий *sla* и *mk*, у которых генетически ограничено всасывание Fe в тонком кишечнике, так и при гемолитических анемиях, вызванных введением фенилгидрозина [16]. По данным Nemeth и соавт. [11], супрессивный эффект гемолитической анемии на выработку гепсидина наблюдается даже при перегрузке организма Fe, подтверждая тем самым, что требования эритропоэза в Fe являются более

сильным стимулом, чем избыток Fe, который должен был бы вызвать индукцию гепсидина. Данная иерархия эффектов объясняет, почему при гемолитических анемиях развивается гемосидероз. Поскольку в подобных случаях уменьшение выработки гепсидина ведет к перегрузке организма Fe, только хелаторная терапия может предотвратить нарастающий избыток Fe. А в будущем (вероятно, не столь уже далеко) эту роль возьмут на себя антагонисты гепсидина, которые смогут регулировать всасывание Fe. При наследственном гемохроматозе (НГХ), вызванном мутациями в гене белка HFE, наблюдается умеренное снижение продукции гепсидина. Однако выявлено несколько семей с мутациями непосредственно в гене гепсидина, когда наблюдается резкий дефицит гепсидина [4, 17]. При этом виде НГХ заболевание проявляется очень рано, а течение его крайне тяжелое и даже возможен фатальный исход до 30 лет.

На основании проведенных работ Nemeth и соавт. [12] предложили схему взаимосвязи между различными компонентами, влияющими на метаболизм Fe. Согласно их предположению, ИЛ1 стимулирует синтез ЛФ, который связывает Fe с большей аффинностью, чем трансферрин, и Fe, связанное с ЛФ, забирается макрофагами и хранится в виде ферритина, тем самым затрудняя соединение Fe с эритроидными клетками. Затем повышается уровень ИЛ6, который влияет на экспрессию гепсидина, что приводит к уменьшению абсорбции Fe в кишечнике и увеличению секвестрации Fe в макрофагах. Этот процесс вызывает дефицит Fe, что приводит к уменьшению пролиферации микроорганизмов. Но, с другой стороны, дефицит Fe приводит к повреждению системы иммунной защиты, изменяя и повреждая функциональную активность лимфоцитов, нейтрофилов и макрофагов. Однако избыток Fe также отрицательно воздействует на эти клетки. Учитывая взаимодействия между ИЛ и гепсидином, видимо, можно представить следующую схему: ИЛ6, как основной провоспалительный агент, резко увеличивается при воспалении, что приводит к индукции гепсидина гепатоцитами. Гепсидин блокирует выход Fe из макрофагов и абсорбцию Fe в кишечнике, что приводит к гипоферремии и в дальнейшем – к анемии (рис. 1).

Как уже было сказано, абсорбция Fe, как из тонкого кишечника, так и из макрофагов является сложным многоступенчатым процессом в котором принимает участие целый каскад белков. Для того чтобы ответить на вопрос о том, как гепсидин регулирует транспорт Fe, Frazer и соавт. [18] изучали показатели различных компонентов абсорбционного пути и уровень гепсидина на модели железодефицитного состояния и при воспалении, вызванном введением полного адьюванта Фрейнда. При дефиците Fe происходило уменьшение гепсидиновой мРНК и соответственно повыша-

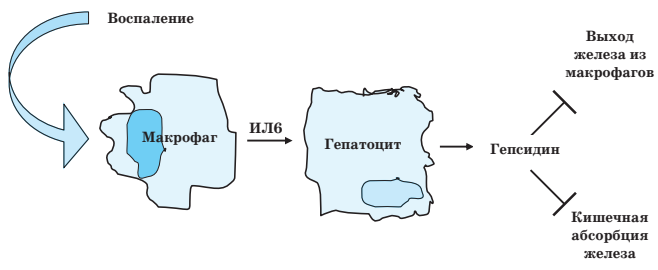


Рис. 1. Регуляция продукции гепсидина при воспалении (цит. по Nemeth E., Rivera S., Gabajan V. et al. [12]). Воспаление вызывает выработку макрофагами ИЛ6, который активизирует индукцию гепсидина гепатоцитами. Гепсидин ингибирует выход Fe из макрофагов и кишечную абсорбцию Fe, вызывая тем самым гипоферремию.

лись значения дуоденального цитохрома В (DcytB), DMT-1 и ферропортина, а уровень гепестина не изменялся. При введении адъюванта Фрейнда мРНК гепсидина максимально увеличивалась через 8 ч, а синтез DcytB и DMT-1 уменьшался через 16 ч, значения же ферропортина и гепестина не изменялись. Однако в регуляции взаимоотношений между гепсидином и DMT-1 остается еще достаточно много вопросов. Например, показано, что время подавления гепсидиновой мРНК изменяется с увеличением экспрессии мРНК дуоденального транспортера и зависит от дифференциации клеток крипты в эпителиальные клетки, но нет ясности по поводу того, в какой момент происходит увеличение абсорбции Fe через эпителий кишечника. В свою очередь, несмотря на очевидность того, что продукция гепсидина регулируется уровнем Fe, до сих пор нет понимания природы данного сигнала. Установлено, что гепсидиновая мРНК не содержит регуляторных механизмов, распознающих Fe, но может регулироваться транскрипционным фактором, на который влияет избыток Fe [18].

Таким образом, представленный обзор литературы показывает, что гепсидин может считаться принципиальным железорегуляторным гормоном, ключевым медиатором АХВЗ и «мостом» между естественным иммунитетом и метаболизмом Fe (рис. 2). Если данное положение верно, то в будущем возможно применение гепсидина и его антагонистов в качестве средств терапии как при гемохроматозе, так и анемии воспаления, резистентной к ЭПО.

Для определения гепсидина в настоящее время в основном применяют два метода: либо измерения концентрации мРНК гепсидина, либо определение уровня гепсидина в моче (в расчете на креатинин) [19]. Оба метода являются трудоемкими и достаточно дорогостоящими.

Учитывая значение определения гепсидина для дифференциальной диагностики анемий, мы решили разработать относительно простой и недо-

рогой метод с использованием иммунохимического анализа.

Как уже указывалось выше, обнаруживаемый в моче гепсидин является 25-аминокислотным пептидом, образующимся из 84-аминокислотного предшественника – прогепсидина, который находится в плазме. В статье Deicher и Hort [15] приводится мнение о том, что определение прогепсидина в сыворотке не полностью отражает уровень гепсидина. Однако, возможно, это связано с тем, что авторы оперируют результатами, полученными при определении гепсидина коммерческим набором, в котором использованы антитела против N-терминальной части молекулы прогепсидина. Мы решили использовать для разработки иммунохимического метода антитела против C-терминального пептида прогепсидина, который обладает всеми антигенными свойствами этого гормона, и считаем, что это правомерно.

Мы использовали коммерческую мышиную антисыворотку и коммерческие моноклональные антитела против молекулы прогепсидина (DRG International Inc., USA). Для получения иммунохимической системы моноклональные антитела были конъюгированы с пероксидазой хрена (Геп-ПХ) по методу Nacone [20]. Использовали твердофазный иммунохимический метод в «сэндвич» варианте. Планшеты (Nunk, Дания) сенсibilizировали поликлональными антителами, в качестве конъюгата применяли полученные нами моноклональные антитела (Геп-ПХ). Опытным путем с использова-

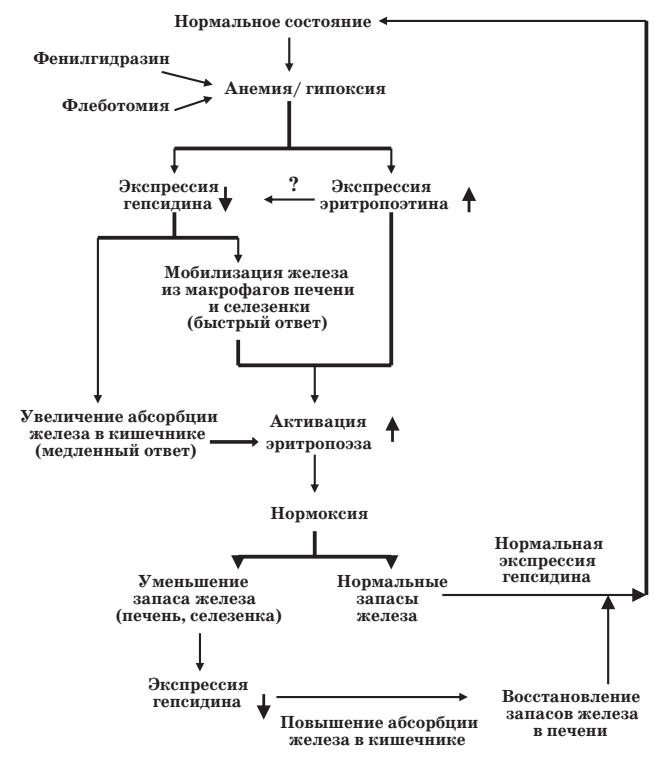


Рис. 2. Смеха главенствующей роли гепсидина в поддержании гомеостаза железа при различных нарушениях (цит. по Nicolas G., Chauvet C., Viatte L. et al. [13]).



нием метода перекрестного титрования были подобраны концентрации всех используемых реагентов и условия проведения реакции (табл. 1).

Таблица 1

**Аналитические характеристики метода иммуноферментного анализа для определения гепсидина в сыворотке крови**

Антиген	Специфичность	Коэффициент вариации	Диапазон определения	Средние значения для доноров
Гепсидин	Более 94,5%	17,5% <sup>1)</sup> 12% <sup>2)</sup>	10–2000 пг/мл	60–85 пг/мл

<sup>1)</sup> для высоких концентраций, <sup>2)</sup> для низких концентраций.

В этой статье мы приводим предварительные результаты по определению уровня гепсидина, без детальной клинической характеристики пациентов, но доказывающие возможность применения разработанного нами метода. Научный и практический интерес представляло определение роли и значений гепсидина при различных гематологических, воспалительных заболеваниях, а также у практически здоровых взрослых и детей (табл. 2).

По нашим данным, уровень гепсидина у практически здоровых людей, как взрослых, так и де-

Таблица 2

**Число пациентов и здоровых людей, в сыворотке крови которых определяли уровень гепсидина**

Группы пациентов и здоровых людей	Количество
Пациенты с аутоиммунной гемолитической анемией (АИГА)	28
Пациенты с АХВЗ	10
Больные железодефицитной анемией (ЖДА)	15
Взрослые доноры (условно здоровые)	20
Практически здоровые дети (12–14 лет)	29
Итого	102

тей, находится в пределах 60–80 пг/мл, составляя в среднем  $60,0 \pm 8,5$  пг/мл.

Показатели уровня гепсидина, полученные у пациентов с различной патологией, представлены в табл. 3–5.

Установлено, что у больных АИГА (табл. 3) в период частичной ремиссии (нормальные значения Hb и повышенное не более чем в 3–5 раз содержание иммуноглобулинов (Ig) на эритроцитах) уровень гепсидина колеблется в довольно широких пределах, но тем не менее остается в границах физиологической нормы (40–105 пг/мл). При ухудшении состояния (но еще до критического падения уровня Hb) содержание гепсидина резко повышается, достигая значений 1500–1800 пг/мл, что, видимо, предотвращает накопление избытка Fe при частичном гемолизе. Однако во время гемолитического криза и падения уровня Hb (ниже 100 г/л) содержание гепсидина резко падает до 10–20 пг/мл, что согласуется с данными Nemeth и соавт., полученными при искусственной гемолитической анемии, вызванной введением фенолгидрозина [11, 12]. В этих случаях потребности организма в эритропоэзе преобладают над контролем за избытком Fe.

У больных НГХ (табл. 4) до начала лечения уровень гепсидина был снижен (3–10 пг/мл), после курса флеботомий он несколько повышался (15–25 пг/мл), но не достигал значений, необходимых, видимо, для предотвращения накопления Fe. Складывается предварительное впечатление, что по мере снижения опасности гемосидероза восстанавливается и нормальная экспрессия гепсидина, поскольку при продолжающихся флеботомиях и улучшении самочувствия этих пациентов содержание гепсидина повышалось до 100–150 пг/л. Однако процесс тонкой регуляции обмена Fe у больных НГХ, безусловно, требует дальнейшего изучения.

У больных ЖДА с верифицированным дефицитом Fe выявлялось значительное снижение значений гепсидина и, судя по предварительным данным, имеющее прямую корреляцию с уровнем Hb (табл. 5). Это, во-первых, соответствует данным литературы [15, 17], а, во-вторых, вполне объяснимо с точки зрения роли гепсидина в метаболизме Fe и стремлении организма восполнить запасы Fe для обеспечения нормального процесса синтеза Hb.

Таблица 3

**Уровень гепсидина у больных АИГА в динамике**

Стадия болезни	Концентрация иммуноглобулинов на поверхности эритроцитов, г/л			Значения Hb, г/л	Уровень гепсидина, пг/мл
	IgG	IgA	IgM		
Ремиссия	250±62	45±15	10±4	140,0±15,0	50,0±15,0
Частичная ремиссия	1000±250	250±65	20±9	130,0±10,0	1600,0±200,0
Гемолитический криз	2000±360	320±150	50±15	108,0±7,5	12,0±5,0

Таблица 4

**Уровень гепсидина у больных НГХ  
в динамике лечения**

Время обследования	Уровень гепсидина, пг/мл
До флеботомий	7,5±2,5
После курса флеботомий	35,0±12,0

У пациентов с АХВЗ на фоне различных воспалительных заболеваний (хронический гепатит, цирроз печени, ревматизм и др.) уровень гепсидина, как и ожидалось, был повышенным и колебался в пределах 250–400 пг/мл. При этом повышение значений гепсидина не зависело от этиологии и локализации воспалительного процесса. У этих пациентов был также значительно повышен (в 8–10 раз) уровень ИЛ6. Эти данные согласуются с мнением Nemeth и соавт. [12] о тесном взаимодействии ИЛ6 и гепсидина, приводящем в конечном итоге к уменьшению пролиферации микроорганизмов. В условиях АХВЗ возникает функциональный дефицит Fe, жертвой которого становится гемоглобинообразование.

Впервые нами был определен уровень гепсидина у абортусов (медаборт на сроках 5–12 нед гестации) и у плодов, погибших на 18–26-й нед геста-

ции в результате самопроизвольных выкидышей вследствие бактериальной или вирусной инфекции. Полученные нами значения гепсидина у плодов являются не только уникальными, но и представляют огромный интерес для дальнейшего научно-практического поиска (табл. 6).

Во-первых, выяснилось, что уже на 5-й нед внутриутробного развития в тканях плодов происходит синтез гепсидина, т.е. можно сказать, что контроль за поступлением Fe существует с самых ранних этапов эмбриогенеза. Причем у плодов (абортусов) вне инфекции уровень гепсидина в печени почти в 4 раза выше, чем в селезенке (22,4±4,7 и 6,3±1,2 пг/г белка соответственно), что согласуется с работами, где также указывается на то, что основной синтез гепсидина происходит в гепатоцитах [1]. У плодов, погибших в результате вирусной инфекции, уровень гепсидина в печени несколько выше, чем у условно здоровых плодов (31,9±9,9 и 22,4±4,7 пг/г белка соответственно,  $p>0,05$ ), но в селезенке был достоверно выше (37,3±8,7 и 6,3±1,2 пг/г белка соответственно,  $p<0,01$ ). Однако у плодов, погибших вследствие бактериальной инфекции, уровень гепсидина в десятки раз выше, чем у абортусов, особенно в селезенке (308,8±55,0 и 6,3±1,2 пг/г белка соответственно,  $p<0,001$ ); в печени эти различия не столь значительны (60,4±23,0 и 22,4±4,7 пг/г белка соответственно,  $p<0,05$ ). Это свидетельствует о том, что гепсидин, по всей вероятности, является основным медиатором естественного врожденного иммунитета, отвечающего главным образом на бактериальный стимул.

Таким образом, в результате проведенной экспериментальной работы были получены показатели, соответствующие известным на сегодня данным литературы. Показана возможность использования разработанного нами иммунохимического метода для определения гепсидина при разных патологических состояниях.

В заключение следует подчеркнуть, что определение гепсидина у пациентов с различной патологией может существенно расширить наши представления о патогенезе многих заболеваний, а у гематологических больных может дать дополнительные уникальные возможности для проведения дифференциальной диагностики анемий и выяснить ряд вопросов, связанных с рефрактерными анемиями. Дальнейшие исследования по определению уровня гепсидина у детей на фоне патологических процессов, в том числе инфекционно-воспалительных, могут предоставить клиницистам новые инструменты для разработки совершенно иных способов и механизмов терапевтического воздействия, причем в довольно обозримом будущем. В связи с чем необходимо продолжение исследований по изучению основных регуляторов гемопоэза (ЭПО, ИЛ6, гепсидина и др.), среди которых, однако, главенствующая роль, без сомнения, принадлежит гепсидину.

Таблица 5

**Показатели гепсидина и феррокинетики  
у больных ЖДА**

Уровень Hb, г/л	Ферритин сыворотки, мкг/л	Железо сыворотки, мкмоль/л	Уровень гепсидина, пг/мл
70>Hb<90 (n=7)	11,8±0,9	6,2±1,2	8–10
Hb<70 (n=3)	7,9±1,6	4,8±0,8	3,3–6,0

Таблица 6

**Уровень гепсидина у абортусов и плодов  
в зависимости от причины их гибели**

Группы плодов	Срок гестации, нед	Причина гибели плода	Исследованные ткани	Уровень гепсидина, пг/мл
Абортусы (n=14)	5–12	условно здоровые (мед/аборт)	печень селезенка	22,4±4,7 6,3±1,2
Выкидыши (n=11)	18–26	бактериальная инфекция	печень селезенка	308,8±55,0 60,4±23,0
Выкидыши (n=7)	18–26	вирусная инфекция	печень селезенка	31,9±9,9 37,3±8,7

## ЛИТЕРАТУРА

1. Roy C.N., Enns C.A. Iron homeostasis: new tales from the crypt. *Blood*. 2000; 96 (13): 4020–4027.
2. Hunt J.R., Roughead Z.K. Adaptation of iron absorption in men consuming diets with high or low iron bioavailability. *Amer. J. Clin. Nutr.* 2000; 71: 94–102.
3. Eisenstein R.S., Blaming K.P. Iron regulatory proteins, iron responsive elements and iron homeostasis. *J. Nutr.* 1996; 128: 2295–2298.
4. Park C.H., Valore E.V., Waring A.J. et al. Hepcidin: a urinary antibacterial peptide synthesized in the liver. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 7806–7810.
5. Hunter H.N., Fulton D.B., Vogel H.J. The solution structure of human hepcidin, an antibacterial activity that is involved in iron uptake and hereditary hemochromatosis. *J. Biol. Chem.* 2002; 277: 37597–37603.
6. Pigeon C., Ilyin G., Courselaud B. et al. A new mouse liver-specific protein homologous to human antibacterial peptide hepcidin is overexpressed during iron overload. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 7811–7819.
7. Fleming R.E., Sly W.S. Ferroprotein mutation in autosomal dominant hemochromatosis: loss of function, gain in understanding. *J. Clin. Inv.* 2001; 108: 521–522.
8. Nemeth E., Valore E.V., Territo M. et al. Hepcidin a putative mediator of anemia of inflammation is a type II acute-phase protein. *Blood*. 2003; 101: 2461–2463.
9. Nicolas G., Bennoun M., Porteu A. et al. Severe iron deficiency anemia in transgenic mice expressing liver hepcidin. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 2002; 99: 4596–4601.
10. Weinstein D.A., Roy C.N., Fleming M.D. et al. Inappropriate expression of hepcidin is associated with iron refractory anemia: implications for the anemia of chronic disease. *Blood*. 2002; 100: 3776–3781.
11. Kemna E., Pickkers P., Nemeth E. et al. Time-course analysis of hepcidin, serum iron and plasma cytokine levels in humans injected with LPS. *Blood*. 2005; 106 (5): 1864–1866.
12. Nemeth E., Rivera S., Gabajan V. et al. IL6 mediates hypoferrremia inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J. Clin. Inv.* 2004; 113 (9): 1271–1276.
13. 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. Inv.* 2002; 110: 1037–1044.
14. Yoon D., Pastore Y.D., Divoky V. et al. Hypoxia-inducible factor-1 deficiency results in dysregulated erythropoiesis signaling and iron homeostasis in mouse. *J. Biol. Chem.* 2006; 281 (35): 25703–25711.
15. Papanikolaou G., Tzilianos M., Christakis J.I. Hepcidin in iron overload disorders. *Blood*. 2005; 10: 4103–4105.
16. Deicher R., Horl W.H. New insights into the regulation of iron homeostasis. *Eur. J. Clin. Inv.* 2006; 36: 301–308.
17. Leong W., Lonnerdal B. Hepcidin the recently identified peptide that appears to regulate iron absorption. *J. Nutr.* 2004; 134: 1–4.
18. Frazer D.M., Wilkins S.J., Becker E.M. et al. Hepcidin expression inversely correlates with the expression of duodenal iron transporters and iron absorption in rats. *Gastroenterology*. 2002; 123: 835–844.
19. Detivaud L., Nemeth E., Boudjema K. et al. Hepcidin levels in humans are correlated with hepatic iron stores, hemoglobin levels and hepatic function. *Blood*. 2005; 106 (2): 746–748.
20. Nacone D.V. New method of peroxidase conjugate. *J. Biochem.* 1974; 64: 25–38.

## РЕФЕРАТЫ

### НЕСБЫВШИЕСЯ ОЖИДАНИЯ. ЦИТОКИНЫ ПРИ ИДИОПАТИЧЕСКОМ НЕФРОТИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ С МИНИМАЛЬНЫМИ ИЗМЕНЕНИЯМИ

Представление о том, что идиопатический нефротический синдром с минимальными изменениями (ИНСМИ) обусловлен дисфункцией Т-клеток, было высказано Shalhoub в 1974 г. Механизмы, с помощью которых Т-клетки могут повышать гломерулярную проницаемость, оставались неуловимыми (и недоказанными). Существуют доказательства, что ИНСМИ может быть обусловлен циркулирующим фактором, который выделяют активированные Т-клетки. В последние годы делались попытки идентифицировать этот патогенетически значимый цитокин и понять механизм (ы) повышенной продукции этого фактора. В данном обзоре сделана попытка критически проанализировать доступные опубликованные данные. Используя различные методологические подходы, исследователи сконцентрировались на продукции цитокинов у больных ИНСМИ в период обостре-

рения и в ремиссии. Результатом было изобилие данных без определенных выводов. Патогенетически значимый цитокин не был идентифицирован, и является проблематичным, преобладают ли при ИНСМИ Th2. Обзор доступных данных иллюстрирует трудности, с которыми сталкивается любой, изучающий особенности секреции цитокинов у больных с ИНСМИ. Различия в популяциях больных, типах клеточных исследований, сохранении образцов крови и в методах, которыми определяется уровень цитокинов, – вот некоторые из факторов, которые могут объяснить различия в полученных данных.

Araya C.E., Wasserfall C.H., Brusko T.M., Mu W., Segal M.S., Johnson R.J., Garin E.H. *Pediatr. Nephrol. Germany*. 2006; 21(5): 603–610.