

## АНЕМИЯ ПРИ РЕВМАТОИДЕН АРТРИТ

**В. Манолов<sup>1</sup>, С. Хаджидекова<sup>2</sup>, М. Велizarова<sup>1</sup>, В. Паскалева-Пейчева<sup>3</sup>, В. Василев<sup>4</sup> и К. Цачев<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Катедра по медицинска генетика, Централна клинична лаборатория,  
УМБАЛ „Александровска”, МУ – София

<sup>2</sup>Катедра по медицинска генетика, МУ – София

<sup>3</sup>Отделение по дегенеративни и обемни ставни заболявания, Клиника по ревматология,  
Катедра по вътрешни болести, УМБАЛ „Св. Иван Рилски”, МУ – София

<sup>4</sup>Катедра по клинична лаборатория и клинична имунология, Централна клинична лаборатория,  
УМБАЛ „Александровска”, МУ – София

## ANEMIA IN RHEUMATOID ARTHRITIS

**V. Manolov<sup>1</sup>, S. Hadjidekova<sup>2</sup>, M. Velizarova<sup>1</sup>, V. Paskaleva-Peycheva<sup>3</sup>, V. Vasilev<sup>4</sup> and K. Tzatchev<sup>4</sup>**

<sup>1</sup>Department of Medical Genetics, Central Clinical Laboratory, University Hospital for Active Treatment  
“Aleksandrovskia”, Medical University – Sofia

<sup>2</sup>Department of Medical Genetics, Medical University – Sofia

<sup>3</sup>Rheumatology Clinic, Department of Internal Diseases, University Hospital for Active Treatment “Ivan Rilski”,  
Medical University – Sofia

<sup>4</sup>Department of Clinical Laboratory and Clinical Immunology, Central Clinical Laboratory,  
University Hospital for Active Treatment “Aleksandrovskia”, Medical University – Sofia

**Резюме.** Определянето на серумен хепсидин е все още новост в клиничнолабораторната практика в България. Неговото рутинно определяне би улеснило правилния избор на терапевтичен подход при лечение на нарушен метаболизъм на желязо при пациенти с ревматоиден артрит. Нивото на хепсидина може да диференцира пациенти с функционален дефицит на желязо от такива с ретикулоендотелна блокада. В тези случаи количественото определяне на хепсидина може да послужи за проследяване степента на натрупване на желязо в организма, да предостави информация на лекарите за ефикасността на терапията и да алармира в случай на токсично свръхнатрупване. Ниските нива на хормона може да идентифицират тези пациенти, при които има най-голяма вероятност да е подходящо пероралното въвеждане на желязо.

**Ключови думи:** анемия, ревматоиден артрит, хепсидин, възпаление

**Адрес за кореспонденция:** Д-р Виктор Манолов, Катедра по медицинска генетика, Медицински университет, ул. „Св. Г. Софийски” № 1, 1431 София, тел. +359 2 9230 928; GSM +359 887 222 069, e-mail: victhedoc2@yahoo.com

*Summary.* Determination of serum hepcidin is still a novelty in clinical laboratory practice in Bulgaria. Its determination routine would facilitate the correct selection of a therapeutic approach for the treatment of abnormal iron metabolism in patients with rheumatoid arthritis. The level of hepcidin may differentiate patients with a functional iron deficiency and a reticuloendothelial blockade. In these cases the quantitative determination of hepcidin can serve to monitor the degree of iron overload in the body, to provide information to physicians about the efficacy of therapy and to alert in case of toxic over-accumulation. Low levels of the hormone can identify the patients most likely suitable for oral administration of iron.

*Key words:* anemia, rheumatoid arthritis, hepcidin, inflammation

*Address for correspondence:* Victor Manolov, MD, Department of Medical Genetics, Medical University, 1 “Sv. Georgi Sofiyski” St., Bg – 1431 Sofia, phone: +359 2 9230 928; GSM +359 887 222 069, e-mail: victhedoc2@yahoo.com

## УВОД

Анемия на хроничните заболявания (АХЗ), известна също като анемия на възпаление, е най-разпространената при хоспитализирани пациенти в целия свят. Наблюдава се при остри или хронични възпалителни заболявания, включително инфекции, рак, ревматоиден артрит и хронични бъбречни заболявания [1]. АХЗ е хетерогенно заболяване, което обикновено се характеризира с нормоцитна анемия, промени в еритропоетични отговори, ниско серумно желязо, ниска сатурация на трансферин, натрупване на желязо в макрофагите и възможно увеличение на елемента в организма [1]. Доскоро молекулярните механизми и патогенезата в нарушеното разпределение на желязо при АХЗ бяха неизвестни. Вече е ясно, че възпалителни цитокини се освобождават по време на остра инфекция или хронично заболяване; те могат да променят системния метаболизъм на желязото, като стимулират синтез на хепсидин, желязо-регулаторен хормон [1]. Хепсидинът блокира износа на желязо от клетките, като разгражда клетъчния експортер на желязо феропортин; така основна причина за хипоферемията и ограничената еритропоеза при АХЗ е повишеното ниво на хепсидин [1, 2]. Лечението на анемията се провежда с интравенозно въвеждане на желязо и еритропоеза-стимулиращи агенти (ЕСА), без оглед на високите нива на хепсидин при АХЗ. Наличието на неблагоприятни ефекти от тези терапии води до необходимост от алтернативно лечение.

## ХОМЕОСТАЗА НА ЖЕЛЯЗОТО

Желязото е есенциален микроелемент, който участва в процесите на клетъчно дишане, клетъчна пролиферация и диференциация, регулация на генната експресия. Елементът е необходим и за образуването на хемоглобин в червените кръвни клетки.

При здрави хора концентрацията на желязо в плазмата и извънклетъчната течност се поддържа в сравнително тесен диапазон от 10-30  $\mu\text{M}$ : това количество желязо е достатъчно за основните клетъчни функции, без да се стига да прояви токсичност поради свръхнатрупване. Секретираният в черния дроб пептиден хормон хепсидин контролира основните потоци на желязо в плазмата: усвояването на желязо в дванадесетопръстника (1-2  $\text{mg/g}$ ), рециклирането на желязо от загиващите еритроцити (20  $\text{mg/g}$ ) и освобождаването му от депата в хепатоцитите и макрофагите (няколко милиграма на ден, в зависимост от нуждите на желязо). В плазмата елементът се свързва с трансферин, така се доставя до костния мозък, където чрез

рецепторен механизъм комплексът се усвоява от еритроидните прекурсори и се включва в синтеза на хема. Малки количества желязо се използват от други клетки, където то е включено в миоглобина, окислително-възстановителните ензими и други желязо-съдържащи протеини.

Излишъкът на желязо обаче може да бъде токсичен, в резултат на производство на свободни радикали и нефункционални липидни мембрани, които в крайна сметка водят до смъртта на клетките и органите [1]. Ето защо системният железен баланс трябва да бъде строго регулиран от пътища, които доставят, използват, рециклират и съхраняват желязо [3]. Усвояването на желязото от храната се извършва в дуоденалните ентероцити [1]. Ретикулоендотелните макрофаги, които рециклират желязото от загиващите еритроцити, осигуряват основната част от необходимото желязо за еритропоеза в костния мозък [4]. Вътреклетъчното желязо се складира под формата на феритин в черния дроб и представлява една трета от железните депа на организма. Вътреклетъчното желязо може да бъде освобождавано от хепатоцитите, когато това е необходимо [5].

## РЕГУЛАТОР НА ЖЕЛЯЗНАТА ХОМЕОСТАЗА

Хепсидинът е ключов регулаторен протеин, който контролира чревната абсорбция на желязо и разпределението му в организма [4]. Той е пептиден хормон, синтезиран в черния дроб в отговор на редица сигнали, включително и нивата на желязо в организма. Хепсидинът функционира чрез свързване и инициализиране на деградация на молекулата на феропортин, единствения известен експортер на желязо. Феропортинът се намира на повърхността на клетките на дуоденалните ентероцити, макрофаги и хепатоцити. По този начин регулираният феропортин инхибира трансфера на клетъчното желязо в плазмата от тези клетки [1, 5].

Хепсидинът е 25-аминокиселинен пептид, синтезиращ се в хепатоцитите като неактивен прохепсидин, състоящ се от сигнален пептид и 60-аминокиселинен прохепсидин. Впоследствие прохепсидин се разцепва от прохормонна конвертаза furin за генериране на зряла молекула хепсидин. Структурно хепсидин представлява 4-disulfide-cross-linked beta-hairpin с N-терминална част, която е добре запазена и е от съществено значение за биологичната активност. Единствената известна таргетна молекула на хепсидин е протеинът феропортин [6], който функционира като трансмембранен канал за превръщане на клетъчното желязо в плазмата. Повечето клетки съдържат много малко феропортин и не

изнасят желязо, за да го използват само за собствени си метаболитни нужди. Феропортинът е предимно в макрофагите, ентероцитите на дванадесетопръстника, хепатоцитите и плацентарните синцитиотрофобласти и е отговорен за износа на желязо от тези органи. Свързването на хепсидин към феропортин върху клетъчните мембрани отключва ендоцитоза и протеолиза на феропортин, като така се намалява доставката на желязо към плазмата. Клетъчното усвояване на желязо под различни форми също подлежи на регулация, но изглежда, че регулирането на феропортин-секрецията на клетъчната мембрана е преобладаващият начин, чрез който се контролира транспортът на желязо в плазмата. Като малък пептид, който не изглежда да е свързан в голяма степен с плазмените протеини, хепсидинът се елиминира от плазмата чрез бъбреците през феропортин-медиран ендоцитоза и протеолиза. Съответно концентрациите на плазмените нива на хепсидина могат да се увеличават при болестни процеси, които намаляват клирънса на хепсидин от бъбреците [7].

### АНЕМИЯ НА ХРОНИЧНОТО ЗАБОЛЯВАНЕ

АХЗ е добре позната клинична единица, която често се наблюдава при пациенти с различни заболявания: анемия от инфекция, анемия при злокачествено заболяване, анемия при ревматоиден артрит и анемия при хронично бъбречно заболяване. Етиологията на АХЗ е многофакторна и се характеризира с активиране на клетки на имунната система и възпалителни цитокини, които нарушават еритропоетиновата секреция, увреждат еритропоезата, намаляват живота на червените кръвни клетки и увреждат хомеостазата на желязото [1]. Хематологични характеристики на АХЗ се различават от типичната желязо-дефицитна анемия (ЖДА) без възпаление. При ЖДА еритропоезата е стимулирана с поддържане на достатъчно ниво на кислород, като се наблюдават микроцитни и хипохромни червени кръвни клетки. За разлика от нея АХЗ обикновено е нормохромна и нормоцитна анемия и микроцитоза обикновено няма, освен ако не е наличен едновременно и железен дефицит [1]. Счита се, че нормоцитната анемия се дължи на възпаление, което предизвиква намаляване на еритропоезата.

Възпалителните цитокини предизвикват промени в разпределението на желязо. Пациенти с АХЗ имат ниска серумна концентрация на желязо, нисък или нормален тотален желязо-свързващ капацитет и ниска сатурация на трансферин, както и нисък брой на ретикулоцити [1]. Важно е да се отбележи, че ключова характеристика на АХЗ е натрупване-

то на желязо в клетките на ретикуло-макрофагалната система въпреки намалените нива на желязо. По този начин съществува определено ниво на циркуиращо желязо, необходимо за синтез на хемоглобин, дори и при адекватни или високи нива на желязо в депата на организма. Вероятно това е защитен механизъм за изолиране на желязо като превенция срещу определени патогенни нашествия, много от които изискват желязо за своето развитие [1, 8]. Въпреки това отклоняването на желязо от кръвообращението в макрофагите ефективно причинява функционален недостиг на желязо и ограничение на еритропоезата, което в крайна сметка, ако не бъде коригирано, води до анемия. Важно е да се отбележи, че функционалният дефицит на желязо при АХЗ е различен от истинския недостиг на желязо при ЖДА, където желязото е изчерпано в кръвообращението и макрофагите [9]. Изследвания през последните 10 години показват, че функционалният дефицит на желязо при АХЗ може да се дължи на излишък на регулаторния хормон хепсидин. Прекомерното ниво на хепсидин при мишки обобщава класическите характеристики при АХЗ като постоянна хипоферемия и задържане на желязо в макрофагите [1]. Тези наблюдения категорично потвърждават участието на хепсидин в патогенезата на АХЗ и показват, че неговите инхибитори може да бъдат полезни в новата терапевтична стратегия за лечение АХЗ.

### ХЕПСИДИН И ВЪЗПАЛЕНИЕ

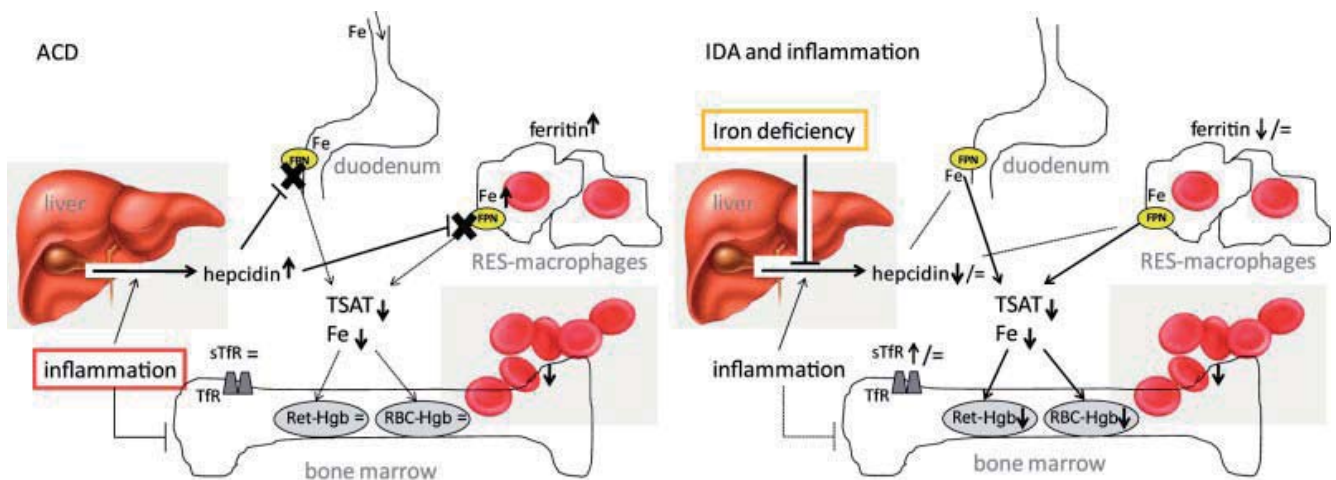
Възпаление, дължащо се на инфекция, аутоимунни заболявания или рак, стимулира синтеза на много проинфламаторни цитокини, като интерферон- $\gamma$ , интерлевкин-1 (IL-1) и интерлевкин-6 (IL-6), и е доказано, че предизвиква свърхсекреция на хепсидин [1]. Всъщност пациенти с възпаление, характеризиращо се с високи нива на CRP ( $> 10$  mg/dl), и пациенти с мултиплен миелом (които е известно да секретират много IL-6) имат несъответстващо повишени нива на хепсидин [10]. Инжектиране на lipopolysaccharide у здрави хора предизвиква остро възпаление, придружено с производството на IL-6, което е свързано с повишен синтез на хепсидин и хипоферемия. Подобни нарушения в метаболизма на желязото и увеличен синтез на хепсидин също са били наблюдавани при мишки, инжектирани с проинфламаторните цитокини IL-1 и IL-6 [1]. Поради способността му да инхибира функцията на феропортин в ентероцитите на дванадесетопръстника и макрофагите, продължителната секреция на хепсидин води до лошо усвояване на желязо от червата и увеличеното му задържане, което е отличителен белег при АХЗ [11, 23].

## АНЕМИЯ ПРИ РЕВМАТОИДЕН АРТРИТ

Появата на анемия при ревматоиден артрит е многофакторен процес и е свързан с хроничното възпаление на заболяването. Тя протича като желязодефицитна, дължаща се главно на индуцирани от лекарствата стомашно-чревни кръвоизливи и нарушения. Установяването и намирането на правилен терапевтичен подход на железен дефицит при пациенти с анемия на хроничното заболяване има важно клинично значение поради това, че: а) желязодефицитната анемия може да бъде лекувана, б) диагнозата може да изисква допълнителни изследвания за установяване на причината за появата ѝ, в) може да бъде предотвратено ненужно изписване на терапия с железни препарати.

За съжаление на този етап от развитието си клинично-лабораторната практика не предоставя точен механизъм за диагностика на железния дефицит поради неспецифичността на показателите, които се използват за оценка на железния статус [12,13]. Проинфламаторни стимули водят до развитие на анемия на хронично заболяване, като директно

инхибират еритропоезата и индиректно намаляват желязото, доставяно за синтеза на хема [14]. Този процес се свързва с повишеното ниво на регулаторния пептид хепсидин поради наличието на възпаление. Повишените нива на хепсидин намаляват интестиналната абсорбция на желязото. Едновременно с това се наблюдава задържане на желязо в макрофагите поради настъпване на промени в молекулата на клетъчния експортер на желязото, феропортина. Настъпва секвестрация на желязото в ретикулоендотелната система [15, 16]. Впоследствие общото съдържание на желязо в организма е нормално, но все по-малко се доставя за еритропоеза. Противоположен е механизмът за развитие на желязодефицитна анемия. При нея се наблюдава абсолютен дефицит на желязо, хепсидиновата секреция е потисната, което води до стимулиране на абсорбцията на желязо в тънките черва. Установяването на различно поведение на хепсидин при възпаление и железен дефицит предполага, че той би могъл да бъде потенциален биомаркер за установяване на железен дефицит при пациенти с възпалителни заболявания [17-20] (фиг. 1).



Фиг. 1. Схема на показателите на железния статус при пациенти с ревматоиден артрит с анемия на хроничното заболяване и с желязодефицитна анемия. А. Анемия на хронично заболяване. В случаи на възпаление повишени нива на хепсидин се освобождават в циркулацията от хепатоцитите. Хепсидинът взаимодейства с феропортина (клетъчния експортер на желязото), като по този начин намалява износа на желязо от ентероцитите и макрофагите към кръвообращението. Като следствие серумните нива на желязо и трансфериново насищане намаляват, докато запасите на желязо в макрофагите нарастват, което води до повишаване нивата на феритина. Предизвиканата от възпаление супресия на еритропоезата противодейства на намаленото ниво на желязо. Поради тази причина серумните нива на разтворимите трансферинови рецептори и хемоглобиновото съдържание в ретикулоцитите и еритроцитите може да останат в границите на нормалните стойности. В. Желязодефицитна анемия. Дефицитът на желязо намалява нивото на хепсидина (дори при възпаление), като в резултат се получава максимално освобождаване на желязо от ентероцитите и макрофагите в циркулацията. Въпреки това нивата на феритин, желязо и трансфериново насищане намаляват. Впоследствие недостигът на желязо за костния мозък води до повишаване на концентрацията на трансфериновите рецептори с цел осигуряване на максимално количество желязо за еритробластите. Нивата на хемоглобин в ретикулоцити и еритроцити са намалени, индикирайки недостатъчност на желязо за еритропоеза



## ОБСЪЖДАНЕ

Хемоглобиновото съдържание на еритроцитите и ретикулоцитите също бива идентифицирано като маркер за диагностика на железен дефицит [21-24]. Двата показателя рефлексират върху хемоглобинизацията на най-рано отделяните ретикулоцити, циркулиращи за ден-два в организма, както и на зрелите еритроцити [25]. Намалените стойности на хемоглобин в еритроцити и ретикулоцити индикират, че доставянето на желязо за костния мозък е недостатъчно и не протича нормална хемоглобинизация на клетките [23]. Тъй като тези два показателя не се влияят директно от наличието на възпаление при ревматоиден артрит, те биха могли да се използват за установяване на железен дефицит при състояния на хронично възпаление [22].

В последните години фокусът на научния интерес е насочен към прилагане на нови терапевтични средства с действие по оста хепсидин-феропортин: те биха могли да инхибират пътищата за синтез на хепсидин (BMP6-HJV-SMAD и IL-6-STAT3) или да стимулират износа чрез феропортин. Подобни терапевтични стратегии биха довели до по-добро управление на нарушенията в разпределянето на желязото и развиващата се впоследствие анемия при хронично заболяване.

---

**Благодарности.** Настоящият проект е осъществен с финансовата подкрепа на Медицински университет – София, „Грант 2014“, Договор № 67/2014 г.

## БИБЛИОГРАФИЯ

- Sun CC, Vaja V, Babitt JL et al. Targeting the hepcidin-ferroportin axis to develop new treatment strategies for anemia of chronic disease and anemia of inflammation. *Am J Hematol.* 2012 Apr;87(4):392-400.
- Ganz T, Nemeth E. Iron sequestration and anemia of inflammation. *Semin Hematol.* 2009;46:387-393.
- Muckenthaler MU. Fine tuning of hepcidin expression by positive and negative regulators. *Cell Metab* 2008;8:1-3.
- Ganz T. Hepcidin and iron regulation, 10 years later. *Blood* 2011;117:4425-4433.
- Ramey G, Deschemin JC, Durel B. Hepcidin targets ferroportin for degradation in hepatocytes. *Haematologica* 2010;95:501-504.
- Ganz T, Nemeth E. The hepcidin-ferroportin system as a therapeutic target in anemias and iron overload disorders. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2011;2011:538-42.
- Zaritsky J, Young B, Wang HJ, et al. Hepcidin a potential novel biomarker for iron status in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009;4:1051-1056.
- Wessling-Resnick M. Iron homeostasis and the inflammatory response. *Annu Rev Nutr.* 2010;30:105-122.
- Theurl I, Aigner E, Theurl M. Regulation of iron homeostasis in anemia of chronic disease and iron deficiency anemia: Diagnostic and therapeutic implications. *Blood* 2009;113:5277-5286.
- Ganz T, Olbina G, Girelli D, Nemeth E, and Westerman M. Immunoassay for human serum hepcidin. *Blood* 2008;112:4292-4297.
- Sakamori R, Takehara T, Tatsumi T. STAT3 signaling within hepatocytes is required for anemia of inflammation in vivo. *J Gastroenterol.* 2010;45:244-248.
- Brugnara C. Iron deficiency and erythropoiesis: new diagnostic approaches. *Clin Chem.* 2003;49:1573-8.
- Northrop-Clewes CA. Interpreting indicators of iron status during an acute phase response: lessons from malaria and human immunodeficiency virus. *Ann Clin Biochem.* 2008;45:18-32.
- Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. *N Engl J Med.* 2005;352:1011-23.
- Kemna EH, Tjalsma H, Willems HL et al. Hepcidin: from discovery to differential diagnosis. *Haematologica* 2008;93: 90-7.
- Goodnough LT, Nemeth E, Ganz T. Detection, evaluation, and management of iron-restricted erythropoiesis. *Blood* 2010;116: 4754-61.
- Sasu BJ, Li H, Rose MJ et al. Serum hepcidin but not prohepcidin may be an effective marker for anemia of inflammation (AI). *Blood Cells Mol Dis.* 2010;45: 238-45.
- Theurl I, Aigner E, Theurl M et al. Regulation of iron homeostasis in anemia of chronic disease and iron deficiency anemia: diagnostic and therapeutic implications. *Blood* 2009;113:5277-86.
- Thomas C, Kobold U, Balan S et al. Serum hepcidin-25 may replace the ferritin index in the Thomas plot in assessing iron status in anemic patients. *Int J Lab Hematol.* 2011;33:187-93.
- Kroot JJ, Laarakkers CM, Geurts-Moespot AJ et al. Immunochemical and mass-spectrometry-based serum hepcidin assays for iron metabolism disorders. *Clin Chem.* 2010;56:1570-9.
- Mast AE, Blinder MA, Lu Q et al. Clinical utility of the reticulocyte hemoglobin content in the diagnosis of iron deficiency. *Blood* 2002;99:1489-91.
- Brugnara C, Schiller B, Moran J. Reticulocyte hemoglobin equivalent (Ret He) and assessment of iron-deficient states. *Clin Lab Haematol.* 2006;28:303-8.
- Thomas C, Thomas L. Biochemical markers and hematologic indices in the diagnosis of functional iron deficiency. *Clin Chem.* 2002;48:1066-76.
- Bovy C, Gothot A, Delanaye P et al. Mature erythrocyte parameters as new markers of functional iron deficiency in haemodialysis: sensitivity and specificity. *Nephrol Dial Transplant.* 2007;22:1156-62.
- Ullrich C, Wu A, Armsby C et al. Screening healthy infants for iron deficiency using reticulocyte hemoglobin content. *JAMA* 2005;294:924-30.