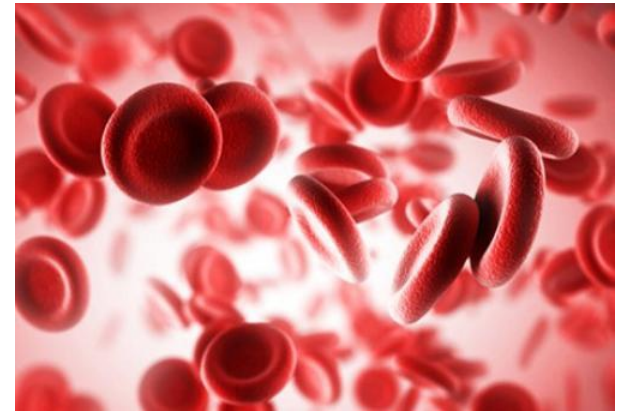


Дифференциальная диагностика железодефицитной анемии (ЖДА), анемии хронического заболевания (АХЗ) и гемохроматоза

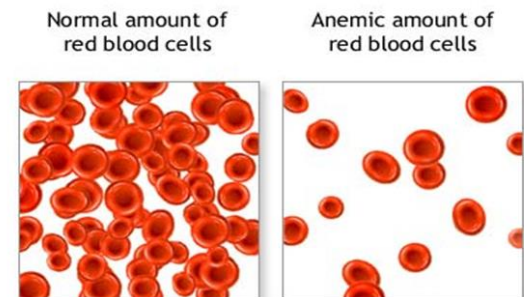
***К.б.н. Соловьева И.В.
Доцент кафедры КЛД МОНИКИ
им. М.Ф. Владимирского
Москва***



***IX межрегиональная научно-практическая конференция специалистов
лабораторной службы ПФО
28-29 МАЯ 2019, Нижний Новгород***

Анемии

- **АНЕМИЯ** – патологическое состояние, при котором наблюдается снижение гемоглобина и/или снижение эритроцитов
- Анемии всегда вторичны, т. е. являются одним из симптомов какого-то общего заболевания
- Существует различные типы анемии, каждая из которых сопровождается рядом специфических симптомов и развивается по разным причинам.
- Дифференциальная диагностика типа анемии имеет решающее значение для постановки правильного диагноза и эффективного лечения



Распространенность анемии

- **Железодефицитная анемия (ЖДА)** - самый распространенный анемический синдром - более 1,24 млрд. человек во всем мире (50% от всех случаев анемии)*
- Железодефицит без анемии – примерно 2,5 млрд. человек*
- В России ЖДА регистрируют у 6-30% населения, у беременных до 80%, у детей около 30% **

- **Анемия хронического заболевания (АХЗ)** - вторая по распространенности после ЖДА – около 1 млрд. человек
- Наиболее часто встречается у госпитализированных и хронически больных пациентов
- У лиц пожилого возраста распространенность АХЗ > 65%
- Связаны с нарушением метаболизма железа

*- C. Camaschellal. RON METABOLISM AND ITS DISORDERS. Iron deficiency. Blood, 2019,| VOLUME 133, NUMBER 1, p. 30-39

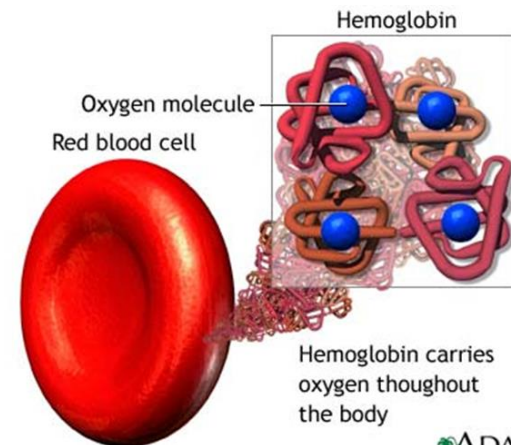
** - Н.А. Андреев, Л.В. Балева. Железодефицитные состояния и железодефицитная анемия. ВЕСТНИК СОВРЕМЕННОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ 2009 Том 2, вып. 3, с. 60-65

Роль железа в организме

- Железо (Fe) – один из важнейших биокатализаторов в организме человека, необходимый для роста и выживания
- Присутствует в 2-х формах: Fe²⁺ (восстановленное) и Fe³⁺ (окисленное)
- Является как донором, так и акцептором электронов
- Входит в состав многих белков и ферментов
- В свободном виде обладает токсическим эффектом (катализирует превращение перекиси водорода в свободные радикалы)

Функции:

- Перенос кислорода (гемоглобин)
- Запасание кислорода (миоглобин)
- Производство энергии (цитохромы, ферменты цикла Кребса)



Общее содержание и распределение железа в организме

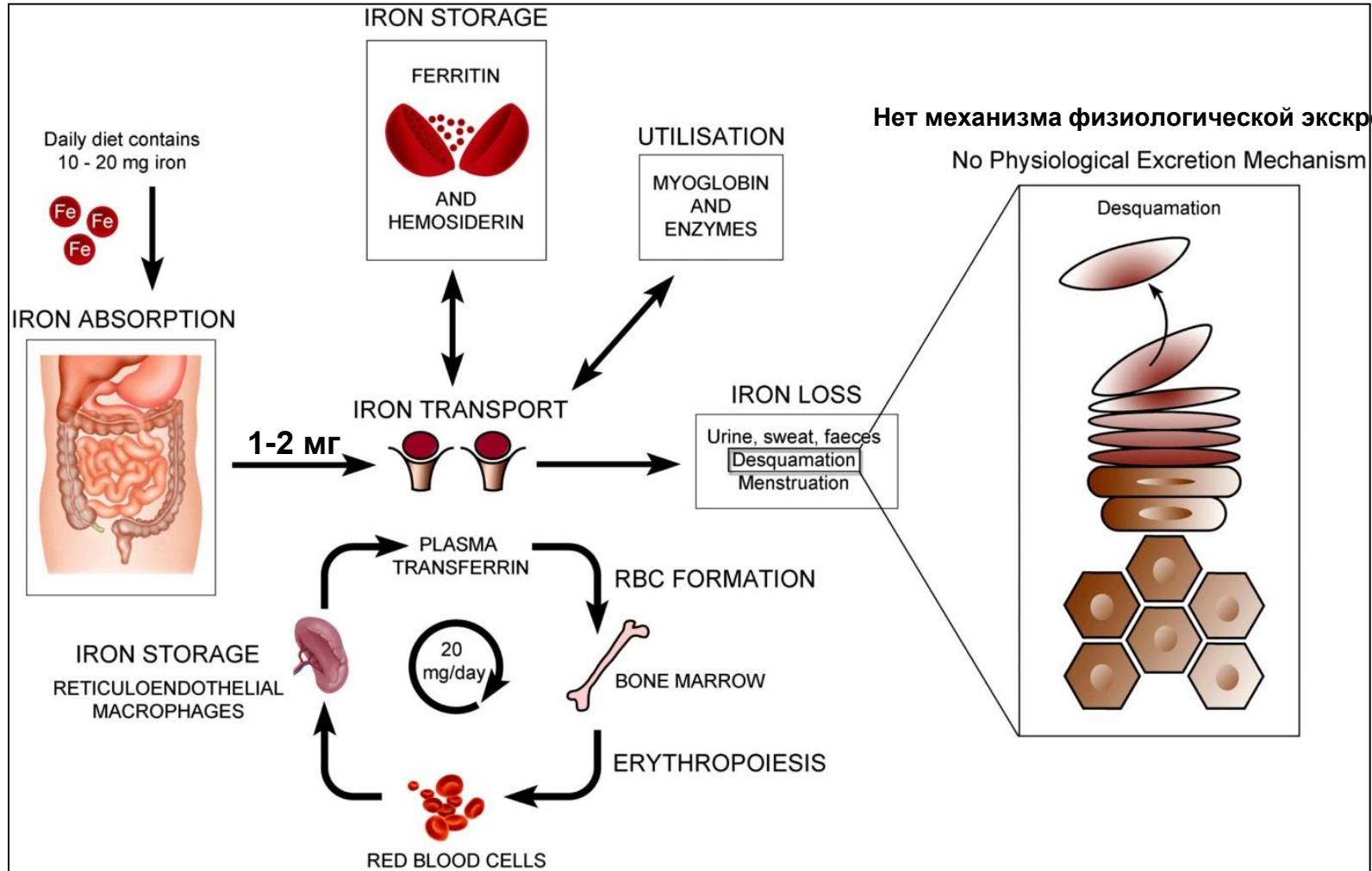
- Общее количество железа в организме: 3 г – мужчины и 2,5 г – женщины (норма)*
- Источники железа для биосинтеза железо – содержащих белков:
 - 1) Экзогенный - пищевые продукты: гемовое (Fe^{2+}) и негемовое (Fe^{3+}) железо
 - 2) Эндогенный - железо, освобождающееся при распаде зрелых эритроцитов в макрофагах селезенки и печени (20-30 мг/сутки) – рециркуляция железа. Основной источник для синтеза гемоглобина



Ф. Дати, Э. Метцманн. Белки. Лабораторные тесты и клиническое применение. М., Лабора, 2007

*- Daher R. Karin Z. Iron metabolism. State of the art. Transfus Clin Biol. 2017 Sep;24(3):115-119

Метаболизм железа в организме



Регуляция гомеостаза железа

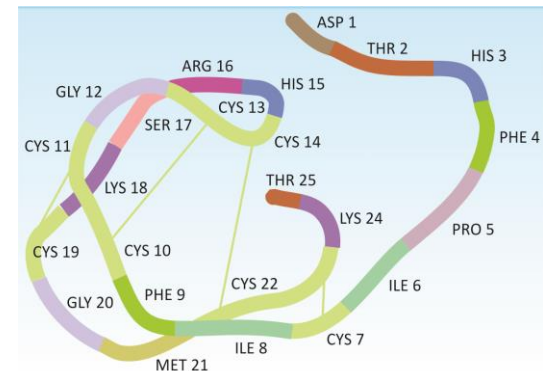
- **Метаболизм железа в организме представляет один из самых высокоорганизованных и скоординированных процессов**
- **Адсорбция, рециркуляция, запасание и мобилизация железа запаса контролируется тремя основными регуляторами:**
- **Stock- зависимый** – осуществляет контроль содержания железа в организме
- **Эритрозависимый** – регулирует потребности эритропоэза
- **Воспалительный** – регулирует распределение железа при воспалении
- **Все эти три регулятора находятся под контролем железорегулирующего гормона *гепсидина***

Гепсидин

Гепсидин - полипептид (9.4 кД), 25 аминокислот

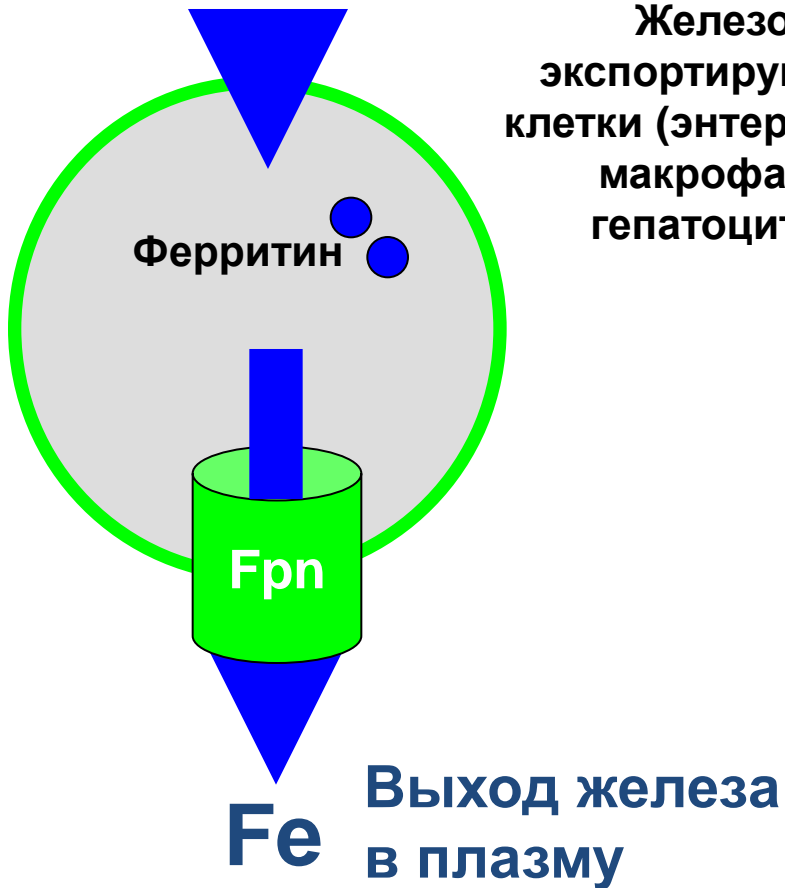
- Обладает антимикробным действием (повреждает мембрану бактерий)
- Синтезируется в печени, незначительные количества – в почках, сердечной и скелетных мышцах и мозге
- Уровень гепсидина -
- Возрастает при заполнении запасов железа, инфекциях или воспалении
- Снижается при гипоксии, анемии, стимуляции эритропоэза
- Секретируется в мочу

Girelli D. et al. , Hepsidin in the diagnosis of iron disorders.
BLOOD, 9 JUNE 2016 ,VOLUME 127, NUMBER 23, p. 2809-2812



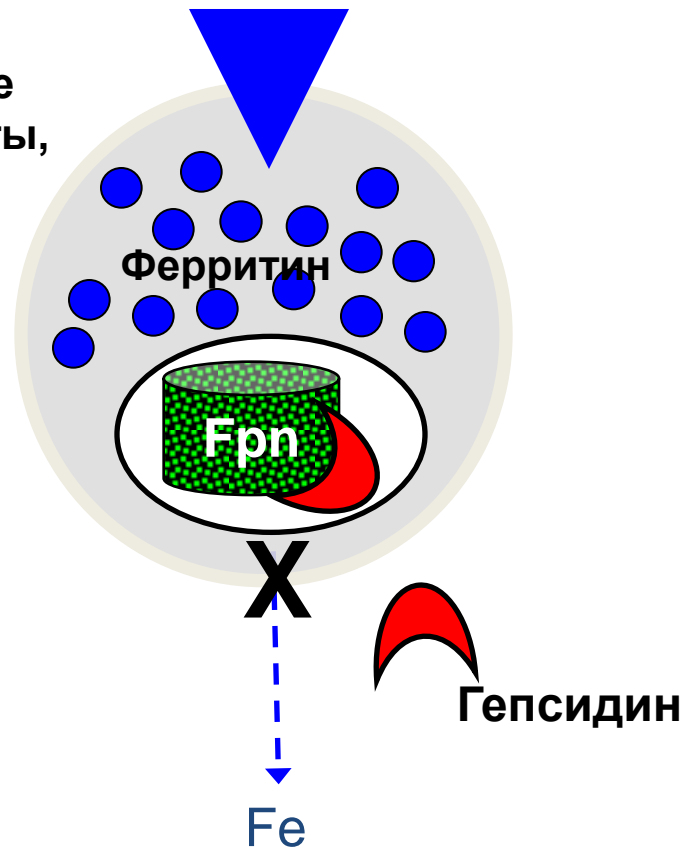
Механизм действия гепсидина

Низкий гепсидин
Поступление железа



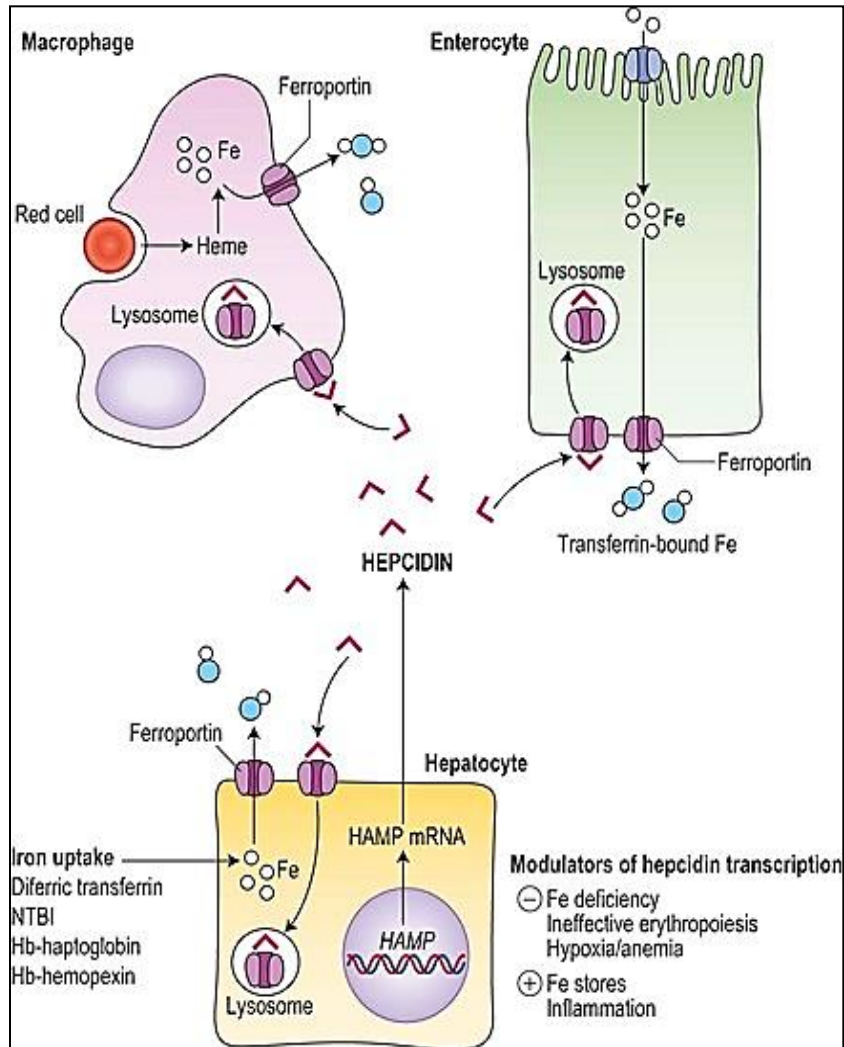
Fpn- ферропортин

Высокий гепсидин
Поступление железа



Большая часть железа остается внутри клеток и запасается в ферритине

Гепсидин – системный регулятор гомеостаза железа



**Основная функция –
регуляция концентрации
железа в плазме и
распределения его в тканях**

- **Ингибирование абсорбции
в кишечнике**
- **Ингибирование
мобилизации железа
запаса в печени**
- **Ингибирование
рециркуляции железа в
макрофагах**

Для эффективной диагностики типа анемии и назначения правильного лечения следует проводить комплексную оценку показателей метаболизма железа и перейти от определения *концентрации железа* к оценке *статуса железа*

Статус железа

Диагностическая оценка статуса железа основана на измерении:

- **Эритроцитарных индексов**
- **Метаболического железа (гемоглобин)**
- **Железа запаса (ферритин, гемосидерин)**
- **Транспортного железа (трансферрин, растворимые рецепторы трансферрина, насыщение трансферрина)**

Эритроцитарные индексы

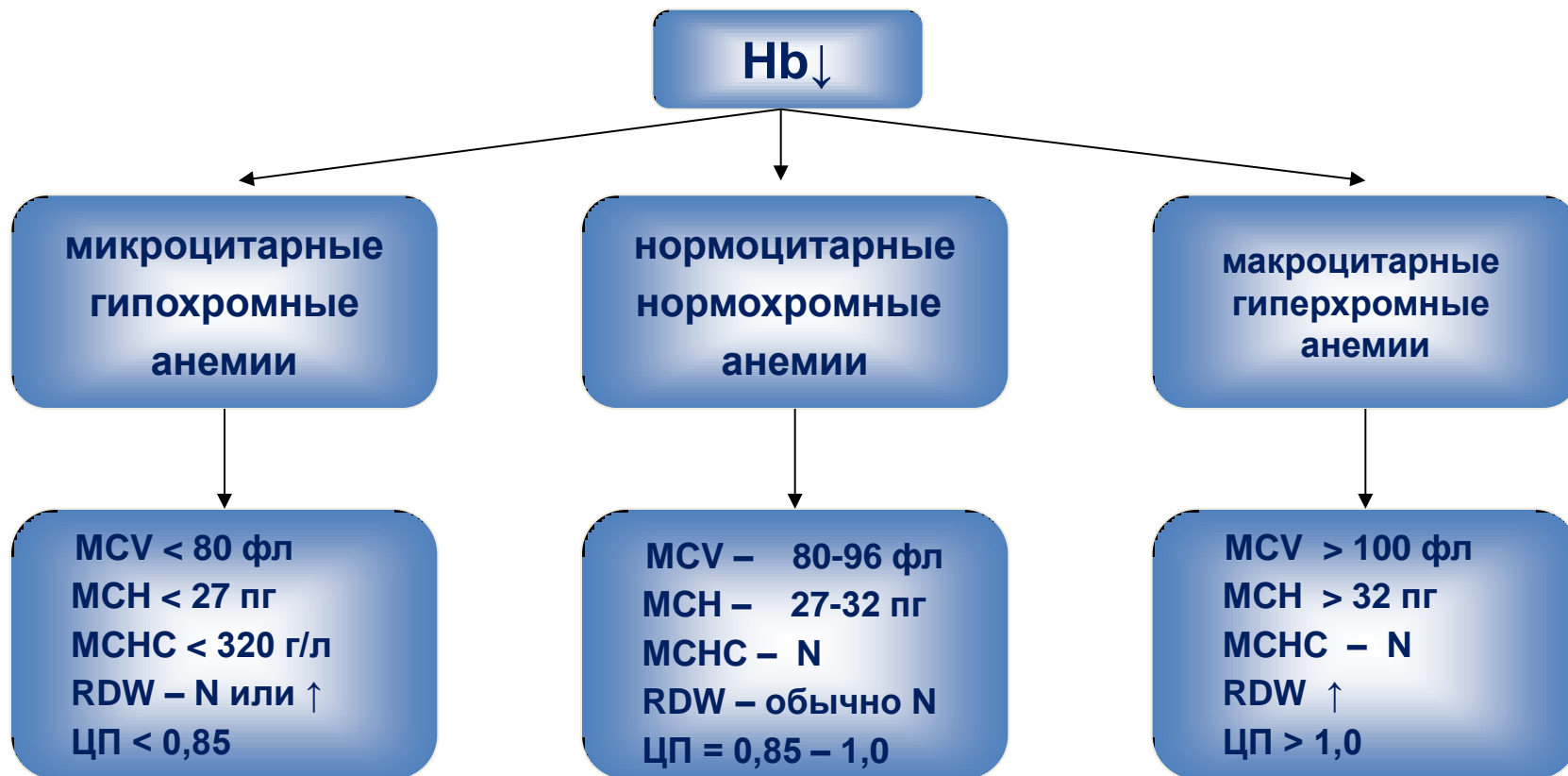
| Параметр | | Метод определения | Диапазон нормальных значений |
|---|---|---|--|
| MCV (фл, 1фл = 10 ⁻¹⁵ л) | Mean Corpuscular Volume Средний объем эритроцита | Кондуктометрический | Новорожденные 128 фл 1 неделя 100-112 фл 1 год 77-79 фл 3-4 года 80 фл Взрослые 86-98 фл |
| MCH (пг) | Mean Corpuscular Hemoglobin Среднее содержание гемоглобина в эритроците | $MCH = HGB / RBC$ | 27 – 31 |
| MCHC (г/л) | Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration Средняя концентрация гемоглобина во всех эритроцитах | $MCHC = HGB \times 10 / HCT$ | 320 – 370 |
| RDW (%) | Показатель гетерогенности эритроцитов по объему Red cell Distribution Width | $RDW-CV (\%) = SD \times 100 / MCV$ Коэффициент вариации MCV | 11,5 – 14,5 |

MCH – соответствует цветному показателю крови в старых анализах. ЦП = MCH * 0,03

MCHC - характеризует общее количество гемоглобина во всех эритроцитах.

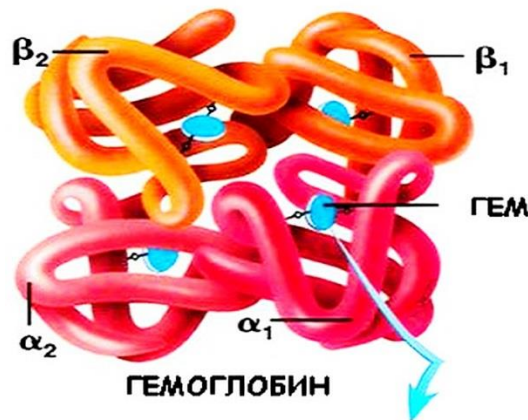
RDW - степень анизоцитоза эритроцитов. SD – стандартное среднеквадратичное отклонение объема эритроцита от среднего значения.

Использование эритроцитарных показателей в дифференциальной диагностике анемий



Функциональное железо: гемоглобин

- Транспорт кислорода и удаление CO_2
- Поддержание физиологического рН как буферная система
- Гемопротейн: белковый компонент - глобин, небелковый – 4 одинаковых железопорфириновых соединения (гемы)
- Атом железа (II), расположен в центре гема



Критерии анемии (ВОЗ)

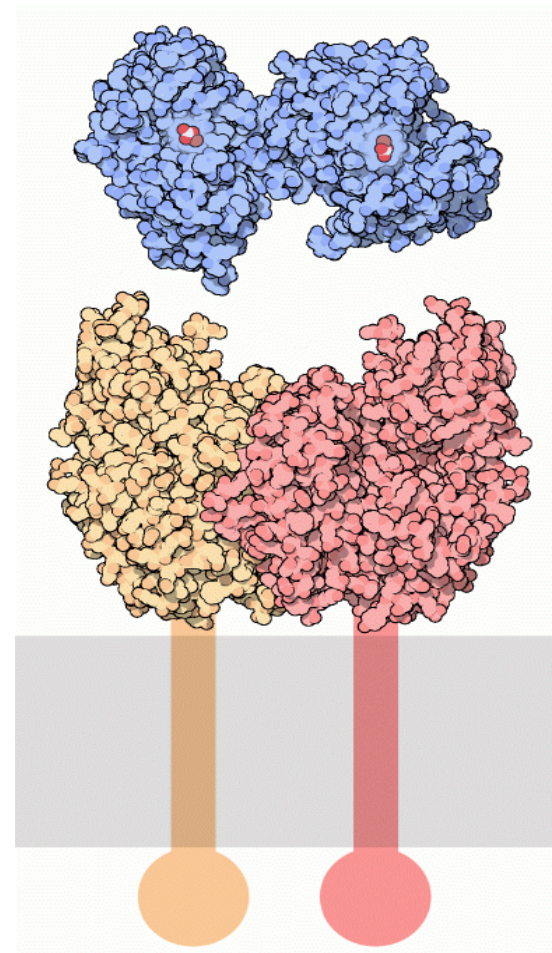
- Мужчины – гемоглобин менее 130 г/л, эритроциты менее $4 \times 10^{12}/\text{л}$, гематокрит менее 39%
- Женщины – гемоглобин менее 120 г/л, эритроциты менее $3,8 \times 10^{12}/\text{л}$, гематокрит менее 36%
- Беременные – гемоглобин менее 110 г/л, гематокрит менее 33%

Транспорт железа: ТРАНСФЕРРИН

- **Трансферрин** – глобулярный белок, отвечает за транспорт железа в плазме (м.в. 80 кДа)
- Синтезируется в печени в зависимости от потребностей и запаса железа
- Каждая молекула трансферрина может связать максимум 2 иона железа Fe^{3+} , связанного с бикарбонатом.
- «Отрицательный» реактант острой фазы
- Биологическая функция трансферрина:
 - 1) образование диссоциирующих комплексов с железом
 - 2) обеспечение легкодоступного железа для синтеза гемоглобина
 - 3) распределение железа в организме.

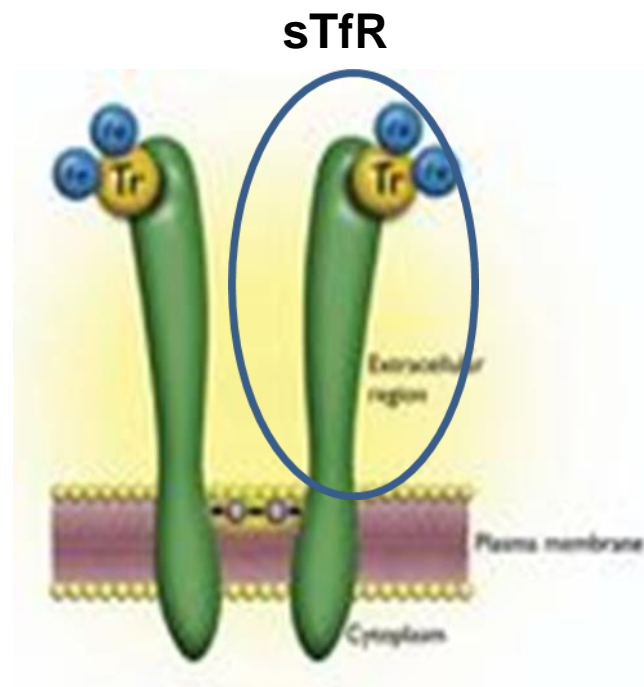
Нормальные значения: 2,0-3,6 г/л

Ф. Дати, Э. Метцманн. Белки. Лабораторные тесты и клиническое применение. М., Лабора, 2007



Рецепторы трансферрина (РТ)

- Количество железа, поступающего в клетку прямо пропорционально числу специфических мембранных рецепторов (TfR)
- 80% TfR находится на эритроидных клетках костного мозга, на поверхности зрелых эритроцитов не присутствуют
- Продукт протеолиза TfR - растворимый рецептор трансферрина (sTfR)
- Уровень sTfR в крови отражает активность цикла трансферрина.
- При недостатке железа количество sTfR возрастает, при перегрузке железом - снижается.
- Не зависит от наличия острой фазы воспаления



Норма для sTfR:

- 9,6-29,6 нмоль/л
- 0,9-2,8 мг/л

Thomas L. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed.; Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft; 1998, p. 273–275.

Общая и ненасыщенная железосвязывающая способность

В норме железом заполнена 1/3 связывающих центров трансферрина, остальные 2/3 остаются в резерве

Дополнительное количество железа, которое может связаться с трансферрином –

Ненасыщенная железосвязывающая способность сыворотки (НЖСС).

Максимальное количество железа, которое может присоединить трансферрин до своего полного насыщения -

Общая железосвязывающая способностью сыворотки – (ОЖСС)

ОЖСС= Сывороточное железо + НЖСС

Прямое измерение трансферрина – альтернатива определению ОЖСС

Нормы:

- ОЖСС - 44,8- 76,1 мкмоль/л**

Клиническое руководство по лабораторным тестам. Под ред. Н. Тица. Москва, 2003

НЖСС - 20,0- 62,0 мкмоль/л

Helixbook. Справочник по медицинским и лабораторным исследованиям. Москва, 2016

Насыщение трансферрина (НТ)

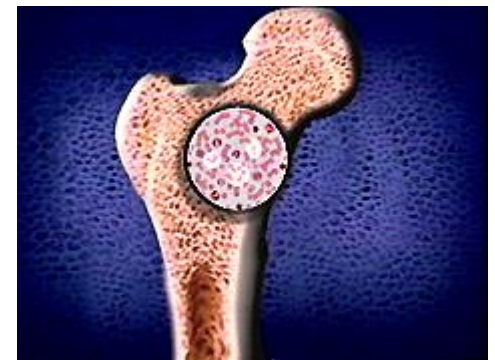
Коэффициент насыщения трансферрина - отношение количества железа, связанного с трансферрином к ОЖСС:

$$\text{НТ (\%)} = \text{Железо (мкмоль/л)} / \text{ОЖСС (мкмоль/л)} \times 100$$

$$\text{НТ (\%)} = 3.98 [\text{Железо (мкмоль/л)} / \text{Трансферрин (г/л)}]$$

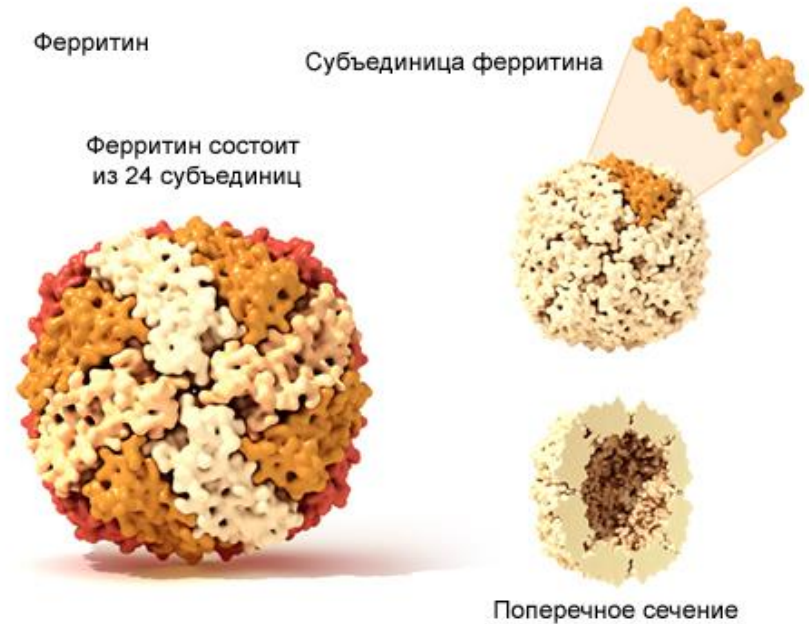
Диагностическое значение НТ

- Самый точный индикатор поставки железа в костный мозг
- Маркер доступности железа для эритропоэза
- Снижается при ЖДА и АХЗ
- Используется для скрининга гемохроматоза и исключения перегрузки железом
- Норма НТ – 15 - 45 %.



Запасание железа: Ферритин

- **Ферритин (М.в. 450 кДа)**
- **Содержит 15-20 % общего железа в организме взрослого человека**
- **24 независимых глобулярных пептида, окружающих ядро трехвалентного железоксигидроксифосфата (~ 2500 Fe³⁺ ионов)**
- **«Положительный» реактант острой фазы**



U.S. National Library of Medicine

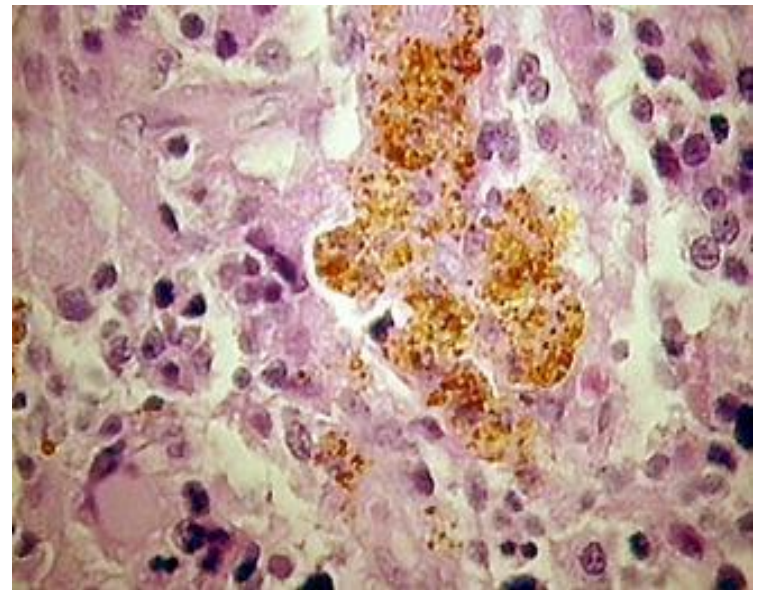
- **Функция ферритина:**
- **Место хранения**
- **Легко доступный резерв железа**
- **Является ключевым параметром для определения причины анемии**

Нормальные значения (мкг/л):

- **дети – 15-120,**
- **мужчины - 30-300,**
- **женщины <50 лет – 10-160,**
- **>50 лет- повышены до значений у мужчин**

Гемосидерин

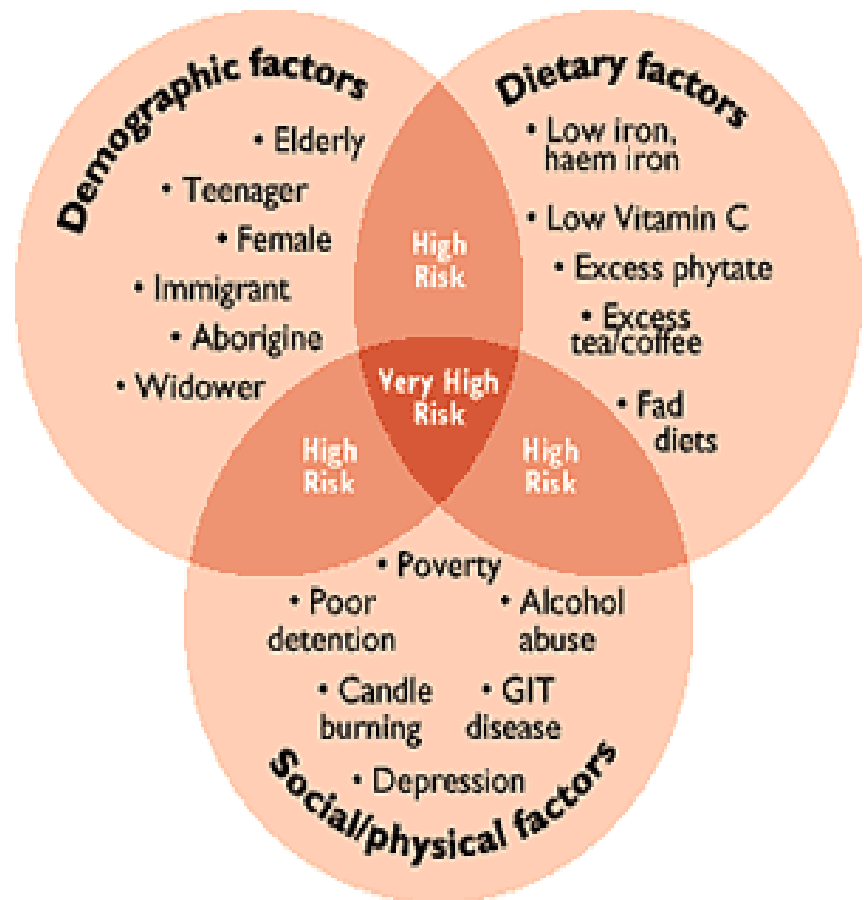
- **Гемосидерин** – производное ферритина с более высокой концентрацией железа
- Откладывается при избытке железа
- Обнаруживается в макрофагах костного мозга, селезенки, печени (купферовских клетках)
- Нерастворим в воде
- Трудно мобилизуемая форма железа
- Легко различим в световом микроскопе в реакции Перлса



Железодефицитная анемия: причины

Превышение потерь железа над потреблением

1. Хронические кровопотери
2. Повышенная потребность в железе
 - Беременность
 - Лактация
 - Быстрый рост в пубертатном периоде
3. Сниженное потребление железа (вегетарианцы, недостаточное питание)
4. Нарушение всасывания (хронический энтерит, резекция тонкой кишки, лямблиоз, глистные инвазии)



Статус железа при ЖДА

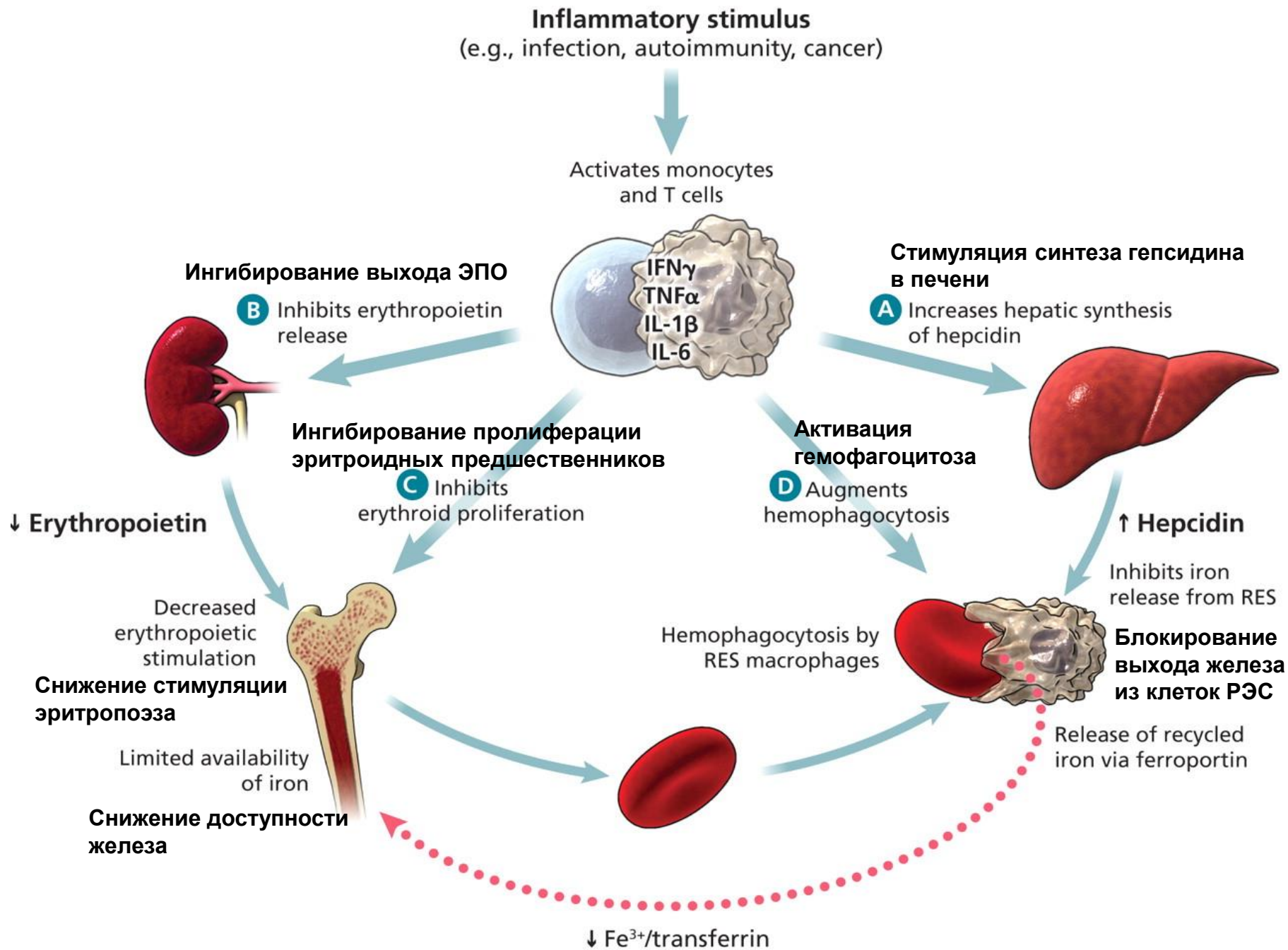
| | | Стадия 1 | Стадия 2 | |
|--|---------------|------------------|----------------------------|--|
| | Норма | Сниженные запасы | ЖДА | |
| <p>Железо запаса</p> <p>Транспортное железо</p> <p>Железо эритрона</p> | | | | |
| Железо (мкмоль/л) | 20±10 | < 20 | < 7 | |
| Ферритин (мкг/л) | 100±60 | < 25 | < 10 | |
| НТ (%) | 15 - 45 | < 30 | < 10 | |
| Гемоглобин (г/дл) | Норма (12-13) | Норма (12-13) | Снижен (< 12-13) | |
| Эритроциты | Норма | Норма | Гипохромные, микроцитарные | |

Гемоглобин ретикулоцитов– дополнительный маркер диагностики ранней стадии ЖДА

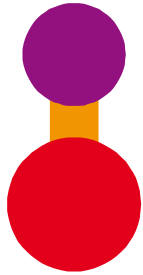
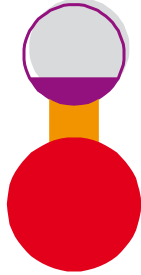
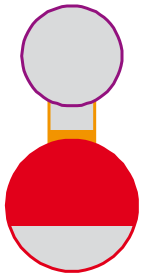
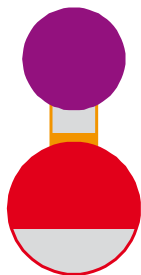
- **Диагностическая значимость эритроцитарных индексов возрастает при манифестировании ЖДА и незначительна при скрытом железодефиците.**
- **Причина- длительная продолжительность жизни эритроцита – около 120 дней.**
- **Ретикулоцит превращается в эритроцит в течение 1–2 дней.**
- **Определение содержания гемоглобина в ретикулоцитах (Ret-He) - способ прямого измерения уровня железа, используемого для биосинтеза гемоглобина в текущий момент времени**
- **Характеризует доступность железа для эритропоэза**
- **Нормальный диапазон: 28–35 пг [$\sim 1,77$ – $2,22$ фмоль],**
- **Уровень < 28 пг [$1,77$ фмоль] - дефицит железа.**

Анемия хронического заболевания (АХЗ)

- Является приобретенным осложнением хронических заболеваний, вызывающих длительную иммунную активацию:
- Инфекции
- Аутоиммунные заболевания
- Онкологические заболевания
- ХБП и ЗСН
- Хронические легочные заболевания
- Ожирение, диабет
- Вызвана нарушением распределения железа из пула хранения в функционально активный пул.
- Железо блокировано внутри энтероцитов, макрофагов и гепатоцитов и недоступно для эритропоэза.



Статус железа при АХЗ

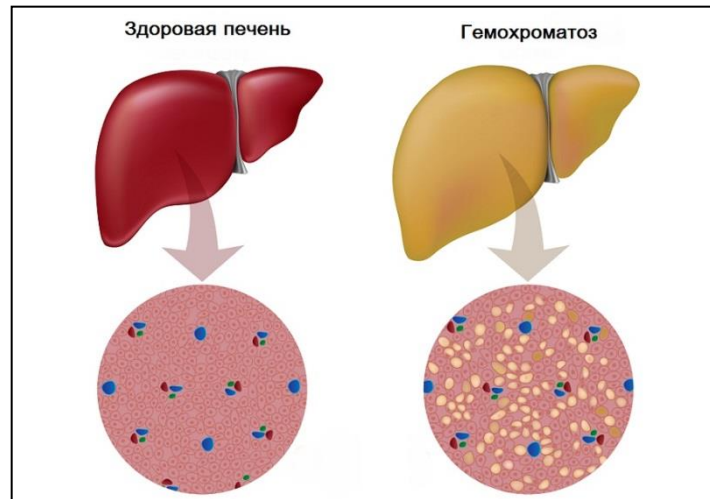
| | Норма | Истощение железа | ЖДА | АХЗ |
|--|---|--|---|---|
| | Норма | Истощение железа | Абсолютный дефицит железа | Функциональный дефицит железа |
| <p>Железо запаса</p> <p>Транспортное железо</p> <p>Железо эритрона</p> |  |  |  |  |
| Ферритин (мкг/л) | 100 ± 60 | < 25 | < 10 | >100 |
| НТ (%) | 15 - 45 | < 30 | < 10 | <20 |
| Гемоглобин (г/дл) | Норма | Норма | Низкий | Низкий |
| Эритроциты | Норма | Норма | Гипохромные, микроцитарные | Нормохромные нормоцитарные |

Диагностика АХЗ + ЖДА

- От 20% до 85% пациентов с АХЗ имеют ЖДА
- Причины: кровопотери, связанные с желудочно-кишечными или урогенитальными кровотечениями, терапевтическими процедурами (гемодиализ) и др.
- Диагностика с помощью стандартных лабораторных тестов затруднена
- Микроцитоз и гипохромия менее выражены, чем при ЖДА
- При АЗХ, ЖДА и АХЗ+ЖДА сывороточное железо и НТ понижены
- Ферритин при ЖДА снижен, при АХЗ повышен, при АЗХ+ ЖДА в норме или понижен
- Индекс ферритина (sTfR/log значения ферритина) лучше дифференцирует АХЗ (<1) и АХЗ +ЖДА (>2)
- Цитокины: при АХЗ и АХЗ +ЖДА - уровень повышен, при ЖДА- в норме
- Гепсидин: при АХЗ повышен, при АХЗ + ЖДА – значительно снижен

Перегрузка железом: гемохроматоз

- Гемохроматоз - это нарушение гомеостаза железа, которое приводит к повышенной адсорбции и накоплению железа в тканях с последующим их повреждением и функциональной недостаточностью органов



Последствия гемохроматоза

Потемнение кожи

- Вследствие отложения железа в коже, вызывающее повышенную продукцию меланина

Эндокринопатии

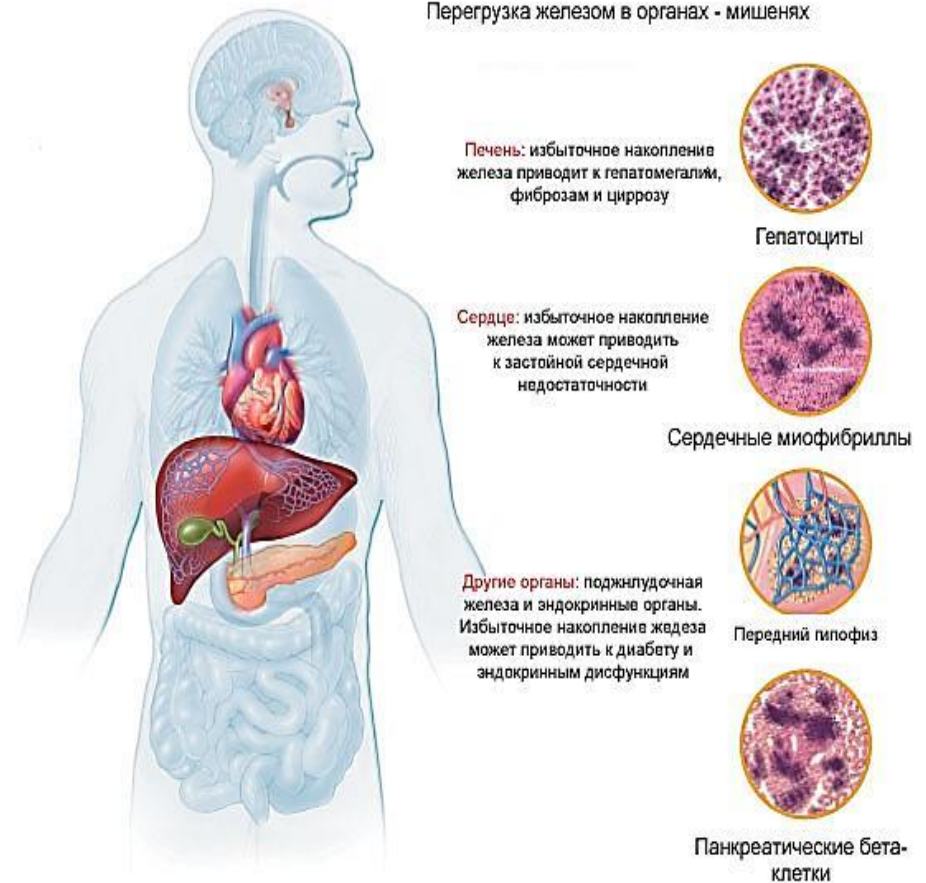
- Диабет, гипотиреоз

Повреждения печени

- Цирроз,
- Гепатоцеллюлярная карцинома

Сердечно-сосудистые заболевания

- Кардиомиопатия, приводящая к застойной сердечной недостаточности



Наследственный гемохроматоз

- **Генетически обусловленное нарушение абсорбции железа**
- **Нарушается регуляция захвата железа клетками слизистой желудочно-кишечного тракта**
- **Неконтролируемое поступлению железа в организм с последующим отложением его в различных органах (20 - 60 г)**
- **Одно из самых распространенных генетических заболеваний в мире, особенно в Северной Европе (1 на 220-250 человек)**

Типы наследственного гемохроматоза

Связанный с HFE

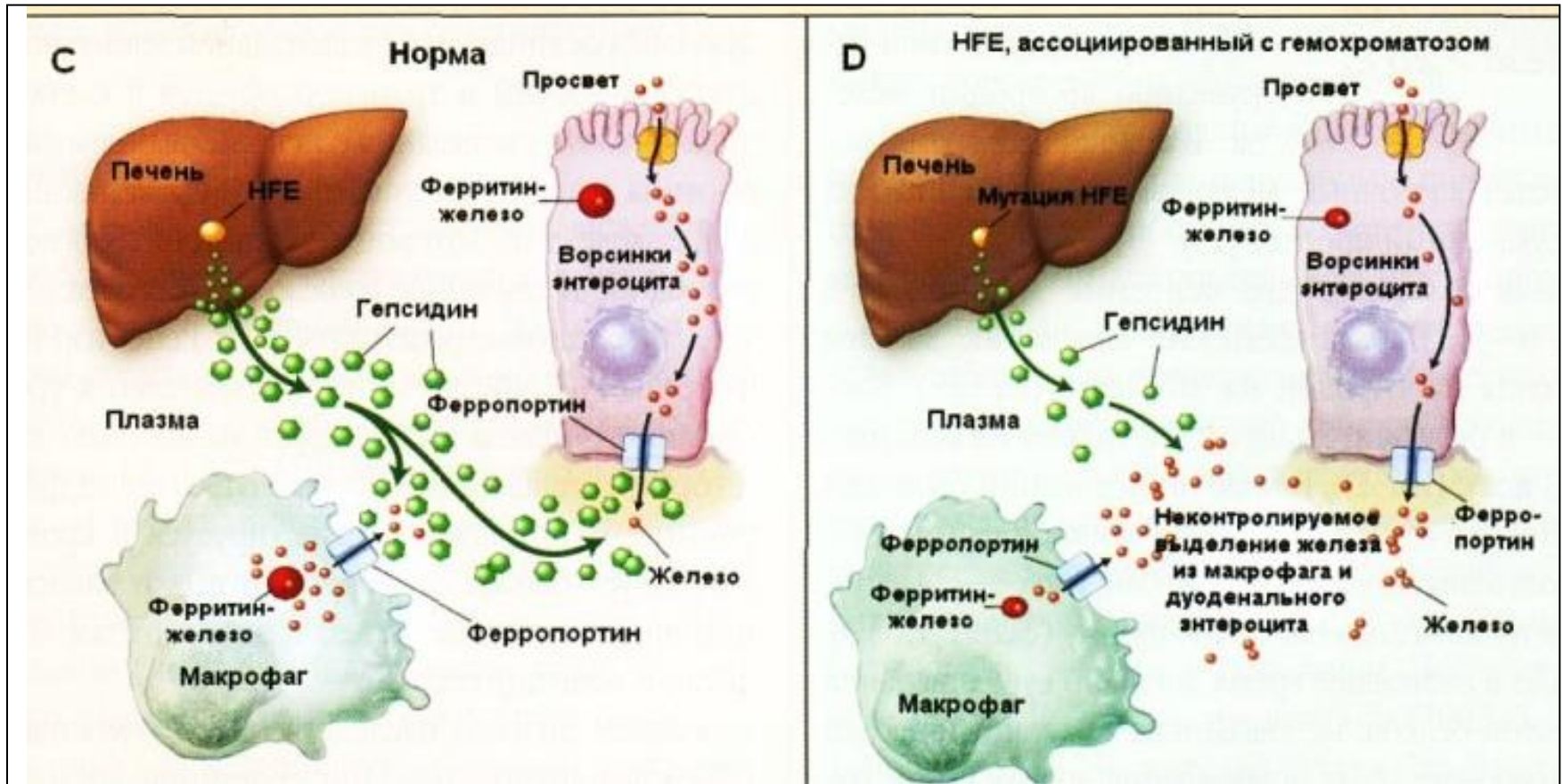
- Тип 1 – дефекты HFE (85-90%)
- Белок HFE – один из белков, регулирующих содержание гепсидина

Не связанный с HFE

- Тип 2a – дефекты Гемоювелина
- Тип 2b – дефекты Гепсидина
- Тип 3 – дефекты Рецептора трансферрина
- Тип 4 – дефекты Ферропортина

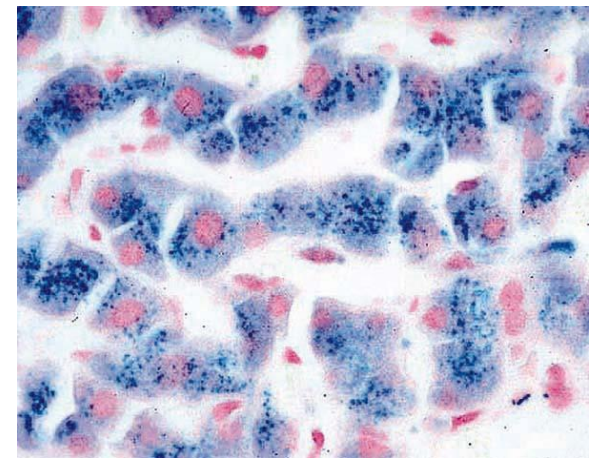
- Оба типа приводят к снижению концентрации гепсидина или связывания гепсидина с ферропортином, что является причиной повышенного выхода железа из макрофагов и энтероцитов в плазму.

Гепсидин в норме и при гемохроматозе



Вторичный (приобретенный) гемохроматоз

- **Вторичный гемохроматоз наблюдается у пациентов с врожденными и приобретенными гемолитическими и мегалобластными анемиями**
- **Находящихся на хроническом гемодиализе**
- **При многократных гемотрансфузиях**
- **Необоснованном лечении препаратами железа**
- **При хронических заболеваниях печени:**
 - **Циррозе, фиброзе**
 - **Гепатитах В и С**
 - **Алкогольной болезни печени**
 - **Неалкагольной жировой болезни печени (НАЖБП)**



Bacon B.R. et al., Diagnosis and Management of Hemochromatosis:
2011 Practice Guideline by the American Association
for the Study of Liver Diseases. HEPATOLOGY, 2011, Vol. 54, No. 1, 328-343

Лабораторные маркеры гемохроматоза

- Одновременное определение сывороточного ферритина (СФ) и коэффициента насыщения трансферрина (НТ)
- СФ и НТ имеют более высокую чувствительность и специфичность, если измеряются вместе, а не по отдельности
- Если НТ >45% при повышенном СФ (>300 мкг/л для мужчин и 200 мкг/л для женщин), то следует провести HFE генотипирование
- При подозрении на заболевания печени – активность АЛТ, АСТ
- Если АЛТ и АСТ повышены и СФ>1000 мкг/л – рекомендуется биопсия печени
- Морфологические критерии:
 - повышенное количество сидеробластов в костном мозге,
 - отложения гемосидерина в тканях (окраска по Перлсу),
 - повышение содержания железа в ткани печени ($\geq 3-7$ мг/г сухого веса, при норме 0,17-1,8 мг/г)

Лабораторные параметры при нарушениях метаболизма железа

| Нарушение метаболизма железа | Ферритин | Трансферрин | НТ (%) | sTfR | Железо в сыворотке/плазме |
|------------------------------|----------|-------------|--------|-------|---------------------------|
| ЖДА | ↓ | ↑ | ↓ | ↓ | ↓ |
| АХЗ | N - ↑ | ↓ | ↓ | N - ↑ | ↓ |
| Гемо-хроматоз | ↑ | ↓ | ↑ | ↓ | ↑ |

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!

АО «ДИАКОН» 142290, Московская область,
г. Пущино, ул. Грузовая, 1 а
Тел.: (495) 980-63-39

Телефон горячей линии: 8-800-2006-339
E-mail: sale@diakonlab.ru
www.diakonlab.ru, www.presepsintest.ru