



З. В. Осадчук, Г. Р. Акопян, Г. В. Макух,
І. Б. Ковалів, Н. І. Кіцера, Г. С. Чайковська
ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України», Львів

Сучасна діагностика спадкового гемохроматозу

Мета — провести селективний скринінг хронічної печінкової патології та молекулярно-генетичне дослідження випадку гемохроматозу.

Матеріали та методи. Проведено аналіз клінічних даних та параклінічних показників 45 хворих, переважно дорослого віку, із хронічною гепатобілярною та поєднаною патологією, які перебували на стаціонарному лікуванні у гастроентерологічних відділеннях лікарень м. Львова. Врахування комплексу клініко-параклінічних ознак та генетичних особливостей пацієнтів дало змогу сформувати підгрупу осіб, у яких доцільно було визначити рівень сироваткового заліза для селективного скринінгу. У дослідженні використано такі методи: молекулярно-генетичний, клінічний, клініко-генеалогічний, медико-статистичний. Дослідження мутацій С282У та Н63D гена HFE проводили за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції, рестрикційного аналізу та електрофорезу в агарозному гелі. Отримані сигнали порівнювали з маркерами довжин і детектували розміри отриманих фрагментів.

Результати. У 2 (10%) хворих виявлено мінорну мутацію Н63D гена гемохроматозу у гетерозиготному стані, в 1 (5%) — мінорну мутацію Н63D гена HFE у гомозиготному стані (Н63D/Н63D), що є доказом спадкового гемохроматозу.

Висновки. Основними критеріями відбору в групу підвищеного ризику щодо гемохроматозу є хронічна печінкова патологія, відповідна спадкова обтяженість у родині пробанда, певні клініко-параклінічні зміни та підвищений рівень сироваткового заліза у крові. Впровадження тестування генетичних маркерів схильності до спадкової патології людини, зокрема до спадкового гемохроматозу, є перспективним напрямом, який необхідно розвивати.

Ключові слова: гемохроматоз, молекулярно-генетичні дослідження, рідкісні захворювання, спадкові хвороби, хронічна печінкова патологія.

З огляду на значну зацікавленість лікарів різних медичних спеціальностей проблемою гемохроматозу актуальним завданням є удосконалення діагностики цього спадкового захворювання, що допоможе фахівцям якомога раніше виявляти цю рідкісну патологію з метою профілактики її тяжких наслідків.

Гемохроматоз (синоніми: пігментний цироз, бронзовий діабет, сидерофілія, синдром Труазьє — Ано-Шоффара) — спадкове захворювання, яке характеризується порушенням обміну залізовмісних пігментів, підвищеним усмоктуванням у кишечнику заліза і накопиченням його в тканинах і органах з розвитком органічних змін [3].

Найчастіше гемохроматоз трапляється в осіб чоловічої статі, рідше — у жінок, що пояснюється

фізіологічною втратою заліза при менструації. Наслідки прискореної кишкової абсорбції заліза та його накопичення у різних тканинах зазвичай клінічно виявляються у зрілому віці [2].

За етіологією гемохроматоз можна класифікувати на первинний (розлад, успадкований або генетично детермінований) та вторинний (захворювання, набуте протягом життя). У чоловіків клінічні вияви з'являються переважно у віці 30—50 років, у жінок — після 50 років. У популяції домінує мало- та безсимптомний перебіг захворювання. Якщо діагноз вчасно не встановлено, то залізо нагромаджується в тканинах і органах, що може призвести до печінкової недостатності, панкреопатії, діабету, порушення серцевого ритму, артропатій, імпотенції, ранньої менопаузи, недостатності щитоподібної залози [3].

У дітей здебільшого діагностують первинний спадковий гемохроматоз. Вторинний гемохро-

матоз може виникати на тлі інтенсивної терапії препаратами заліза та після численних гемотрансфузій [5, 6].

Найчастіше первинний гемохроматоз пов'язаний із двома мутаціями в гені HFE — C282Y та H63D. Ген HFE кодує протеїн, подібний за будовою до молекул I класу головного комплексу гістосумісності, який взаємодіє з рецептором трансферину і регулює всмоктування заліза у петлях тонкого кишечника [5].

Рідше причини захворювання пов'язані з мутаціями в інших генах, згрупованими у своєрідну категорію «некласичного спадкового гемохроматозу», які ще називають «HFE-непов'язаний спадковий гемохроматоз» або «не HFE-гемохроматоз» [1, 5]. До них належать гемохроматоз 1 типу — «класичний», типу 2A — гемохроматоз неповнолітніх, типу 2B — гемохроматоз підлітків, гемохроматоз типу 3 і 4 (африканська форма), неонатальний гемохроматоз, ацерулоплазмінемія, вроджена атрансферинемія та GRACILE-синдром (дуже рідкісний). Більшість типів спадкового гемохроматозу успадковуються за автосомно-рецесивним типом і лише 4-й тип — за автосомно-домінантним [7].

За клінічним перебігом гемохроматоз здебільшого поділяють на такі форми:

- 1) латентну;
- 2) з незначними (неспецифічними) виявами;
- 3) з тяжким перебігом і фатальними наслідками (у дорослих — у давньому випадку, у дітей — «неонатальний гемохроматоз»).

За відсутності специфічних клінічних виявів при підозрі на гемохроматоз хворому необхідно провести первинні дослідження:

- 1) збір детального сімейного анамнезу щодо різної патології печінки у родичів (ідіопатичний гепатит, цироз та рак), особливо у поєднанні з високим рівнем (до 40 %) смертності цих хворих у віці до 50 років;

- 2) лабораторні тести для визначення рівня заліза в організмі. Визначення рівня феритину — це досить дешевий і легкодоступний спосіб перевірки, який здійснюють рутинним інвазивним методом. Однак основною проблемою при використанні цього методу як індикатора накопичення заліза є те, що рівень заліза за інших захворювань печінки, нирок та раку може бути підвищеним без безпосереднього зв'язку з гемохроматозом.

Показовим лабораторним критерієм перевантаження залізом організму є сатурація трансферину до 40%. У дітей межовий рівень феритину для підозри про перевантаження залізом досі точно не визначений (є дані про референтні зна-

чення феритину для хлопців і дівчат різного віку в діапазоні від 20 до 75 нг/мл при сатурації трансферину від 20 до 40 %), тоді як для жінок він становить 200 нг/мл, для чоловіків — 300 нг/мл;

- 3) магнітно-резонансну томографію — для виявлення підвищеного депонування заліза в печінці;

- 4) біопсію з гістологією тканини печінки (не показова у дітей, тому що до 14 років печінковий індекс заліза не інформативний, за винятком хвороби Вільсона);

- 5) молекулярно-генетичне дослідження — найточніший метод для діагностики гемохроматозу [5].

Аналіз гена HFE (за допомогою генетичного тестування) дає змогу підтвердити клінічний діагноз гемохроматозу у дітей чи дорослих на доклінічній (латентній) стадії захворювання, особливо якщо відомі випадки захворювання серед членів сім'ї. Досліджувані алелі гена HFE у 80 % випадків указують на наявність гемохроматозу у пацієнтів, проте негативний результат щодо наявності мутацій у гені HFE не виключає захворювання на гемохроматоз, тому, проводячи генетичні дослідження, бажано також паралельно оцінити інші зазначені показники.

Наявність мутації C282Y гена HFE призводить до тяжких наслідків, а генотип C282Y/C282Y має найбільшу пенетрантність. Однак у більшості носіїв цього генотипу хвороба не маніфестує. Особини генотипів C282Y/H63D і H63D/H63D також мають підвищений ризик нагромадження заліза, однак хвороба маніфестує менше ніж у 1%. Таким чином, нарізно генетичні тести на гемохроматоз швидше визначають можливість захворювання, ніж саме захворювання [4].

У молодому віці гемохроматоз здебільшого має безсимптомний перебіг (латентну форму), хоча можуть траплятися і неспецифічні клінічні вияви:

- 1) загальна слабкість, швидка втомлюваність і сонливість;
- 2) втрата маси тіла та астенія;
- 3) часті носові кровотечі;
- 4) набряки і біль у суглобах;
- 5) гіперпігментація шкіри, слизових оболонок і сітківки;
- 6) аритмія, кардіоміопатія, вияви серцевої недостатності;
- 7) біль у животі, панкреатопатія, цукровий діабет;
- 8) зниження функції щитоподібної залози;
- 9) патологія нервової системи, алопеція [4, 5].

Для діагностики гемохроматозу необхідно провести такі дослідження:

- 1) клінічний аналіз крові (гемоглобін при гемохроматозі — в межах норми);

2) біохімічні дослідження функції печінки та підшлункової залози, серцево-судинної системи, опорно-рухового апарату, функції щитоподібної залози (рівень печінкових ферментів (АЛТ, АСТ), лужної фосфатази (ЛФ), протеїнограма, коагулограма, ліпідні фракції, рівень цукру в крові, гострофазові показники, рівень гормонів щитоподібної залози (ТТГ, вільний Т4) та ін.);

3) УЗ-дослідження печінки, підшлункової залози, серця, щитоподібної залози;

4) електрокардіограма (ЕКГ);

5) рентгенографія уражених суглобів та грудної клітки;

6) консультації вузьких спеціалістів (гастроентеролога, кардіолога, ендокринолога, ревматолога, невролога).

Усі додаткові лабораторні та інструментальні дослідження залежать від перебігу і симптомів захворювання [4, 5].

За відсутності ранньої діагностики та адекватного лікування захворювання може призвести до тяжких клінічних виявів та ускладнень — цирозу печінки, серцевої недостатності, діабету, артритів та гепатоцелюлярної карциноми [1, 5].

Нині ефективна профілактика розвитку захворювання та його ускладнень ґрунтується на даних сімейного анамнезу та молекулярно-генетичного дослідження хворого і його родичів [1, 5].

Мета роботи — провести селективний скринінг хронічної печінкової патології та молекулярно-генетичні дослідження випадку гемохроматозу.

Матеріали та методи

Протягом 2012 р. та першого кварталу 2013 р. проведено аналіз клінічних даних та параклінічних показників 45 хворих, переважно дорослого віку, з хронічною гепатобілярною та поєднаною патологією, які перебували на стаціонарному лікуванні у гастроентерологічних відділеннях лікарень м. Львова. Всім пацієнтам проведено клінічний огляд, лабораторні, інструментальні дослідження. Під час аналізу родоводів звертали увагу на наявність хронічного гепатиту, цирозу печінки та онкологічної патології печінки у родичів.

Дослідження мутацій С282У та Н63Д гена HFE проводили за допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції, рестрикційного аналізу та електрофорезу в агарозному гелі. Отримані сигнали порівнювали з маркерами довжин і визначали розміри отриманих фрагментів.

Отримані результати обробляли статистичними методами.

Результати та обговорення

Найчастіше у пацієнтів реєстрували скарги на загальну слабкість ($q = 0,80$), біль у суглобах ($q = 0,73$), часті болі в животі ($q = 0,71$), головний біль ($q = 0,61$) і підвищену втомлюваність ($q = 0,57$).

Проведено поглиблений клініко-параклінічний аналіз усіх випадків гепатобілярної та поєднаної патології. При клінічному огляді хворих найчастіше виявляли збільшення розміру печінки під час пальпації ($q = 0,88$), пігментацію шкірних покривів ($q = 0,65$), збільшення розміру селезінки ($q = 0,60$), щитоподібної залози при пальпації ($q = 0,53$).

Аналіз даних УЗД виявив, що у хворих переважали ехографічні ознаки збільшення розмірів та/або структурні зміни печінки ($q = 0,90$), патологічні зміни жовчного міхура ($q = 0,82$) та гіперплазія та/або зміна структури щитоподібної залози ($q = 0,61$). Лабораторні дані вказували на підвищення рівня ЛФ ($q = 0,73$), АЛТ, АСТ ($q = 0,72$), відхилення даних коагулограми ($q = 0,70$). Разом зі змінами на ЕКГ ($q = 0,63$) і функціональних показників щитоподібної залози ($q = 0,57$) це свідчило про наявність хронічної печінкової патології і тиропатій.

Проведення клініко-генеалогічних досліджень ґрунтувалося на ретельному зборі анамнезу з урахуванням наявності у родині випадків захворювань печінки (хронічної печінкової недостатності, особливо до кінця не верифікованих гепатитів, цирозів та онкологічної патології печінки), артритів, цукрового діабету, захворювань серцево-судинної системи та патології щитоподібної залози.

У групі обстежених осіб обтяжений сімейний анамнез за патологією печінки відзначено у 47 % обстежених хворих, у 18 % — цироз печінки. Патологія щитоподібної залози мала місце у 42 % родичів різного ступеня спорідненості. Серцево-судинні захворювання були характерними для 31 % родичів, захворювання опорно-рухового апарату — для 29 %, цукровий діабет — для 7 %.

Проаналізувавши клініко-параклінічні ознаки та генетичні особливості родоводів хворих, ми сформували підгрупу пацієнтів (19 (42 %)), яким було доцільно провести визначення рівня сироваткового заліза для селективного скринінгу. Підвищена концентрація сироваткового заліза давала підставу з високою ймовірністю очікувати позитивних результатів молекулярно-генетичних досліджень гемохроматозу.

У 5 (26 %) пацієнтів цієї підгрупи рівень сироваткового заліза перевищував норму. У 2 (10 %) хворих за допомогою молекулярно-генетичної детекції виявлено мінорну мутацію

H63D гена гемохроматозу HFE у гетерозиготному стані. В 1 (5%) випадку зафіксовано мінорну мутацію H63D гена HFE у гомозиготному стані (H63D/H63D), що є беззаперечним доказом спадкового гемохроматозу. Опис цього випадку наведено нижче.

Хвора Т. А., 1996 року народження, проживає у м. Яворів Львівської області. Госпіталізована у перше відділення Львівської обласної дитячої клінічної лікарні зі скаргами на періодичні слабкість, нудоту, поганий апетит, тяжкість у ділянці правого підребер'я. Хворіє протягом двох років. З подібними скаргами неодноразово зверталася за місцем проживання та перебувала на стаціонарному лікуванні у гастроентерологічному відділенні Яворівської районної лікарні, де їй встановлено діагноз: хронічний гастродуоденіт з підвищеною кислотоутворювальною функцією. Призначене згідно з протоколом лікування давало ефект протягом 2–3 міс.

Об'єктивно у хворої відзначено незначну блідість шкірних покривів, темні кола під очима, жовто-білий наліт на язиці, болючість під час пальпації у правому підребер'ї. Печінка виступала нижче за край реберної дуги на 2 см. Інших клінічних особливостей у пацієнтки не виявлено. У лабораторних та біохімічних показниках крові (АЛТ, АСТ, ЛФ, ГГТ, білірубін фракційно, протеїнограма, іонограма, креатинін, сечовина, ревмопроби, холестерин) патологічних відхилень не зафіксовано. При УЗ-обстеженні внутрішніх органів виявлено незначне збільшення розміру печінки (+1 см) та посилення ехо-сигналів від її паренхіми, ознаки збільшення розміру жовчного міхура та застою жовчі по задній стінці. Розмір та структура щитоподібної залози — без особливостей. ФГДС: еритематозна гастродуоденопатія, дуоденогастральний рефлюкс; рН-метрія: підвищена кислотоутворювальна функція. ЕКГ: без особливостей. Виключено ймовірність інфікування пацієнтки вірусними гепатитами В та С.

На підставі результатів обстежень підтверджено попередні діагнози: хронічний гастродуоденіт з підвищеною кислотоутворювальною функцією, дуоденогастральний рефлюкс.

Сімейний анамнез хворої обтяжений щодо гепатобілярної патології. За допомогою клініко-генеалогічного аналізу у родичів різного ступеня спорідненості (у батька та діда) виявлено випадки цирозу та раку печінки. На підставі комплексу проведених досліджень пацієнтку зараховано до групи ризику щодо гемохроматозу і проведено селективний скринінг — визначення рівня сироваткового заліза у крові. Цей показник стано-

вив 29 ммоль/л, що перевищувало норму (для жінок — 10–20 ммоль/л). Сатурація трансферину становила 38%.

Підвищений вміст сироваткового заліза та межовий рівень сатурації трансферину в крові був підставою для проведення молекулярно-генетичного аналізу мутацій С282У та H63D гена гемохроматозу HFE. У результаті молекулярно-генетичної детекції у пацієнтки виявлено мінорну мутацію H63D гена гемохроматозу у гомозиготному стані (H63D/H63D).

З огляду на молекулярно-генетичне підтвердження спадкового гемохроматозу, гастроентерологом було призначено відповідне лікування: дієта з обмеженням продуктів, які містять залізо і багаті на білок, регулярні флеботомії (раз на тиждень) та препарат «Десферал», який зв'язує залізо і виводить його з організму. Завдяки терапії стан хворої значно поліпшився: контрольний рівень сироваткового заліза знизився до нормальних показників (17 ммоль/л). Хвора стала значно активнішою, зникли ознаки інтоксикації, біль у правій підреберній ділянці.

Диспансерний нагляд рекомендовано здійснювати протягом життя. Двічі на рік хвору мають оглядати терапевт, гастроентеролог, генетик та інші спеціалісти. Обсяг контрольно-діагностичних обстежень (визначення рівня сироваткового заліза та сатурації трансферину — 1 раз на рік або частіше після флеботомії). Інші зазначені дослідження проводити залежно від перебігу та клінічних виявів захворювання. Молекулярно-генетичне обстеження проводять 1 раз у житті.

Наведені дані підтвердили важливість застосування розроблених критеріїв з метою проведення селективного скринінгу пацієнтів для молекулярно-генетичної детекції мутацій С282У та H63D гена гемохроматозу HFE.

Серед відібраних з основної групи (45 пацієнтів) за допомогою селективного скринінгу випадків у 2 (10%) хворих за допомогою молекулярно-генетичної детекції виявлено мінорну мутацію H63D гена гемохроматозу у гетерозиготному стані, а в 1 (5%) випадку — мінорну мутацію H63D гена HFE у гомозиготному стані (H63D/H63D), що є вагомим доказом спадкового гемохроматозу.

Висновки

Проведені дослідження виявили, що основними критеріями відбору до групи підвищеного ризику щодо гемохроматозу є хронічна печінкова патологія у хворого, відповідна спадкова обтяженість у родині пробанда, певні клініко-па-

раклінічні зміни та підвищений рівень сироваткового заліза у крові хворих.

Тестування генетичних маркерів схильності до спадкової патології людини, зокрема до спад-

кового гемохроматозу, є перспективним напрямом, який необхідно продовжувати розвивати і впроваджувати у клінічну практику гастроентерологічних відділень.

Список літератури

1. Макух Г.В., Акоюян Г.Р., Білевич О.Б., Осадчук З.В. Раннє виявлення осіб високого генетичного ризику щодо розвитку спадкового гемохроматозу, гепатоцелюлярної карциноми та цирозу печінки шляхом молекулярно-генетичного аналізу мутацій C282Y і H63D гена HFE. Інформ. лист № 265-2011. — К., 2012. — 4 с.
2. Осадчук З.В., Акоюян Г.Р., Білевич О.Б. та ін. Клініко-генетичні дослідження випадків хронічної печінкової патології з ризиком розвитку спадкового гемохроматозу // Сучасна гастроентерол. — 2011. — № 4. — С. 20—25.
3. Энциклопедия семейного врача / Под ред. А.С. Ефимова. — К.: Здоров'я, 2005. — Кн. 2. — С. 68—177.
4. Beutler E., Felitti V.J., Koziol J.A. et al. Penetrance of 845GA (C282Y) HFE hereditary haemochromatosis mutation in the USA // *Lancet*. — 2008. — Vol. 359. — P. 211—218.
5. Burnett C., Milligan D., Marcus R., International Consensus Conference on Hemochromatosis of British Society for Haematology (European Association for the Study of the Liver). — Sorrento, 1999.
6. El-Serag H.B., Inadomi J.M., Kowdley K.V. Screening for hereditary hemochromatosis in siblings and children of affected patients. A cost-effectiveness analysis // *Ann. Intern. Med.* — 2009. — Vol. 152. — P. 261—269.
7. Hanson E., Imperatore G., Burke W. HFE gene and hereditary hemochromatosis: a HuGE review // *Am. J. Epidemiol.* — 2009. — Vol. 158. — P. 293—296.

З. В. Осадчук, Г. Р. Акоюян, Г. В. Макух, И. Б. Ковалив, Н. И. Кицера, Г. С. Чайковская
ГУ «Институт наследственной патологии НАМН Украины», Львов

Современная диагностика наследственного гемохроматоза

Цель — провести селективный скрининг хронической печеночной патологии и молекулярно-генетическое исследование случая гемохроматоза.

Материалы и методы. Проведен анализ клинических данных и параклинических показателей 45 больных, преимущественно взрослого возраста, с хронической гепатобилиарной и сочетанной патологией, которые находились на стационарном лечении в гастроэнтерологических отделениях больниц г. Львова. Учет комплекса клинико-параклинических признаков и генетических особенностей пациентов позволил сформировать подгруппу лиц, у которых целесообразно было определить уровень сывороточного железа для селективного скрининга. В исследовании использованы такие методы: молекулярно-генетический, клинический, клинико-генеалогический, медико-статистический. Исследования мутаций C282Y и H63D гена HFE проводили с помощью метода полимеразной цепной реакции, рестрикционного анализа и электрофореза в агарозном геле. Полученные сигналы сравнивали с маркерами длин и определяли размер полученных фрагментов.

Результаты. У 2 (10 %) больных выявили минорную мутацию H63D гена гемохроматоза в гетерозиготном состоянии, у 1 (5 %) — минорную мутацию H63D гена HFE в гомозиготном состоянии (H63D/H63D), что является доказательством наследственного гемохроматоза.

Выводы. Основными критериями отбора в группу повышенного риска относительно гемохроматоза являются хроническая печеночная патология, соответствующая наследственная отягощенность в семье пробанда, определенные клинико-параклинические изменения и повышенный уровень сывороточного железа в крови. Внедрение тестирования генетических маркеров склонности к наследственной патологии человека, в частности к наследственному гемохроматозу, является перспективным направлением, которое необходимо развивать.

Ключевые слова: гемохроматоз, молекулярно-генетические исследования, редкие заболевания, наследственные болезни, хроническая печеночная патология.

Z. V. Osadchuk, G. R. Akopian, G. V. Makukh, I. B. Kovaliy, N. I. Kitsera, G. S. Chaykovska
SI «Institute of Hereditary Pathology of the NAMS of Ukraine», Lviv

Timely diagnosis of hereditary hemochromatosis

Objective — to perform the selective screening of chronic liver pathology and molecular and genetic investigation of a hemochromatosis case.

Materials and methods. The analysis has been performed for the clinical data and paraclinical indices in 45 patients of predominantly adult age, with the chronic hepatobiliary and combined pathology, who were hospitalized in the gastro-enterological wards of the hospitals of Lviv city. The taking into account of the complex of clinical and paraclinical signs and genetic peculiarities of the patients enabled to form a subgroup of subjects, for whom the measurements of the serum iron for the selective screening. In the study the following methods have been used: molecular and genetic, clinical, clinical and genealogical, medical statistical. The investigation of C282Y and H63D mutations of HFE gene was conducted with the use of polymerase chain reaction, restriction analysis and electrophoresis agarose gel. The obtained signals were compared with the markers of lengths and determined the size of the obtained fragments.

Results. The minor H63D mutation of hemochromatosis gene in heterozygous state was revealed in 2 (10 %) of patients, in 1 subject (5 %) it was minor H63D mutation of HFE gene in homozygous state (H63D/H63D), that proves the hemochromatosis heredity.

Conclusions. The basis selection criteria in the group of the increased hemochromatosis risk are the chronic liver pathology, corresponding hereditary loading in the family of a proband, definite clinical and paraclinical alterations and the increased serum iron levels. The introduction of the genetic markers tests to define the predisposition to the hereditary pathology, in particular to the hereditary hemochromatosis, is the perspective approach which should be developed.

Key words: hemochromatosis, molecular and genetic investigations, orphan diseases, hereditary diseases, chronic liver pathology.

Контактна інформація

Осадчук Зоряна Василівна, к. мед. н., ст. наук. співр.
79000, м. Львів, МСП-169, вул. Лисенка, 31а
Тел. (322) 76-54-99, факс (322) 75-38-44. E-mail: nkitsera@gmail.com

Стаття надійшла до редакції 27 травня 2013 р.