

## ИЗМЕНЕНИЕ РЕГУЛЯТОРНЫХ МЕХАНИЗМОВ ЭРИТРОПОЭЗА У БОЛЬНЫХ АПЛАСТИЧЕСКОЙ АНЕМИЕЙ ПОД ВЛИЯНИЕМ ГИПОКСИИ

Эралиева М.О., Куменова Д.А.

Кыргызский научный центр гематологии  
Бишкек, Кыргызская Республика

**Резюме.** Данная работа посвящена изучению регуляторов эритропоэза в условиях высокогорной гипоксии у больных апластической анемией. Представленные данные подтверждают, что гипоксическая гипоксия положительно влияет на ряд гематологических показателей, нормализуя эритропоэз (повышение гемоглобина, ЭПО и HIF-1 $\alpha$ ).

**Ключевые слова:** HIF-1 $\alpha$ , гипоксическая гипоксия, эритропоэтин, гепсидин, апластическая анемия.

## БИЙИК ТООЛУУ ГИПОКСИЯНЫН ТААСИРИ АСТЫНДА АПЛАСТИКАЛЫК КАН АЗДУУЛУК МЕНЕН ООРУГАН ООРУЛУУЛАРДЫН ЭРИТРОПОЭЗИНИН РЕГУЛЯЦИЯСЫНЫН ӨЗГӨРҮШҮ

Эралиева М.О., Куменова Д.А.

Кыргыз гематология илимий борбору  
Бишкек, Кыргыз Республикасы

**Корутунду.** Бул макалада апластикалык кан аздуулук менен ооруган оорунулардын эритропоэзинин регуляторлоруна бийик тоодогу гипоксиянын таасири изилденген. Бул изилдөөнүн жыйынтыгында бийик тоодогу гипоксиянын кандын көрсөткүчтөрүнө оң таасирин тийгизгендигин көрсөтөт.

**Негизги сөздөр:** HIF-1 $\alpha$ , гипоксиялык гипоксия, эритропоэтин, гепсидин, апластикалык кан аздуулук.

## CHANGING REGULATORY MECHANISMS OF ERYTHROPOESIS IN PATIENTS WITH APLASTIC ANEMIA UNDER THE INFLUENCE OF HYPOXIA

Eralieva M.O., Kumenova D.A.

Kyrgyz Scientific Center of Hematology  
Bishkek, Kyrgyz Republic

**Resume.** This work is devoted to the study of the regulation of erythropoiesis in patients with aplastic anemia during his stay in the highland hospital, at an altitude of 3200 meters above sea level. The presented data suggest that hypoxic hypoxia positive effect on a number of hematological parameters, normalizing erythropoiesis (increase in hemoglobin, EPO and HIF-1 $\alpha$ ).

**Keywords:** HIF-1 $\alpha$ , hypoxic hypoxia, erythropoietin, hepcidin, aplastic anemia.

Апластическая анемия относится к патологии, в основе которой лежит недостаточность костномозгового кроветворения, а гипоксическая гипоксия ведет к стимуляции кроветворной системы, поэтому представляет интерес к изучению состояния регуляторных механизмов, отвечающих за эритропоэз [1,2].

Характерной особенностью АА является неэффективный эритропоэз, поэтому вполне естественно являются значительные изменения в метаболизме железа. Известно, что метаболизм железа является одним из основных факторов эритропоэза и его регуляция важна

для всего процесса кроветворения. А фактором, стимулирующим эритропоэз, является гипоксия, которая, увеличивает образование тэритропоэтина в почках - основного гормона эритропоэза. Эритропоэтин (ЕРО), в свою очередь, стимулирует пролиферацию и дифференцировку эритроидных клеток в кроветворных тканях [3].

В последние годы уделяется много внимания изучению белков межклеточного взаимодействия, которые являются адаптационными факторами в стрессовых ситуациях. Одним из главных факторов межклеточного взаимодействия является фактор

индуцируемый гипоксией — HIF-1a [5,6,8]. Этот, фактор, обладающий транскрипционной активностью, впервые был идентифицирован Греггом Семензой и его сотрудниками из университета Джона Хопкинса в Балтиморе в 1992 году, как регулятор экспрессии эритропоэтина [8]. HIF-1a считается ведущим транскрипционным регулятором генов млекопитающих, ответственных за реакцию на недостаток кислорода. Он активизируется в физиологически важных местах регуляции кислородных путей, обеспечивая быстрые и адекватные ответы на гипоксический стресс, включает гены, регулирующие процесс ангиогенеза, вазомоторный контроль, энергетический метаболизм, эритропоэза и апоптоз [6,7,8]. При гипоксии HIF-1a стабилизируется, и ДНК эритропоэтина связывается с HIF-1a, что ведет к экспрессии гена эритропоэтина (ЭПО) и, соответственно, к увеличению уровня ЭПО в циркуляции и усилению пролиферации эритроидных предшественников. Это, в свою очередь, ведет к быстрой мобилизации железа из ретикулоэндотелиальных клеток и использованию его для синтеза гемоглобина. В литературе нет данных об изменении HIF-1a при воздействии одновременно анемической и гипоксической гипоксиях у больных с апластической анемией.

## Материал и методы

Больные АА для горноклиматического лечения были подняты в высокогорный стационар (перевал Туя-Ашу, 3200 м над уровнем моря). Исследованию подверглись 24 пациента АА. Для определения эритропоэтина, фактора индуцируемого гипоксией (HIF-1a), гепсидина и др. тестов, проводился забор крови: первый раз – исходный, в гематологическом стационаре г. Бишкек, второй забор на 20-й день пребывания

в высокогорном стационаре, 3-й забор на 40-й день пребывания в горах. Сыворотка в замороженном виде транспортировалась в лабораторию отделения химиотерапии лейкозов ГНЦ РАМН г. Москвы.

Эритропоэтин определялся методом ИФА, используя стандартизированные наборы («Протеиновый Контур», С.-Петербург).

HIF-1a, гепсидин определялись иммуноферментным методом в «сэндвич» варианте, с использованием моноспецифических антисывороток и моноклональных антител против соответствующих антигенов фирмы IDG Int Inc. Конъюгаты моноклональных антител с пероксидазой хрена получались по методу Nasone [4]. Для сенсibilизации применялись моноспецифические антисыворотки, а для получения конъюгата использовали моноклональные антитела против соответствующих антигенов [9].

Для статистической обработки данных применялся парный критерий Стьюдента, а также использовались стандартные методы описательной статистики, дисперсионного и регрессионного анализов.

## Результаты исследования

Как видно из табл. 1., концентрация гепсидина у больных I группы АА и контрольной группы оказались на одном уровне. Во II группе АА уровень гепсидина (ГП) в 1,5 раза повышен, чем в контрольной группе ( $106,9 \pm 12,5$  пг/мл), что является, видимо, следствием неэффективного эритропоэза и/или воспаления, так как гепсидин является медиатором воспаления (табл.1). HIF-1a у больных АА обеих групп изначально повышен в 2,5 раза по сравнению с контрольной группой ( $11,2 \pm 0,8$  пг/мл) ( $p < 0,001$ ), что объясняется влиянием анемической гипоксии у больных АА.

На 3-5 день высокогорной адаптации

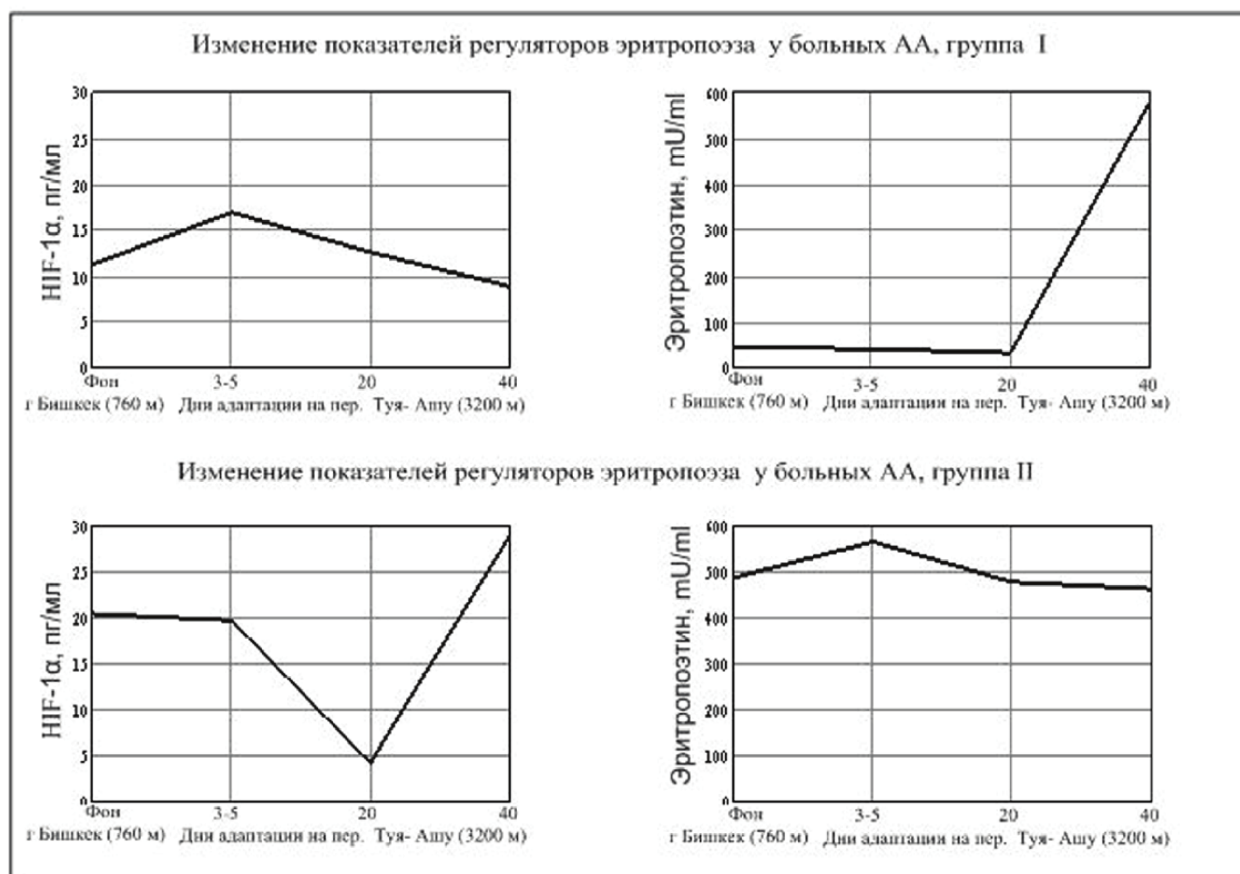
Таблица 1. Показатели регуляторов эритропоэза у больных АА в предгорных условиях (г. Бишкек, 760 м)

Обследуемые группы	Гепсидин пг/мл	ЭПО mU/мл	HIF-1a пг/мл
Контроль	$108,4 \pm 3,5$	$12,3 \pm 1,2$	$4,2 \pm 0,5$
I группа АА	$106,1 \pm 12,2$	$43,6 \pm 8,1^*$	$11,2 \pm 0,8^*$
II группа АА	$440,3 \pm 48,7^*$	$486,8 \pm 58,2^*$	$20,4 \pm 2,4^*$

Примечание:

\* -  $p < 0,001$  у больных по сравнению с контролем

^ -  $p < 0,05$  у больных по сравнению с контролем



**Рис. 1. Изменение показателей HIF-1α и ЭПО у больных апластической анемией до и в процессе ВГКЛ**

концентрация HIF-1α увеличивалась в 1,5 раза ( $16,9 \pm 0,9$  пг/мл). К 40-му дню пребывания больных в горах организм адаптируется к состоянию высокогорной гипоксии и уровень HIF-1α снизился, хотя и остался повышенным по сравнению с контрольной группой ( $8,9 \pm 0,7$  пг/мл). Являясь основным регулятором эритропоэтина, HIF-1α повышает синтез эритропоэтина, а ЭПО, в свою очередь, увеличивает продукцию гемоглобина. Очередность этих процессов хорошо прослеживается у больных АА в данной группе: вначале к 20-му дню повышается HIF-1α, а к 40-му дню, когда он снижается, повышается ЭПО и увеличивается значение гемоглобина, причем рост гемоглобина подтверждается клиническим улучшением состояния больных.

Уровень ЭПО у больных АА на всем протяжении исследования остается высоким, что объясняется анемией, присущей этим больным. В то же время доказано, что у больных АА остается нормальной или даже повышенной способностью стромальных

клеток продуцировать гемопоэтические ростовые факторы (А.Р. Раимжанов, 2002), поэтому состояние высокогорной гипоксии и снижение HIF-1α приводит к увеличению ЭПО, который постепенно повышается и достигает максимального значения к 40-му дню ( $582,4 \pm 73,1$  мU/l).

Как показали наши данные, в условиях низкогогорья у больных АА вне гематологической ремиссии выявлены очень высокие показатели ЭПО и HIF-1α. К 40-му дню пребывания в условиях высокогорной гипоксии уровень эритропоэтина снизился незначительно, что указывает на стимулирующем влиянии высокогорья на эритропоэз. Уровень HIF-1α также снижался, достигая нормальных цифр в 20-й день ( $4,2$  пг/мл), однако к 40-му дню отмечался резкий прирост до  $29$  пг/мл ( $p < 0,001$ ). Возможно, это объясняется тем, что для больных данной группы продолжалось влияние высокогорной и гемической гипоксии из-за нарастающей анемии.



## Литература:

1. Андреева А.П., Замчий А.А. и др. Особенности обмена железа в условиях горного климата. II съезд гематол. и трансфузиол. с. 356.

2. Михайлова Е.А., Савченко В.Г., Арчуадзе Ш.З. Иммунологические аспекты патогенеза апластической анемии // Проблемы гематологии и переливания крови. – 2005. – № 1. – С. 16–25.

3. Раимжанов А.Р. Апластическая анемия и горный климат. – Бишкек, 2002. – 303 с.

4. Цветаева Н.В., Левина А.А. Иммуноферментный метод определения гомоцистеина // Патогенез. – 2005. – № 2. – С. 48–51.

5. Серебровская Т. В. Гипоксия-индуцированный фактор: роль в патофизиологии дыхания (обзор) / Т. В.

Серебровская // Укр. пульмонол. журн. – 2005. – № 3. – С. 77–81.

6. Gaman A., Gaman G., Bold A. Acquired aplastic anemia: correlation between etiology, pathophysiology, bone marrow histology and prognosis factors // Rom. J. Morphol. And Embryol. – 2009. – Vol. 50, N 4. – P. 669–674.

7. Ganz T. Heparin and its role in regulating systemic iron metabolism // Hematology. – 2006. – Vol. 11. – P. 29–35.

8. Peyssonnaud C., Zinkernagel A.S., Schuepbach R.A. et al. Regulation of iron homeostasis by the hypoxia-inducible transcription factors // J. Clin. Invest. – 2007. – Vol. 117, N 7. – P. 1926–1932.

9. E. Nemeth, T. E. Kemm, P. Pikkers et al. Time-course analysis of hepcidin, serum iron and plasma cytokine levels in human injected with LPS. Blood 2003; 206 (5): 1864–1866.

## ОБЩЕСТВЕННЫЙ ФОНД ИМЕНИ САНЖАРБЕКА ДАНИЯРОВА

По итогам конкурса молодых ученых лучшему докладу присуждается **премия имени академика С.Б. Даниярова** с целью повышения престижа занятий научной деятельностью в медицинском сообществе и прежде всего в глазах молодых ученых.

Фонд полагает, что такая форма поощрения будет содействовать:

- Интересу студентов и аспирантов медиков к научной работе
- Установлению высокой планки качества работ начинающих специалистов
- Расширению культурного кругозора молодых ученых и развитию творческого мышления.

**Премия:** Поездка в Москву, столицу Российской Федерации, с посещением культурных центров города: музеев, картинных галерей, театров, исторических мест и архитектурных достопримечательностей.

Победителю также будет вручен Почетный Диплом Фонда Санжарбека Даниярова.

### Процедура выбора кандидата:

Премия будет вручена победителю Конкурса молодых ученых, учрежденного руководством КГМА. Победитель Конкурса будет определен Жюри конкурса в соответствии с Положением о конкурсе, как запланировано Оргкомитетом и руководством КГМА, **без участия Фонда.**