АНЕМИИ

КРАТКОЕ РУКОВОДСТВО ДЛЯ ПРАКТИЧЕСКИХ ВРАЧЕЙ ВСЕХ СПЕЦИАЛЬНОСТЕЙ

Под редакцией О.А. Рукавицына

Москва
ИЗДАТЕЛЬСКАЯ ГРУППА
«ГЭОТАР-Медиа»
2018

Глава 1

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭРИТРОПОЭЗА. ОБМЕН ЖЕЛЕЗА. ГЕМОГЛОБИН. ОСОБЕННОСТИ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ И СТРОЕНИЯ ЭРИТРОЦИТОВ

Дыхательная функция крови заключается в доставке клеткам молекулярного кислорода (O_2) в количествах, адекватных их метаболическим потребностям. Адекватное снабжение клеток и тканей O_2 зависит от таких факторов, как количество O_2 во вдыхаемом воздухе, газообменная функция легких, работа сердца, концентрация циркулирующего гемоглобина, сродство гемоглобина к O_2 и распределение крови в сосудах данной ткани. Нормальная оксигенация клеток находится в прямой зависимости от напряжения O_2 в капиллярах, которое должно быть достаточно высоким для выхода O_2 из капилляра и диффузии в окружающие ткани. Напряжение O_2 в артериальной крови (p_aO_2) примерно одинаково во всех тканях, тогда как в венозной (p_vO_2) варьирует и зависит от количества O_2, утилизируемого данной тканью. При гипоксемии, когда pO_2 в капиллярах становится недостаточно высоким, чтобы обеспечить клетки O_2 в соответствии с их метаболизмом, может возникать гипоксия тканей. Доставка O_2 в этих условиях может быть улучшена гиперфункцией сердца и перераспределением крови (резерв кровотока), повышением газообмена в легких (респираторный резерв), уменьшением сродства гемоглобина

к O_2 (резерв сродства гемоглобина к O_2) и увеличением количества циркулирующего гемоглобина (эритропоэтический резерв).

Последние два механизма адаптации организма к гипоксии являются весьма существенными и связаны с эритроидными клетками, совокупность которых обозначается термином «эритрон» (рис. 1). Впервые A. Boycott в 1913 г. закрепил за красными кровяными клетками привычное всем название — *эритроциты*. Понятие «эритрон» введено в 1936 г. У. Каслом.

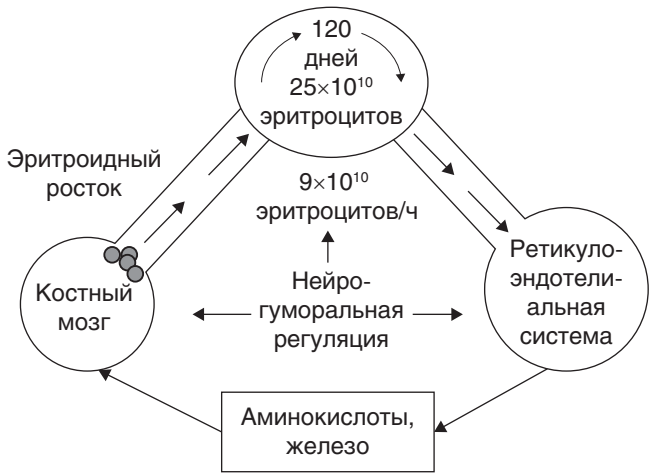

Рис. 1. Эритрон

Эта клеточная система выполняет высокоспециализированную функцию переноса O_2 из альвеолярного воздуха в ткани и включает четыре категории клеток:

1) ядросодержащие эритроидные клетки костного мозга;
2) ретикулоциты костного мозга;
3) ретикулоциты крови;
4) зрелые эритроциты.

В костном мозге находится 6% клеток эритрона, в циркулирующей крови — 94%.

Для поддержания постоянного количества циркулирующих эритроцитов, имеющих период жизни около 120 сут, необходима высокая скорость продукции новых эритроидных клеток в костном мозге. Эритроидный костный мозг поддерживает на постоянном уровне популяцию в 25×10^{12} циркулирующих эритроцитов, которые содержат 750 г гемоглобина. В нормальных условиях старые эритроциты удаляются из крови системой макрофагов со скоростью приблизительно 1,25% в день, а из костного мозга освобождается в 1 мин примерно $1{,}8\times10^{9}$ молодых эритроцитов (ретикулоцитов). Однако и такая высокая скорость продукции эритроцитов не является предельной. При максимальной стимуляции (кровопускание, гемолиз) эритроидный костный мозг способен повышать скорость продукции эритроцитов в 10–12 раз.

Объем циркулирующей крови составляет в среднем 70 мл/кг массы тела, а число циркулирующих эритроцитов — 350×10^{9}/кг. При нормальном периоде жизни 120 сут ежедневная продукция эритроцитов должна быть равной $350\times10^{9}/120$, или 3×10^{9}/кг массы тела.

Общий объем костного мозга у взрослого традиционно приравнивается к объему печени или к массе циркулирующих эритроцитов. Этот объем (примерно

30 мл/кг) может соответствовать приведенным выше вычислениям, основанным на дифференциальном подсчете клеток эритроидного ряда и включении ^{59}Fe и показавшим, что эритроидный пул костного мозга равен $11{,}5\times10^9$/кг массы тела, что составляет 1/30 количества циркулирующих эритроцитов. Следует принять во внимание, что только 1/3–2/3 всех костномозговых клеток являются эритроидными, а объем некоторых ранних эритроидных клеток может быть в 10 раз больше объема зрелых эритроцитов, и что по крайней мере 50% объема костного мозга составляет жировая ткань.

Развитие эритроидных клеток осуществляется процессами дифференциации и созревания. В результате дифференциации клетки приобретают ограниченную способность проявлять фенотип тех частей клеточного генома, которые кодируют информацию для синтеза белков, специфичных для эритрона (главным образом гемоглобина). В процессе последующего созревания эритроидные клетки становятся полностью дифференцированными. Таким образом, процессы дифференциации и созревания создают уникальную специализацию в структуре и функции эритроидных клеток.

Для поддержания динамического устойчивого равновесия циркулирующих эритроцитов у нормального взрослого человека массой 70 кг ежедневно образуется около $20–25\times10^{10}$ новых эритроцитов в костном мозге. Клетки эритрона образуются путем дифференциации из относительно небольшого и постоянного пула недифференцированных клеток — гемопоэтических стволовых клеток, способных

к самообновлению и дифференциации. Эритроидные клетки имеют общую с миелоидной и мегакариоцитарной линиями клетку-предшественник, которая называется плюрипотентной гемопоэтической стволовой клеткой. Промежуточным между пулами плюрипотентных гемопоэтических стволовых клеток и эритроидных клеток является пул унипотентных гемопоэтических стволовых клеток с ограниченной способностью к дифференциации лишь в сторону эритропоэза (эритроидные коммитированные предшественники). Ни плюрипотентные, ни унипотентные гемопоэтические стволовые клетки морфологически не охарактеризованы и определяются лишь по их функциональным особенностям.

Эритроидные коммитированные предшественники дифференцируются в проэритробласты — самые ранние морфологически распознаваемые клетки эритрона, способные к синтезу гемоглобина. Проэритробласт, составляющий краеугольный камень в эритропоэзе, запрограммирован как для пролиферации, так и для синтеза, упаковки и защиты молекул гемоглобина. Проэритробласты в течение 3–5 сут подвергаются дальнейшей дифференциации (созреванию) и последовательным трем-четырем митотическим делениям, проходя через морфологически типичные стадии (базофильные и полихроматофильные эритробласты, полихроматофильные и оксифильные нормобласты) и превращаясь в безъядерные ретикулоциты, а затем (уже в циркулирующей крови) — в зрелые эритроциты. Из одного проэритробласта, имеющего объем около 900 мкм^3, путем последовательной трансформации образуются 8–16 эритроцитов, содержащих

до 400×10^9 молекул гемоглобина в каждой клетке объемом примерно 90 мкм^3 (рис. 2).

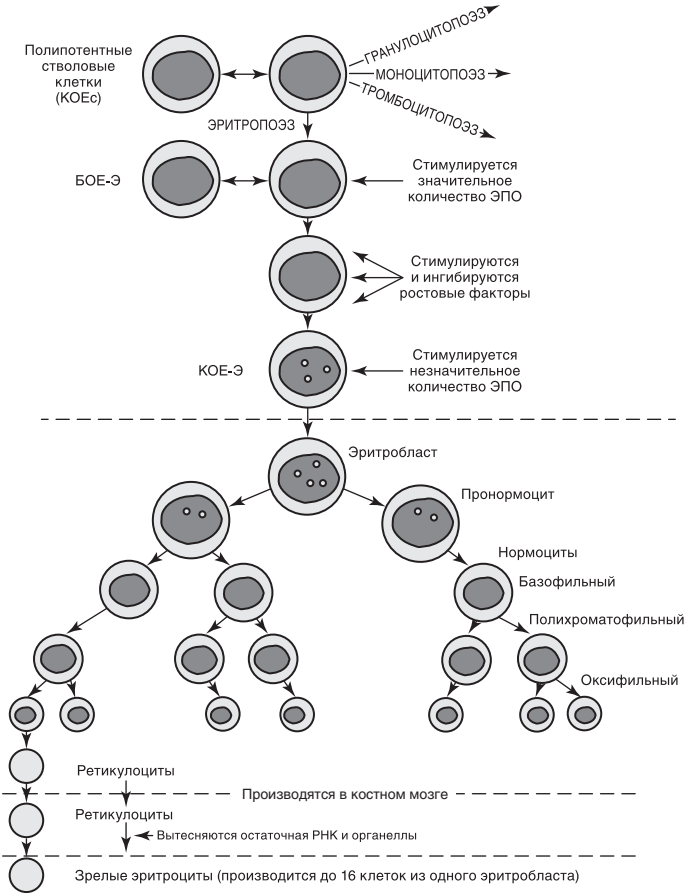

Рис. 2. Схема эритропоэза

Проэритробласт — большая клетка диаметром 20–25 мкм с круглым ядром, занимающим 3/4 клетки. Ядро диффузно окрашено в темно-фиолетовый цвет при окраске по Романовскому–Гимзе с тонкодисперсной структурой хроматина, содержит одно или несколько более светлых ядрышек и четко отделено от темно-голубой (базофильной) цитоплазмы отчетливо выраженной мембраной. Проэритробласт после деления теряет свои ядрышки и дает два базофильных эритробласта (диаметром 12–18 мкм) с интенсивно базофильной цитоплазмой и более конденсированным ядром.

Дальнейшие стадии эритроидной дифференциации характеризуются ступенчатым уменьшением размеров клетки и ядра, конденсацией ядерного хроматина в глыбки и разведением окрашенных в голубой цвет цитоплазматических рибосом синтезированным гемоглобином, окрашенным в розовый цвет (рис. 3, см. цветную вклейку, и рис. 4). Из базофильных эритробластов в результате деления образуются полихроматофильные эритробласты, в которых отчетливо накапливается гемоглобин. Полихроматофильные эритробласты подвергаются последнему делению

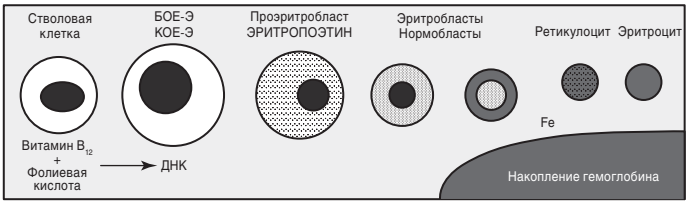

Рис. 4. Гемоглобинизация клеток эритроидного ряда

и превращаются в неделящиеся полихроматофильные нормобласты диаметром 8–12 мкм, созревающие в оксифильные (ортохромные) нормобласты. Ядро нормобластов, имеющее вначале радиальную структуру, становится плотным, пикнотическим и выталкивается путем внутриклеточной демаркации и внеклеточного давления. Нормобласты лишаются ядра при прохождении через узкие эндотелиальные отверстия в синусоидах костного мозга. Вытесненное ядро окружается тонким слоем гемоглобина, распад которого при ускоренном образовании эритроцитов может значительно повысить содержание билирубина в крови. После удаления ядра из нормобластов образуются ретикулоциты, в которых продолжается синтез гемоглобина еще в течение 3–4 сут. На стадии ретикулоцитов оставшиеся базофильные рибосомы, синтезирующие гемоглобин, осаждаются и конденсируются в виде сетчато-нитчатых фиолетовых образований при специальной так называемой суправительной окраске с красками-окислителями (бриллианткрезилблау, метиленблау). Ретикулоциты находятся в костном мозге около 2 сут, затем поступают в циркуляцию крови и созревают в эритроциты.

Период созревания от проэритробласта до ретикулоцита составляет примерно 120 ч (в среднем 24 ч на каждую стадию развития). Однако полихроматофильные эритробласты могут без деления созревать до оксифильных нормобластов и больших ретикулоцитов, которые затем поступают в кровь. Этот путь развития, характерный для эритропоэтических стрессов (кровопотеря, гемолиз), по времени экономит около 70 ч (за счет уменьшения на 50% числа эритроцитов, образующихся при нормальном пути

развития и 3–5-клеточных генерациях). С другой стороны, часть клеток может погибать на стадиях базофильного или полихроматофильного эритробласта, что называется неэффективным эритропоэзом. Величина неэффективного эритропоэза повышается, например, у лиц, длительное время находившихся на больших высотах (у горцев, альпинистов). В этой ситуации неэффективный эритропоэз служит фактором регуляции эритроцитарного гомеостаза. По данным ряда авторов, в костном мозге здоровых людей неэффективный эритропоэз составляет от 5 до 20%, а при некоторых анемиях он увеличивается более чем на 50%.

Синтез дезоксирибонуклеиновой (ДНК) и рибонуклеиновой (РНК) кислот прекращается на стадии полихроматофильных эритробластов, так что неделящиеся нормобласты не способны синтезировать ДНК и РНК. По мере созревания эритроидных клеток содержание РНК в них уменьшается, а содержание гемоглобина повышается. В дифференцированных эритроидных клетках большая часть синтезируемого белка (85–90%) является гемоглобином. Поскольку гемоглобин не обновляется, а находится в клетке вплоть до ее гибели, он становится преобладающей частью клеточных белков (95% сухой массы эритроцита). Синтез гемоглобина происходит в «активных» полирибосомах, состоящих из пяти рибосом, соединенных вместе стабильной глобиновой матричной РНК. Синтез гема происходит в митохондриях, а гем, в свою очередь, инициирует трансляцию глобиновой матричной РНК, способствует агрегации функционирующих рибосом и ускоряет движение рибосом вдоль молекулы матричной РНК.

Костный мозг содержит довольно большой пул ретикулоцитов, приблизительно равный сумме двух пулов: ядросодержащих эритроидных клеток и циркулирующих ретикулоцитов.

В нормальных условиях эритропоэза ретикулоциты находятся в крови около 1–2 сут до их полного созревания и составляют 0,8–1,2% всех эритроцитов крови (рис. 5). Однако у пациентов с повышенной продукцией эритроцитов более крупные и менее зрелые

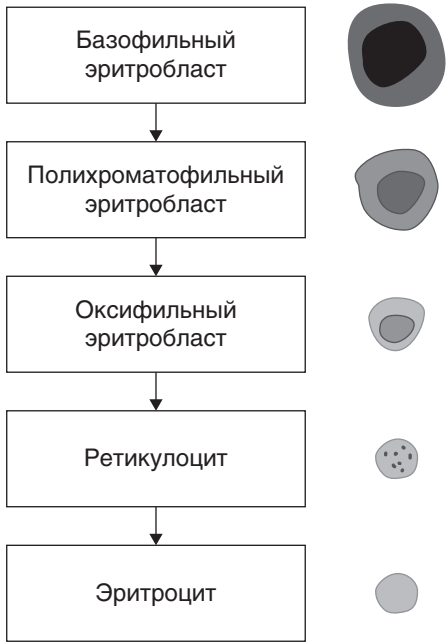

Рис. 5. Эритропоэз в норме

ретикулоциты («стресс»-ретикулоциты) освобождаются из костного мозга и дольше циркулируют в крови. Это нужно принимать во внимание, когда подсчет ретикулоцитов в крови используется в качестве теста для оценки скорости эритропоэза. Так, при соответствующем эритропоэтическом стимуле (например, на высоте гемолитической анемии) ретикулоциты могут полностью перемещаться в периферическую кровь, увеличивая таким образом в несколько раз число циркулирующих ретикулоцитов (рис. 6). В такой ситуации число циркулирующих эритроцитов не будет уже отражать скорость ежедневной продукции эритроцитов, и для правильной оценки необходимо сделать соответствующую поправку.

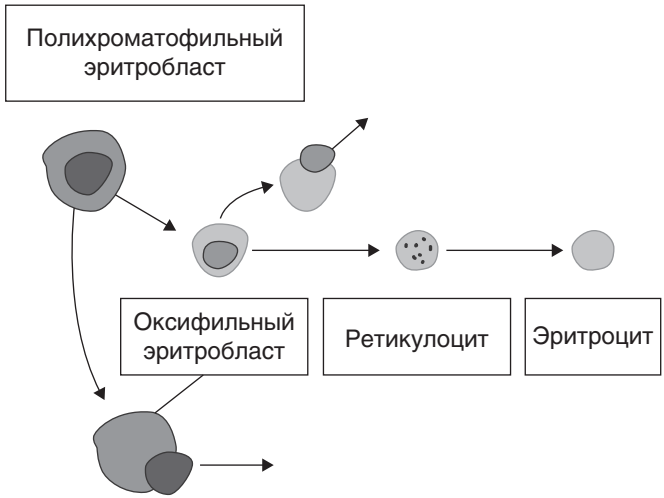

Рис. 6. Ускоренный эритропоэз

Ретикулоциты сохраняют способность синтезировать гем и глобин, имеют систему переноса электронов, функционирующий цикл трикарбоновых кислот, анаэробный гликолитический путь Эмбдена–Мейергофа и аэробный окислительный гексозомонофосфатный шунт. В процессе созревания ретикулоцитов происходит дезагрегация полирибосом на отдельные рибосомы. Постепенно клетка освобождается от рибосом, утрачивает митохондрии, места связывания с трансферрином, и синтез гемоглобина прекращается. Созревание ретикулоцитов начинается в костном мозге и заканчивается в циркулирующей крови и селезенке, которая нормально секвестрирует некоторое количество незрелых ретикулоцитов.

После трансформации ретикулоцитов в зрелые эритроциты клетки сохраняют образованный на ранних стадиях набор энзимов, необходимых для поддержания молекул гемоглобина в форме, способной к обратимой оксигенации. Из-за особых свойств гемоглобина эритроцит в основном расходует энергию только для выполнения своей главной функции — снабжения клеток O_2. Энергия, потребляемая эритроцитом за счет превращения глюкозы в лактат через анаэробный гликолитический путь и гексозомонофосфатный шунт, направлена лишь на поддержание клетки в активном функциональном состоянии.

Функции эритро- и нормобластов чисто внутренние и направлены на обеспечение общих и метаболических потребностей. Общие потребности являются обычными для всех интенсивно делящихся клеток и включают строительные белки и коэнзимы, необходимые для клеточного построения. Специальные потребности необходимы для синтеза молекулы

гемоглобина и энзимов, предназначенных для защиты от распада и для функционирования этих молекул. Главной функцией эритроцитов является транспорт кислорода и углекислого газа, защита от деградации молекул гемоглобина. В норме кровь содержит примерно 150 г/л гемоглобина, и каждый грамм гемоглобина переносит 1,36 мл O_2 при полном насыщении. Кроме своей главной функции эритроциты транспортируют CO_2 из тканей в легкие в виде $HbHCO_3$, участвуют в регуляции кислотно-основного равновесия, водно-электролитного баланса, адсорбируют аминокислоты, липиды, гормоны, токсины, лекарства и т.д.

Строение эритроцита максимально оптимизировано для реализации вышеизложенных функций. Он подвижный, имеет большую контактную поверхность для газовой диффузии и протекания химических реакций с гемоглобином, а также быстро делится и восполняет потери в периферической крови. Это узкоспециализированная клетка, заменить функции которой невозможно.

В составе плазмалеммы эритроцита ~50% белков, ~40% липидов и ~10% углеводов. Белки либо погружены в плазмалемму (трансмембранные белки), либо присоединены к наружной цитоплазматической поверхности или к внутренней поверхности (периферические белки). Спектрин — белок цитоскелета эритроцита; мутации его гена нарушают либо синтез цепей спектрина, либо самосборку его гетеродимеров.

За время своей жизни в 120 дней каждый эритроцит проходит по всему гемациркуляторному руслу по крайней мере 100 тысяч раз. При этом он циркулирует по многочисленным кровеносным капиллярам, просвет которых меньше диаметра эритроцита, что

является значительным препятствием для движения эритроцита. Эритроцит подвергается действию разнонаправленных сил, приводящих к его значительным деформациям. В таких условиях цитоскелет обеспечивает прочность плазмалеммы и сохраняет структурно-функциональную целостность эритроцита.

Функцией мембраны является обеспечение деформируемости эритроцита, что необходимо при капиллярном прохождении. При этом строение эритроцитов человека обеспечивает дополнительные возможности — клеточное взаимодействие и электролитный ток. Белки с углеводными остатками — это молекулы рецепторов, благодаря которым на эритроциты «не ведется охота» CDS-лейкоцитов и макрофагов иммунной системы. Эритроциты существуют благодаря рецепторам и не уничтожаются собственным иммунитетом. А когда вследствие многократного «проталкивания» по капиллярам или из-за механических повреждений эритроциты теряют некоторые рецепторы, макрофаги селезенки «извлекают» их из кровотока и уничтожают.

Внутренняя структура эритроцита такова — клетка похожа на мешочек с гемоглобином, ограниченный мембраной, на которой экспрессированы рецепторы: кластеры дифференцировки и разнообразные группы крови (по Ландштейнеру, по резусу, по Даффи и др.). Эритроциты не содержат ядра, рибосом и эндоплазматической сети. Все эти органеллы удаляются после наполнения цитоплазмы клетки гемоглобином.

Зрелый эритроцит имеет форму двояковогнутого диска, гибкого и пластичного, что облегчает диффузию O_2 и прохождение клетки через узкие тканевые капилляры и синусоиды селезенки (рис. 7). Мембрана эритроцита имеет способность к самозаживлению,

и повреждение клетки может вызвать образование жизнеспособных фрагментов и не привести к внутрисосудистому истечению гемоглобина. По мере старения эритроцит становится более плотным, но сохраняет свою гибкость и двояковогнутую форму при сохранении метаболических путей, ответственных за поддержание структуры и функций клетки на достаточно эффективном уровне. Снижение уровня эластичности мембраны, обусловленное, в частности, постепенной утратой энзимов, приводит к ригидности эритроцитов, их захвату фагоцитирующими макрофагами и деструкции.

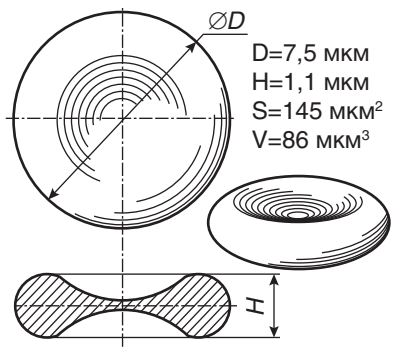

Рис. 7. Размеры эритроцита

Стандартным методом оценки морфологии эритроцитов является иммерсионная микроскопия.

При оценке мазков крови (рис. 8) прежде всего обращают внимание на *анизоцитоз* — разный размер эритроцитов; *пойкилоцитоз* — разную форму эритроцитов, изменение окраски для оценки содержания гемоглобина (оценка анизохромии) и наличие

включений. Все эти признаки относятся к важным критериям диагностики той или иной разновидности анемического синдрома.

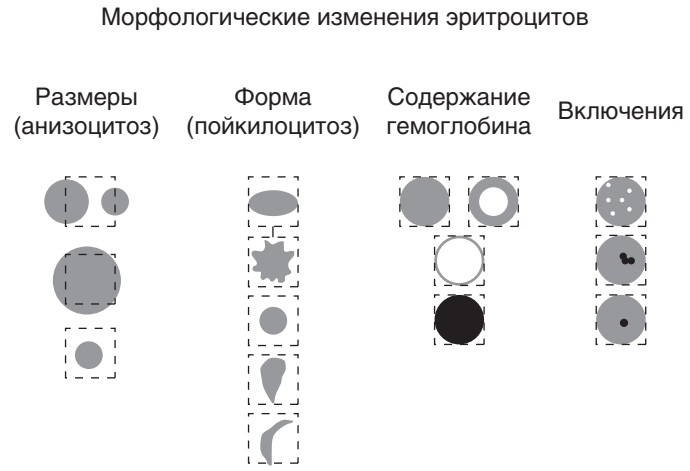

Рис. 8. Оценка морфологических параметров эритроцитов

Наиболее часто наблюдается бледная окраска эритроцитов с более широкой неокрашенной центральной частью — гипохромия, что свидетельствует о низком насыщении эритроцитов гемоглобином и характерно для железодефицитных состояний. Гипохромия эритроцитов может встречаться не только при железодефицитных состояниях, но и при свинцовом отравлении, талассемии и других некоторых врожденных гемоглобинопатиях. Гипохромия не обязательно сопровождается снижением содержания гемоглобина и количества эритроцитов в крови.

Выделяют три степени гипохромии:

1) + — просветление в центре несколько больше, чем в норме;
2) ++ — окрашенная часть представлена в виде узкой ленты;
3) +++ — окрашенная часть представлена в виде очень узкого кольца.

Гиперхромия эритроцитов встречается реже. Обычно сочетается с макроцитозом или мегалоцитозом. Такие признаки характерны прежде всего для анемий, обусловленных нарушением синтеза ДНК (B_{12}-дефицитная и фолиево-дефицитная). Такие изменения могут быть и при миелодиспластическом синдроме.

Изменение окраски в виде полихроматофилии (эритроциты сероватого цвета) обусловлено окраской кислыми или основными красителями. В норме встречаются единичные полихроматофилы. Их число возрастает при усиленном эритроцитопоэзе (постгеморрагическая анемия, гемолитическая и т.д.).

В мазках периферической крови могут встречаться эритроциты с ядром — нормобласты или эритробласты. Подобные клетки встречаются при различных анемиях. Большое количество этих клеток характерно для гемолитических состояний и метастазов солидной опухоли в костный мозг.

Мегалоциты (крупные эритроциты) встречаются при мегалобластных анемиях и при миелодиспластическом синдроме. В первом случае внутри клеток могут выявляться кольца Кебота, тельца Жолли. Такие же клетки могут обнаруживаться, но в небольшом количестве, у пациентов, подвергшихся спленэктомии.

Другие нарушения формы эритроцитов (пойкилоцитоз) представлены на рис. 9 (см. цветную вклейку).

Регуляция эритропоэза. Циркулирующую массу эритроцитов можно представить как большой специализированный орган, предназначенный почти исключительно для транспорта O_2 в ткани. Эритроциты удаляют CO_2 из тканей посредством карбоангидразы. Таким образом, количество циркулирующих эритроцитов и скорость их продукции в костном мозге должны быть тесно связаны с обеспечением тканей O_2 (рис. 10). Центральное положение эритроцитов в транспорте кислорода позволяет предсказать, что главным фактором, регулирующим скорость

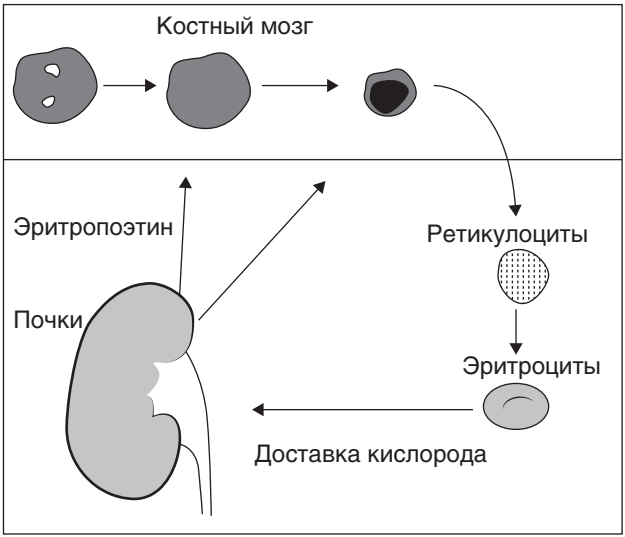

Рис. 10. Регуляция эритропоэза в норме

эритропоэза, является отношение между доставкой O_2 в ткани и их метаболическими потребностями.

Действительно, основным стимулом для продукции эритроцитов является дефицит O_2 в тканях. Напротив, при избыточном снабжении тканей O_2 (гипероксия или увеличение массы циркулирующих эритроцитов) скорость эритропоэза уменьшается. Долгое время считали, что фактором, регулирующим скорость эритропоэза, является величина напряжения O_2 в самом костном мозге. Согласно этой «гипоксической» концепции костный мозг даже в норме испытывает некоторое кислородное голодание, которое непосредственно стимулирует эритропоэз. Однако прямое стимулирующее влияние гипоксии на продукцию клеток эритрона доказать не удалось. Напротив, оказалось, что для повышенной продукции эритроцитов и высокой скорости пролиферации ядросодержащих эритроидных клеток необходимо нормальное или даже повышенное напряжение O_2 в костном мозге. После тщательных многолетних исследований было установлено, что гипоксия стимулирует эритропоэз не прямо, а опосредованно, путем образования почечного эритропоэтического гормона — эритропоэтина (ЭПО) (рис. 11).

Количество циркулирующих эритроцитов в организме зависит от координации между образованием и разрушением клеток эритрона. В физиологических условиях эти противоположные процессы находятся в состоянии устойчивого динамического равновесия, которое обеспечивается соответствующими регуляторными механизмами. Стимулы (сигналы обратной связи), регулирующие скорость образования

эритроцитов, могут исходить из тканей, которые обеспечиваются кислородом (функциональная обратная связь), или от самих эритроцитов (обратная связь конечным продуктом).

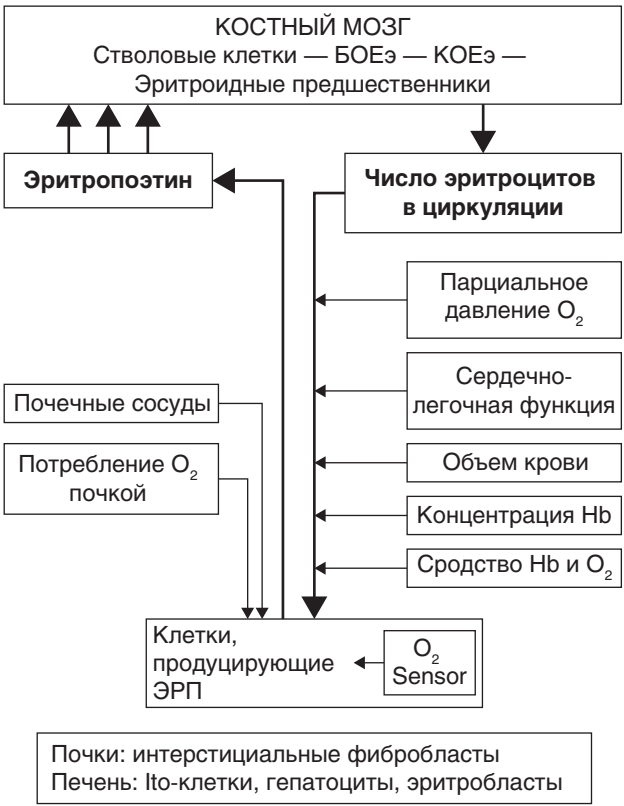

Рис. 11. Роль эритропоэтина в регуляции эритропоэза

Таким образом, продукция как почечного, так и внепочечного ЭПО зависит от степени анемической, гипоксической, циркуляторной и гистотоксической (тканевой) гипоксии. Титр ЭПО в плазме колеблется от почти нулевого у аутотрансфузированных пациентов с истинной полицитемией до уровня 10 000 мМЕ/мл и даже выше у больных с тяжелой гипоксией. Нормальный титр на уровне моря составляет около 10–15 мМЕ/мл плазмы; по-видимому, эта величина необходима для поддержания концентрации гемоглобина в пределах от 130 до 150 г/л, и, в свою очередь, почечное напряжение O_2 адекватно для продукции ЭПО, чтобы поддерживать такой уровень. Этот механизм обратной связи между костным мозгом и почками обеспечивает как тонкое, так и грубое регулирование скорости продукции эритроцитов. Продукция ЭПО регулируется в узких пределах, и уровень ЭПО в плазме не превышает норму (от 5 до 30 мМЕ/мл) до тех пор, пока концентрация гемоглобина не падает ниже 105 г/л.

Уменьшение снабжения тканей O_2 или увеличение их потребностей в O_2 стимулирует выработку ЭПО, тогда как увеличение снабжения тканей O_2 или уменьшение их потребностей в нем подавляет образование гормона. Эти реципрокные взаимоотношения указывают на то, что главный сенсорный механизм, определяющий биогенез ЭПО, связан с аэробным метаболизмом клеток, вырабатывающих гормон. Ответная реакция на ЭПО является результатом взаимодействия гормона с чувствительными к нему клетками костного мозга (клетки-мишени). Конечный эффект действия ЭПО состоит в повышении

образования клеток эритрона и в восстановлении таким путем нарушенного равновесия между снабжением тканей O_2 и их потребностями в O_2. Таким образом, ЭПО, вырабатывающийся в почках, играет роль молекулярного посредника между клетками организма — потребителями O_2 и клетками костного мозга — продуцентами гемоглобинсодержащих клеток эритрона.

Долгое время не удавалось определить присутствие ЭПО в крови или моче нормальных животных или здоровых людей. Эти неудачные попытки были связаны с отсутствием достаточно чувствительных методов тестирования гормона, появление и усовершенствование которых в последующие годы позволило установить и количественно измерить содержание ЭПО в плазме крови и в моче здоровых людей.

Доказательства присутствия ЭПО не только в гипоксических, но и в нормальных условиях были крайне важными для обоснования тезиса о том, что ЭПО принимает участие в физиологической регуляции эритропоэза и контролирует ежедневную продукцию эритроцитов.

Обмен железа. Железо (Fe) принадлежит к восьмой группе элементов периодической системы Д.И. Менделеева (атомный номер 26, атомный вес 55,847, плотность 7,86 г/см). Уникальная способность железа изменять свое состояние окисления и окислительно-восстановительный потенциал (валентность) в ответ на смену состава окружающих лигандов делает этот металл необходимым почти всем живым существам. Железо легко вступает в одноэлектронные окислительно-восстановительные реакции, переходя

при этом между Fe^{2+}- и Fe^{3+}-состояниями. Железосодержащие белки являются ключевыми компонентами многих биологических процессов, таких как энергетический обмен, транспорт кислорода, репликация и репарация ДНК, нейтрализация активных форм кислорода и многих других, катализируемых ферментами — оксигеназами, пероксигеназами и т.п. Однако те же самые химические свойства железа делают его опасным для организма. Даже малое количество «свободного» железа может катализировать образование высокотоксичных радикалов. Биологическая ценность железа определяется многогранностью его функций, незаменимостью другими металлами в сложных биохимических процессах, активным участием в клеточном дыхании, обеспечивающем нормальное функционирование тканей и организма человека.

Все железосодержащие и железозависимые белки по характеру их связи с этим биоэлементом, а также с учетом их функции можно разделить на четыре группы, в том числе три составляют *стабильный пул железа* и одна группа — *лабильный пул железа.*

Стабильный пул железа. В организме его содержание можно условно разделить на *клеточное, неклеточное* и *железо запаса.* Клеточное железо выявляется в первую очередь в гемопротеинах, основным компонентом которых является гем. Это самая большая группа ферропротеинов, объединяющая гемсодержащие белки, включает приблизительно 2/3 железа организма. К ним относятся гемоглобин, миоглобин, нейроглобин, циклооксигеназа, цитохромы дыхательной цепи (a1, a3, b1, b5, c), цитохром P450,

каталаза, пероксидазы (миелопероксидаза, тиреопероксидаза, лактопероксидаза) и др.

Гем является конечным продуктом в цепи превращений порфиринов в результате включения Fe_2 в протопорфириновое кольцо при участии феррохелатазы, чувствительной к воздействию свинца. Угнетение активности этого фермента нарушает утилизацию железа, и оно может накапливаться, связываясь с другими белками и лигандами. Все клетки организма имеют гемсодержащие белки, поэтому синтез гема идет во всех клетках, за исключением эритроцитов, не имеющих, как известно, белоксинтезирующей системы.

Гемоглобин, содержащийся в эритроцитах, выполняет важную для организма газотранспортную функцию — переносит экзогенный кислород и эндогенный углекислый газ. Гем является конечным продуктом в цепи превращений порфиринов в результате включения Fe_2 в протопорфириновое кольцо при участии феррохелатазы, чувствительной к воздействию свинца. Угнетение активности этого фермента нарушает утилизацию железа, и оно может накапливаться, связываясь с другими белками и лигандами.

Миоглобин — дыхательный белок сердечной и скелетной мускулатуры. Основной функцией миоглобина является транспортировка кислорода через клетку и регуляция его содержания в мышце для осуществления сложных биохимических процессов, лежащих в основе клеточного дыхания. Он содержит 0,34% железа. Миоглобин депонирует кислород во время сокращения мышц, а при их поражении он может попадать в кровь и выделяться с мочой.

Гемы — комплексные соединения порфиринов с двухвалентным железом, несущие один или два аксиальных лиганда. Следующая форма клеточного железа — *железосодержащие ферменты негеминовой группы.* Это негемовое железо, включающее железосерные белки и железофлавопротеиды, к которым относятся негемовые ферменты митохондрий, также участвующие в транспорте электронов и имеющие в своем составе больше железа, чем цитохромы. Эта группа включает НАДН-дегидрогеназу, сукцинатдегидрогеназу, ксантиноксидазу, а также специализированный железосерный белок нуклеинового обмена рибонуклеотидредуктазу, оксигеназы, в том числе липоксигеназу.

Неклеточное железо представлено белками трансферрином и лактоферрином, содержащимися во внеклеточном пространстве и осуществляющими транспортную функцию по отношению к ионам железа. Трансферрин — белок плазмы крови, относящийся к β-глобулинам. Основным источником его синтеза является печень. За сутки производится до 12–14 мг белка на 1 кг массы тела, что соответствует 5–9% всего количества трансферрина. Лактоферрин — белок, также относящийся к семейству трансферринов, переносящий ионы трехвалентного железа.

Вне клеток железо обычно находится в связанном состоянии — в виде железобелковых комплексов. Концентрация его в плазме широко варьирует у здорового человека и составляет 10,8–28,8 мкмоль/л с достаточно большими суточными колебаниями, достигающими 7,2 мкмоль/л. Уровень железа в плазме крови зависит от ряда факторов: взаимоотношения

процессов разрушения и образования эритроцитов, состояния запасного фонда железа в желудочно-кишечном тракте. Однако наиболее важной причиной, определяющей уровень плазменного железа, является взаимодействие процессов синтеза и распада эритроцитов.

Трансферрин представляет собой железосвязывающий белок. Общая железосвязывающая способность плазмы, характеризующаяся практически концентрацией трансферрина, колеблется от 44,7 до 71,6 мкмоль/л, а свободная железосвязывающая способность — резервная емкость трансферрина — составляет 28,8–50,4 мкмоль/л у здорового человека.

Синтезируется трансферрин преимущественно в паренхиматозных клетках печени. Функции трансферрина в организме представляют значительный интерес. Он не только переносит железо в различные ткани и органы, но и «узнает» синтезирующие гемоглобин ретикулоциты и, возможно, другие нуждающиеся в железе клетки. Трансферрин отдает железо им только в том случае, если клетки имеют специфические рецепторы, связывающие железо. Кроме того, трансферрин обладает защитной функцией — предохраняет ткани организма от токсического действия железа. Одна молекула трансферрина связывает два иона трехвалентного железа, а 1 г трансферрина — около 1,25 мг железа, исходя из чего можно определить общее количество железа, которое может связать сывороточный трансферрин. Оно приближается к величине общей железосвязывающей способности сыворотки крови.

В диагностике дефицита железа используют расчетную величину — процент насыщения трансферрина железом (то есть отношение концентрации сывороточного железа к максимальной железосвязывающей способности трансферрина сыворотки, выраженное в процентах). В норме процент насыщения трансферрина железом составляет около 30%, при недостаточном поступлении железа в организм этот показатель снижается.

Определение уровня трансферрина используют главным образом в дифференциальной диагностике железодефицитных анемий (ЖДА), характеризующихся снижением содержания сывороточного железа, ростом уровня трансферрина и соответственно снижением процента насыщения трансферрина железом. Содержание трансферрина у женщин на 10% выше, чем у мужчин. В III триместре беременности концентрация трансферрина в сыворотке крови может повыситься на 50%. Концентрация этого белка снижается у пожилых людей. При воспалении трансферрин проявляется как негативный белок острой фазы (его концентрация при острофазном ответе на воспаление уменьшается).

Лактоферрин, также железосвязывающий белок, обнаружен во многих биологических жидкостях: молоке, слезах, желчи, синовиальной жидкости, панкреатическом соке и секрете тонкого кишечника. Кроме того, он находится в специфических вторичных гранулах нейтрофильных лейкоцитов, образуясь в клетках миелоидного ряда со стадии промиелоцита. Подобно трансферрину, лактоферрин способен

связывать два атома железа. Он состоит из одной полипептидной цепочки, молекулярный вес приблизительно равен 80 000. В физиологических условиях этот железосвязывающий белок насыщен железом до 20%, в ничтожных количествах он содержится в плазме крови, освобождаясь в нее из нейтрофильных лейкоцитов. Несмотря на схожесть лактоферрина и трансферрина, эти железосвязывающие белки отличаются друг от друга по антигенным свойствам, составу аминокислот, белков и углеводов.

Железо запаса — белковые соединения ферритин и гемосидерин с преимущественным отложением в печени, селезенке и мышцах. Задействуется при недостатке клеточного железа. Наибольшее количество железа (за вычетом крови) содержится в следующих органах: селезенка (336 мкг/г), легкие (319 мкг/г), печень (195 мкг/г), мышцы (до 27,9%, в виде миоглобина 21,9%, ферритина 6,91%), печень (7,8%, ферритин, гемосидерин).

Ферритин и *гемосидерин* являются основными соединениями, содержащими запасы железа в клетке. Они находятся главным образом в ретикулоэндотелиальной системе печени, селезенки и костного мозга. Приблизительно 1/3 резервного железа организма человека, преимущественно в виде ферритина, падает на долю печени. Большая часть железа печени находится в комплексе с белком ферритином или гемосидерином (примерно 80%), 5% ассоциировано с трансферрином, 2% — с гемом, а оставшаяся часть находится в лабильном пуле железа. Запасы железа могут быть при необходимости мобилизованы для

нужд организма и предохраняют его от токсичного действия свободно циркулирующего железа.

Ферритин — гидрофильная молекула, состоящая из 24 субъединиц, формирующих полую сферу. Внутри этой сферы может разместиться до 4500 атомов железа. Синтез ферритина индуцируется при высоком уровне внутриклеточного железа и подавляется при нехватке железа. Эта регуляция опосредуется системой железоответственный элемент (IRE) — железорегуляторный белок (IRP). Синтез ферритина также регулируется цитокинами, такими как интерферон-γ, интерлейкин-1 и -6 (ИЛ-1 и ИЛ-6).

Деградация ферритина и, следовательно, высвобождение железа помогают мобилизовать железо для нужд клетки. В процесс деградации вовлечены протеосомный и лизосомный аппараты клетки.

Гемосидерин — нерастворимая в воде молекула, присутствующая в лизосомах. Железо, хранящееся в комплексе с гемосидерином, гораздо менее доступно и менее эффективно в продукции свободных радикалов, чем в комплексе с ферритином.

Существует лабильный пул железа — от 80 до 90 мг: железо, покидающее плазму крови, проходящее в интерстициальное пространство, в межклеточные промежутки, где оно может связываться с клеточной мембраной, а может возвращаться обратно в плазму крови. Его существование было установлено в экспериментах с радиоактивными изотопами железа. Полагают, что данный пул железа сосредоточен в лимфатической системе или депонируется в цитоплазме клеток вне комплекса с ферритином (табл. 1).

Таблица 1. Типы, концентрация и общее количество железа в организме

Тип железа	Концентрация, мг Fe/кг	
	Женщины	Мужчины
Функциональное железо		
Гемоглобин	31	28
Миоглобин	5	4
Гемовые ферменты	1	1
Негемовые ферменты	1	1
Транспортное железо		
Трансферрин	<1 (0,2)	<1 (0,2)
Железо запаса		
Феррин	8	4
Гемосидерин	4	2
Общее количество	50	40

Метаболизм железа в норме представляет замкнутую систему и является одним из самых высокоорганизованных процессов, при котором практически все железо, высвобождающееся при распаде гемоглобина и других железосодержащих белков, вновь утилизируется (рис. 12). Именно поэтому, несмотря на то что ежедневно абсорбируется и выводится лишь очень малое количество железа, его метаболизм в организме очень динамичный (Aisen, 1992; Worwood, 1982).

Обмен железа в организме можно разделить на пять этапов (фаз):

1) всасывание в желудочно-кишечный тракт;
2) транспорт в ткани;
3) утилизация тканями;
4) депонирование;
5) экскреция и потеря железа.

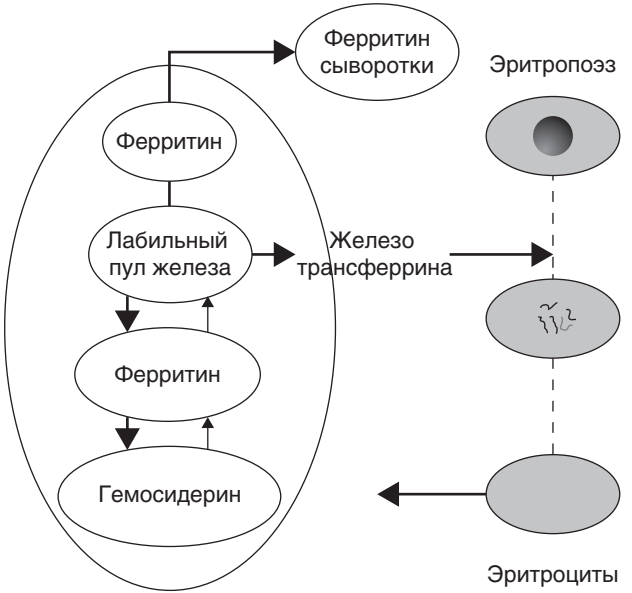

Рис. 12. Обмен железа в организме

Фаза 1 — всасывание в желудочно-кишечный тракт. Железо всасывается как в виде гема, так и в негемовой форме с помощью ворсинок верхней части тонкого кишечника. Сбалансированная ежедневная диета содержит около 5–10 мг железа (гемового и негемового), но всасывается лишь 1–2 мг. В желудке происходит ионизация железа путем комплексования с биокомпонентами желудочного сока. Железо поступает в дуоденум и проксимальный отдел тощей кишки, где всасывается не более 1–2 мг железа в сутки (зависит от обеспеченности организма железом).

Для метаболизма железа наиболее важны клетки, находящиеся в эпителиальном слое дуоденального отдела кишечника, — энтероциты, которые являются высокоспециализированными клетками, координирующими абсорбцию и транспорт железа ворсинками. Поддержание баланса железа связано с жизненным циклом энтероцита, начинающегося с родоначальных молодых клеток, находящихся в крипте и преобразующихся в зрелые энтероциты на кончиках ворсинок. В энтероцитах происходит программируемый синтез новых необходимых организму белков, ответственных за абсорбцию, хранение и транспорт пищевого железа.

Всасывание регулируется протеинами энтероцитов:

1) дуоденальный цитохром B (DcytB) — обладает феррооксидазной активностью, переводит трехвалентное железо в двухвалентное (транспортера ионов двухвалентных металлов DMT-1);
2) ферропортин (ferroportin 1, FPN 1; гемовая оксидаза) — продвигает двухвалентное железо к базолатеральной мембране, откуда железо переходит во внутренние эпителиальные клетки, из которых попадает в плазму или соединяется с апоферритином, образуя ферритин, который в последующем теряется организмом вместе со спущенными клетками кишечного эпителия;
3) гефестин вместе с ферропортином — участвует в переносе железа через мембрану энтероцита, но при этом окисляет железо в трехвалентное, так как трансферрин присоединяет только трехвалентное железо. Гефестин очень сходен с церулоплазмином, который тоже обладает феррооксидазной активностью и регулирует

концентрацию экспортируемого железа из клетки в плазму (ответствен за насыщение апотрансферрина железом и превращение его в трансферрин);

4) железоответственный элемент (IRE) и железорегуляторный белок (IRP) — при избытке железа IRP не связывается с IRE, снижается синтез рецепторов трансферрина, и железо не проникает в кровь и ткани. При дефиците железа IRP взаимодействует с IRE — повышается экспрессия рецепторов трансферрина в дуоденальной крипте, всасывание железа повышается, но содержание дуоденального ферритина снижается. При высоком содержании железа IRE и транспортер двухвалентных металлов DMT-1 деградируют;
5) гепцидин (антимикробный пептид) — универсальный гуморальный регулятор метаболизма железа (отрицательный регулятор транспорта железа, состоит из 25 аминокислот). При избытке железа его синтез гепатоцитами повышается. При анемии снижается экспрессия гена гепцидина, в результате чего повышается захват железа из макрофагов (быстро) и из кишечника (медленно);
6) фактор высокого Fe (High Fe), название которого теперь известно только в виде аббревиатуры HFE, — трансмембранный белок семейства белков основного комплекса гистосовместимости класса 1 — связывает рецепторы трансферрина с высокой аффинностью, близкой к трансферрину, блокируя возможность соединения трансферрина со своим рецептором, что снижает доставку железа к тканям.

Поступление железа в организм происходит через слизистую оболочку кишечника, где оно адсорбируется из пищи энтероцитами. Процесс обновления кишечных энтероцитов происходит постоянно. Энтероциты перемещаются из складок слизистой оболочки к вершине ворсинок примерно за 24–36 ч и затем постепенно отторгаются в просвет кишечника (суммарное время жизнедеятельности — 48–72 ч). При этом на апикальной мембране расположены транспортные, регуляторные и вспомогательные белки, обеспечивающие адсорбцию, трансформацию и транспорт гема и негемового железа в клетку. Базолатеральная мембрана и пограничная область энтероцита являются носителями транспортеров и медиаторов перехода железа в кровь с участием ферропортина, трансферриновых рецепторов и HFE, где железо находится в связанном с трансферрином транспортном комплексе. Не экспортированное в плазму железа удаляется из организма при слущивании энтероцитов.

Регуляция адсорбции железа происходит на апикальной и базолатеральной мембранах. При этом апикальная мембрана специализирована для поглощения гема и Fe^{2+} из воды и пищи, а базолатеральная мембрана является медиатором перехода железа во внутренние эпителиальные клетки для дальнейшего его использования организмом. Железо, которое не экспортируется в плазму, теряется при слущивании внутреннего эпителия.

На апикальной поверхности энтероцитов происходит связывание Fe^{3+} из муцина с дуоденальным цитохромом B (DcytB). Дуоденальный цитохром B является ферриредуктазой, восстанавливает Fe^{3+} до Fe^{2+}, что

делает возможным перенос железа с участием DMT-1. Этот транспортер выступает представителем большого семейства белков, осуществляющих транспорт различных двухвалентных ионов металлов, однако его основной функцией является трансмембранный перенос Fe^{2+}. У человека он кодируется геном *SLC11A2*. Уровень экспрессии транспортера DMT-1 в энтероцитах крипт зависит от обеспеченности железом организма в целом. Информация поступает в энтероциты с железотрансферриновым комплексом через базолатеральную мембрану путем рецептор-опосредованного эндоцитоза. Происходит программирование уровня активности энтероцита в части его способности к поглощению железа. Эта программа сохраняется в течение всего периода жизнедеятельности клетки. Возможно, на базолатеральной мембране клетки существуют рецепторы нагруженного железом и свободного от металла трансферрина, которые регулируют вход и выход трансферрина соответственно. Из-за снижения содержания внутриклеточного железа дифференцирующиеся энтероциты, мигрирующие к вершине ворсинок, начинают вырабатывать повышенное количество DMT-1, в результате чего усиливается захват железа. Этот процесс зависит от белка гемохроматоза HFE. Белок гемохроматоза человека кодируется геном *HFE*. Ген *HFE* расположен на коротком плече хромосомы 6, локусе 6p21.3. Белок, кодируемый этим геном, является мембранным белком, который связывается с p_2-микроглобулином. Считается, что этот белок выполняет функции по контролю всасывания железа, регулируя взаимодействие рецептора трансферрина с трансферрином. В норме *HFE*

экспрессируется в энтероцитах крипт дуоденума, где он расположен преимущественно интрацеллюлярно и ассоциирован с рецептором трансферрина TfR. Этот комплекс регулирует уровень поглощения железа в кишечнике.

Таким образом, мутация *HFE*-гена нарушает трансферрин-опосредованный захват железа энтероцитами двенадцатиперстной кишки, вследствие чего формируется ложный сигнал о наличии низкого содержания железа в организме. Это приводит к повышенной выработке железосвязывающего белка DMT-1 в ворсинках энтероцитов и, как следствие, к повышенному захвату железа, что грозит гемохроматозом.

Экспериментальные исследования свидетельствуют о том, что транспорт железа и других двухвалентных ионов металлов посредством DMT-1 является pH-зависимым, но точный механизм регулирующего действия pH неизвестен.

Второй путь транспорта железа в кишечнике касается транслокации только Fe^{3+} и протекает при посредничестве ключевого белка мобилферрина (*mobilferrin*). У железодефицитных животных и DMT-1, и мобилферрин сосредоточены на апикальной поверхности микроворсинок. В энтероцитах железо связывается и хранится в виде ферритина, который впоследствии либо используется, либо удаляется в результате слущивания эпителиальных клеток. Квота железа, предназначенная для метаболизма в других тканях, переносится через базолатеральную мембрану энтероцита.

Фаза 2 — транспорт в ткани. Концентрация железа в крови в основном контролируется взаимодействием двух белков — гепцидина и ферропортина, что дало

возможность назвать это взаимодействие осью гепцидин–ферропортин. Это ключевой механизм в регуляции обмена железа. Соотношение этих белков регулирует депонирование и высвобождение железа из клеток. Единственная известная молекулярная мишень воздействия гепцидина — белок ферропортин, служащий трансмембранным каналом, посредством которого осуществляется транспорт железа из плазмы в клетку. При увеличении уровня железа в плазме крови увеличивается и концентрация гепцидина, который снижает всасывание железа из двенадцатиперстной кишки и высвобождение железа из депо.

Транспорт и депонирование железа в организме осуществляется группой белков — сидерофилинов (негемовые гликопротеины: трансферрин плазмы и лактоферрин молока и большинства секретов, где он представлен белковым компонентом гранул полиморфно-ядерных лейкоцитов). Их объединяет наличие двух участков связывания трехвалентного железа.

К энтероциту подходит трансферрин (р-глобулин). В норме концентрация трансферрина в плазме — 250 мг/дл, что позволяет связать 250–400 мг железа на 100 мл плазмы (каждая молекула трансферрина может нести 1–2 иона железа). Это общая железосвязывающая способность сыворотки. Таким образом железо попадает в циркулирующую кровь (сывороточное железо), а затем в органы депонирования (печень, селезенку). В дальнейшем оно возвращается обратно в циркуляцию в виде апотрансферрина (одноцепочечный белок — 700 аминокислот — связывающийся

с железом). В норме трансферрин насыщен железом на 25–40% (на 1/3 своей железосвязывающей способности).

Фаза 3 — утилизация тканями. Всего в организме человека 3–5 г железа, которое распределяется следующим образом: гемоглобин (хромопротеид) содержит 65% всего железа организма; депонированные формы железа (ферритин, гемосидерин) — около 25% (15–30%); миоглобин — 3,5%; тканевые ферменты — до 0,5%; при этом сывороточное железо — около 0,1%.

Фаза 4 — депонирование. Ферритин — лабильный пул [растворимая нетоксичная форма в белковой оболочке (апоферритин), в цитозоле практически всех клеток организма, период полужизни — около 60 ч]. Легкодоступный резерв для синтеза железосодержащих соединений. Основная масса ферритина содержится в костном мозге и ретикулоцитах, молекула ферритина может поместить до 4500 атомов трехвалентного железа. Ферритин также является белком острофазного воспаления и повышается в организме при инфекционных и неопластических процессах, в том числе при беременности. Содержание 1 мкг/л ферритина в сыворотке соответствует 10 мкг железа в депо. Этот показатель неинформативен при лечении: прием препаратов железа в течение 3 нед или парентеральное введение декстрана железа в течение нескольких дней вызывает повышение ферритина до нормального и высокого.

В печени и селезенке (в лизосомах в основном макрофагов) железо соединяется с нерастворимыми субстратами, образуя нерастворимую форму депонированного железа гемосидерин (деградированный

ферритин), конечный продукт обмена железа, без белковой оболочки.

Лактоферрин, высвобождаясь в процессе дегрануляции полиморфно-ядерных лейкоцитов, поглощается макрофагами после связывания с железом, присутствующим в инфицированных участках. Лактоферрин связывает избыточное железо в желудочно-кишечном тракте. В женском молоке содержится ненасыщенный лактоферрин, что обеспечивает подавление роста железозависимых микроорганизмов (сальмонеллы, клостридии, бактероиды, эшерихии, стафилококки, микобактерии).

Фаза 5 — экскреция и потеря железа. Осуществляется с потом, мочой, калом, путем слущивания эпителия кишечника, выпадения волос и отрастания ногтей. Общая потеря железа организмом не зависит от пола и равна 1 мг/сут, у менструирующих женщин — 2–3 мг/сут.

В среднем человеческое тело содержит 4 г железа. В нормальном состоянии 1–2 мг железа ежедневно потребляется из пищи дуоденальными энтероцитами. Железо, абсорбированное энтероцитами, по мере необходимости поступает в плазму крови, где связывается с переносчиком — трансферрином. Если такой необходимости нет, то железо остается в энтероцитах и позже выводится из организма через желудочно-кишечный тракт в составе клеток, отторгнутых по мере износа. Примерно 3 мг железа циркулирует в комплексе с трансферрином. Это железо потребляется многими клетками, в основном посредством TfRl-зависимого рецептор-индуцируемого эндоцитоза. Клетки получают железо из плазмы крови, где

в нормальном состоянии большая часть железа находится в комплексе с трансферрином.

Большинство клеток способно получать железо из этого комплекса посредством рецептор-индуцируемого эндоцитоза (рецепторы TfRl и TfR2). Трансферрин — гликопротеид, содержащийся в большом количестве в плазме крови и с высокой аффинностью связывающий две молекулы Fe^{3+}. При внеклеточном pH ~7,4 холотрансферрин (*Holotransferrin TF* — трансферрин, связанный с двумя молекулами железа) способен быстро связываться с TfRl. Эндоцитоз происходит в окаймленных ямках — специальных структурных образованиях на плазматической мембране. Вследствие инвагинации окаймленной ямки внутрь клетки формируется окаймленный пузырек, который быстро превращается в эндоцитозный пузырек. Кислая среда вызывает изменения как в молекуле TfRl, так и в трансферрине, что приводит к диссоциации трехвалентного железа от комплекса. При этом трансферрин остается связанным с рецептором. Далее редуктаза Steap3 восстанавливает Fe^{3+} до Fe^{2+}, которое транспортируется из эндосомы в цитоплазму с помощью белка DMT-1. TfRl в комплексе с апотрансферрином возвращается на плазматическую мембрану, где может вступать в новый цикл эндоцитоза.

Большая часть этого железа предназначена для развивающихся эритроцитов костного мозга, где оно потребляется со скоростью примерно 22 мг/день и используется для синтеза гемоглобина. Значительная часть железа организма (65–70%) находится в циркулирующих эритроцитах. Старые или поврежденные красные кровяные клетки удаляются

из циркуляции макрофагами ретикулоэндотелиальной системы, где железо высвобождается из гемоглобина и экспортируется обратно в плазму или запасается в комплексе с ферритином. Частично железо поступает из старых эритроцитов: после их фагоцитоза макрофагами железо попадает в фагосомы, откуда рециркулируется обратно в кровяное русло. Железо входит в цитоплазму макрофагов при участии ферропортина и поддержке феррооксидазной активности церулоплазмина и гемовой оксидазы. Кроме того, макрофаги имеют в распоряжении белки-транспортеры — DMT-1, интегрин-мобил-ферриновый протеин (integrin-mobilferrin protein — IMP) и белки-регуляторы — HFE, другие Fe-регуляторные белки. Схематически данную картину можно представить следующим образом:

1) железо в макрофагах освобождается из порфиринового кольца с помощью гемовой оксидазы;
2) железо входит в фагосомы макрофагов (в этом процессе участвуют ферропортин и церулоплазмин, обладающий восстановительной способностью);
3) железо в эндосомах связывается с белками-транспортерами — DMT-1 и IMP;
4) железо передается на апотрансферрин, а затем в эритроцитах феррохелатаза «вставляет» двухвалентное железо в протопорфирин IX для построения гема. Таким образом железо стареющих эритроцитов через ряд последовательных соединений с соответствующими белками возвращается в кровоток, соединяясь с трансферрином.

Кроме поступления железа из кишечника и его высвобождения из стареющих эритроцитов существует

альтернативный железотранспортный путь. Трехвалентное железо связывается с муцином, который передает его на интегрин, и далее, после перехода в энтероцит, связывается с мобилферритином. Клетки ретикулоэндотелиальной системы высвобождают в плазму примерно 22 мг железа в день, что компенсирует потребление клетками костного мозга. Другие клетки потребляют железо из плазмы в небольшом количестве для синтеза железосодержащих белков, таких как гемсодержащие цитохромы и содержащие железосерный кластер белки. Примерно 10–15% железа организма содержится в этих белках. Оставшиеся 20% содержатся в «запасниках», преимущественно в макрофагах и гепатоцитах. Потеря железа организмом происходит за счет слущивания клеток кожи и слизистой, а также при кровопотере.

Системные регуляторы обмена железа. Транспорт железа — строго контролируемый процесс, который может регулироваться в соответствии с потребностями организма. Отдельные клетки поддерживают должный внутриклеточный уровень железа, изменяя активность соответствующих белков на различных уровнях. Помимо такой «внутренней» регуляции клеточный транспорт железа может контролироваться извне системными регуляторами, что наиболее характерно для клеток ретикулоэндотелиальной системы, клеток печени и энтероцитов тонкой кишки. Открытие новых регуляторов метаболизма железа выявило сложность системы поддержания гомеостаза железа, но в то же время помогло улучшить общее понимание работы этой системы.

Гепцидин. Ключевым моментом в понимании регуляции системного гомеостаза железа было открытие регуляторного белка гепцидина. Гепцидин — это белок из 25 аминокислот. Имеет особенную волосоподобную структуру и содержит четыре цистиновых мостика, по строению аналогичен противомикробным белкам.

В 2001 г. Park и соавт. в ходе исследований по изучению антимикробных свойств различных биологических жидкостей человека сообщили о выделении из мочи человека нового пептида, который назвали гепцидином (*hepcidin*). Название нового пептида было получено путем комбинации двух слов: *hepar* (с лат. — «печень» — место синтеза пептида) и *cidin* (с лат. — «уничтожать» — подчеркивает антимикробные свойства белка). Позднее было показано, что синтез гепцидина происходит и в тубулярной системе почек. Krause и соавт. независимо от Park и соавт. получили похожий пептиод из ультрафильтрата плазмы и назвали его LEAP1 (*liver expressed antimicrobial peptide*). Показана последовательность зрелого белка из 25 аминокислот в отдельном буквенном шифре.

Взаимосвязь между гепцидином и метаболизмом железа впервые была обнаружена C. Pigeon и соавт. в ходе исследований по изучению реакций печени на перегрузку железом. Стимуляция образования матричной РНК гепцидина была обнаружена не только при алиментарной или парентеральной перегрузке железом, но и при введении мышам липополисахарида. Это дало основание считать, что образование гепцидина связано и с метаболизмом железа,

и с иммунными реакциями. В более поздних исследованиях было показано, что гепцидин играет ключевую роль в регуляции поглощения железа в кишечнике и рециркуляции железа из клеток моноцитарно-макрофагальной системы. G. Nicolas и соавт. показали, что у мышей, лишенных гена *USF2*, ответственного за синтез гепцидина, развивается гемохроматоз. Ими было сделано заключение, что гепцидин негативно влияет на процессы поглощения железа в кишечнике и тормозит процессы рециркуляции железа из макрофагов. R.E. Fleming и W.S. Sly предположили, что избыточная продукция гепцидина, отмечаемая при инфекциях и воспалении, может быть ответственной за развитие анемии хронических болезней (АХБ). Трансгенные мыши, вырабатывающие сверхдозы гепцидина, умирали вскоре после рождения от тяжелого дефицита железа. Это, по мнению авторов, указывало на то, что гепцидин является отрицательным регулятором трансплацентарного переноса железа к плоду. Weinstein и соавт. продемонстрировали двух пациентов с большими аденомами печени и сопутствующей микроцитарной рефрактерной к железу анемией. Полная резекция опухоли привела к быстрому восстановлению уровня гемоглобина у обоих пациентов. Авторы установили, что причиной развития анемии была избыточная продукция гепцидина опухолевой тканью. Этот небольшой пептид синтезируется гепатоцитами и секретируется в плазму крови, где ингибирует экспорт железа из различных типов клеток в кровь. Продукция гепцидина понижается в ответ на стимулы, усиливающие экспорт железа из клеток (недостаток железа, высокий

уровень эритропоэза), и повышается в состоянии, когда необходимо снизить экспорт железа в системное русло (избыток железа в крови, воспаление).

Гепцидин способен непосредственно взаимодействовать с ферропортином на поверхности клеточной мембраны и индуцировать его вхождение в цитоплазму и последующую деградацию, понижая таким образом скорость экспорта железа из клетки. На данный момент известно четыре регуляторных пути, контролирующих продукцию гепцидина:

1) регуляция в ответ на изменение общего уровня железа;
2) регуляция в ответ на изменение интенсивности эритропоэза;
3) регуляция в ответ на воспаление;
4) «обязательный» сигнальный путь (*mandatory signaling pathway*).

Принято считать, что индикатором общего уровня железа в организме является степень насыщения трансферрина железом в плазме крови. Путь передачи этого сигнала на гепцидин ясен не до конца, хотя недавние работы по изучению взаимодействий трансферрина и HFE с TfR1 и TfR2 привели к гипотетической модели, в которой циркулирующее железо, связанное с трансферрином, влияет на формирование комплекса HFE с TfR2 на поверхности гепатоцитов. Этот комплекс способен увеличивать продукцию гепцидина посредством пока не известного внутриклеточного сигнального пути. Рецептор трансферрина второго типа стабилизируется холотрансферрином, что приводит к увеличению количества TfR2 на клеточной мембране при повышении уровня этой формы

белка. HFE и трансферрин связываются с рецептором трансферрина первого типа на частично перекрывающихся сайтах и конкурируют за связывание. Увеличение уровня холотрансферрина приводит к вытеснению HFE из комплекса с трансферрином и, как следствие, к перемещению HFE из эндосом, содержащих TfR1, на плазматическую мембрану. Высвобождение TfR1 из комплекса с HFE приводит к усилению транспорта железа в клетку. HFE, вытесненный из комплекса с TfR1, связывается с рецептором трансферрина второго типа, формируя комплекс, предположительно передающий сигнал на гепцидин.

В случае гипоксии или анемии низкое давление кислорода индуцирует стабилизацию фактора гипоксии HIF-1a, что приводит к продукции ЭПО почкой. ЭПО усиливает интенсивность эритропоэза и, таким образом, потребность железа костным мозгом. Это приводит к мобилизации железа из запасников и усилению абсорбции энтероцитами посредством понижения уровня гепцидина, несмотря на уровень железа в плазме.

Регуляция в ответ на изменение интенсивности эритропоэза осуществляется посредством фактора, передающего сигналы из костного мозга в гепатоциты на гепцидин. Возможными кандидатами на эту роль ранее считались растворимая форма рецептора трансферрина первого типа и GDF-15 (Growth Differentiation Factor 15). Однако в 2013 г. была открыта молекула, активно участвующая в регуляции синтеза гепцидина, — эритроферрон. Показано, что он вырабатывается эритрокариоцитами костного мозга. Регуляция синтеза гепцидина осуществляется

по принципу обратной связи: чем активнее эритропоэз и в костном мозге больше эритроидных клеток-предшественников, тем больше вырабатывается эритроферрона, ингибируя синтез гепцидина. Этим обеспечивается высокая доступность железа, необходимого для образования клеток красной крови. Равно и наоборот, малое количество эритроидных клеток-предшественников обеспечивает низкий уровень эритроферрона, что ведет к повышению образования гепцидина, а следовательно, к малой доступности железа для эритропоэза.

Третий путь регуляции экспрессии гепцидина контролируется воспалением. Этот путь индуцируется преимущественно ИЛ-6, вследствие чего активируется Jak/Stat — путь передачи сигнала в ядро и осуществляется регуляция экспрессии гена гепцидина. Недавние исследования показали, что регуляция гепцидина при изменении общего уровня железа и интенсивности эритропоэза зависит от активности дополнительного пути, который контролируется белком HJV (гемоювелином). Предположительно гемоювелин поддерживает передачу сигнала посредством BMP/Smad — пути сигнальной трансдукции. Мутации HJV приводят к нарушению обоих путей сигнализации. При исследовании промоторной области гена гепцидина были найдены сайты связывания различных транскрипционных факторов, таких как C/EBPa, HNF4a, USF, p53, роль которых в регуляции экспрессии гепцидина не до конца понятна.

Структура гемоглобина. Гемоглобин состоит из белка и железосодержащего гема. В каждую цепь глобина встроена молекула гема; содержащийся в ней

атом железа связывает кислород. Переносить кислород может только двухвалентное железо. Большая часть гемоглобина у взрослых содержит две цепи α-глобина и две β-глобина (по 141 и 146 аминокислот соответственно), которые кодируются генами α-глобиновых кластеров и генами β-глобиновых кластеров, находящихся на различных хромосомах. Ген α-глобина человека локализован на 16-й хромосоме в позиции p13.3-pter. Ген β-глобина человека локализуется на 11-й хромосоме в позиции p15.5. Гены, кодирующие γ-, β- и e-цепи, локализуются на 11-й хромосоме. Последовательная экспрессия различных генов глобина во время онтогенеза приводит к смене преобладающего типа гемоглобина. Так, на момент рождения преобладает синтез не β-, а γ-цепей, которые, соединяясь с α-цепями, образуют фетальный гемоглобин (гемоглобин F).

Гемоглобин — это примерно 95% белков эритроцитов. Молекула гемоглобина представляет собой тетрамер, состоящий из двух гомологичных димеров. Гемоглобин нормального человека содержит три компонента. На долю гемоглобина A1 приходится 90% всего гемоглобина, в то время как гемоглобин A2 составляет 2,5%, гемоглобин A3 — 7,5%. Конфигурация как отдельных цепей, так и молекулы в целом может меняться, приводя к образованию форм гемоглобина с различным сродством к кислороду.

Время жизни эритроцитов составляет около 120 дней. К концу этого периода они стареют и затем разрушаются фагоцитирующими макрофагами печени, селезенки, костного мозга. Гемоглобин

расщепляется на гем и глобин. Глобин распадается на составляющие его аминокислоты, которые поступают в общий фонд свободных аминокислот печени и используются в соответствии с потребностями. От гема отщепляется железо, а остающиеся пиррольные кольца образуют зеленый пигмент биливердин, который превращается в билирубин — желтый пигмент, входящий в состав желчи.