

© Аскерова Т. А., Гасанзаде Н. Ч.

УДК 61:577.132:03.31.

Аскерова Т. А., Гасанзаде Н. Ч.

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА ЖЕЛЕЗА У БОЛЬНЫХ С НАСЛЕДСТВЕННЫМ ГЕМОХРОМАТОЗОМ

Азербайджанский Медицинский Университет (г. Баку, Азербайджан)

nauchnayastatya@yandex.ru

Работа является фрагментом НИР кафедры АМУ «Биохимические особенности нарушения обмена железа при бета- талассемии, ферментопатии и структурно-аномальных гемоглобинов», государственный регистрационный номер 01114089.

Вступление. За последние годы в разных странах установлено, что наследственный гемохроматоз (НГХ), являющийся наиболее частой болезнью человека, широко распространенной в разных популяциях человека и нередко, будучи нелеченым, приводит к серьезным осложнениям и летальным исходам. Представляет научный и практический интерес исследования обмена железа в различных возрастных периодах у больных НГХ.

Область распространения НГХ на земном шаре весьма обширна, наиболее часто встречается в Америке, Австралии, в европейских, в некоторых африканских и азиатских странах. Частота гена НГХ в гетерозиготном состоянии в европейской популяции составляет 10%. По данным этих авторов частота мутаций С282 и Н63D для НГХ среди кавказцев составляет от 1% до 24% соответственно [1,3,4].

НГХ является тяжелым заболеванием, вызываемым генетически запрограммированным увеличенным всасыванием железа в кишечнике, что приводит к нагрузке организма железом. Железо откладывается главным образом в печени, поджелудочной железе, сердце с дальнейшим повреждением клеток данных органов и разрастанием в них соединительной ткани. Это ведет к развитию цирроза,

фиброза печени с последующим развитием злокачественной опухоли печени, сахарному диабету и другим эндокринным заболеваниями, меланодермии, миокардиопатии [5,6,7,8].

Следует подчеркнуть, что, несмотря на представительность публикаций, касающихся исследования различных аспектов заболевания среди больных, вопросы возрастных особенностей диагностических тестов и в связи с этим генетические особенности болезни освещены сравнительно слабо [2,9,10]. Все эти данные приобретают важное теоретическое значение для объяснения высокого уровня распространения НГХ среди населения Азербайджанской Республики, определения наиболее точных методов диагностики, продолжительности, эффективности и применения их для выяснения возрастных особенностей обмена железа.

Таблица.

Показатели обмена железа у новорожденных с НГХ (M±m, min – max)

Показатели	Новорожденные		
	Контроль (n=20)	Гетерозиготы (n=14)	Гомозиготы (n=6)
Нб, гл	195,0 ± 1,2 (120 – 205)	165,0 ± 2,5 (110 – 180); p < 0,01	197,0 ± 0,5 (40 – 115); p < 0,01
СЖ, мкмоль/л	20,25 ± 1,19 (10,8 – 28,3)	32,24 ± 0,34 (30,1 – 34,4); p < 0,01	41,72 ± 1,02 (38,1 – 44,6); p < 0,01
ОЖСС, мкмоль/л	37,05 ± 4,13 (19,0 – 86,4)	79,97 ± 6,93 (42,4 – 128,9); p < 0,01	44,62 ± 2,84 (34,5 – 52,0); н/д
ЛЖСС, мкмоль/л	16,78 ± 3,64 (4,3 – 61,8)	47,58 ± 6,76 (10,8 – 94,9); p < 0,01	25,4 ± 0,64 (23,4 – 27,4); p < 0,05
КНТ, %	44,76 ± 4,32 (26,4 – 74,3)	61,41 ± 4,2 (22,3 – 82,8); p < 0,05	111,87 ± 3,33 (95,5 – 117,0); p < 0,01
Трансферрин, мг/100	161,4 ± 3,77 (135 – 186)	276,4 ± 1,0 (269,9 – 284,9); p < 0,01	165,2 ± 24,43 (370,5 – 559,0); p < 0,01
Ферритин, мкг/мл	96,12 ± 0,32 (93,9 – 99,5)	181,4 ± 0,47 (178,2 – 184,2); p < 0,01	280,7 ± 0,89 (278 – 284); p < 0,01

Примечание: p – статистическая достоверность показателей по сравнению с контролем.

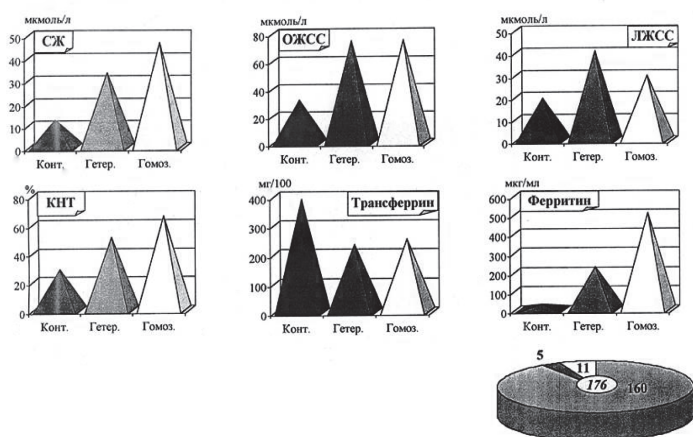


Рис.1 Диаграмма основных показателей обмена железа по сравнению с контрольной группой у детей школьного возраста.

Цель исследования — изучить возрастные особенности обмена железа среди больных НГХ на основании современных биохимических и генетических методов.

Объект и методы исследования. Нами исследовано 245 больных с НГХ. Из них 200 чел. были новорожденными, 16 детей в возрасте от 6-12 лет и 29 лиц взрослых. С целью поиска удобных методических подходов нами использован комплекс клинично-диагностических приемов, биохимические, иммунохимические методы исследования. Из биохимических методов использовали определение сывороточного железа (СЖ), общая железосвязывающая способность сыворотки (ОЖСС), латентная железосвязывающая способность сыворотки (ЛЖСС), коэффициент насыщения трансферрина (КНТ) по Генри. Скринирующий тест — для выявления железа (окисленные формы) была использована реакция на Берлинскую лазурь [10]. Иммуноферментные методы — для определения общего количества сывороточного трансферрина и ферритина (СТ и СФ) [8]. Аналитическое изоэлектрофокусирование (ИЭФ) различных типов трансферрина в полиакриламидно-амфолиновых пластинках с pH 4-6 на приборе Multiphor 2117 с последующим

количественным определением гелей лазерным денситометром 2202 (LKB, Швеция) [1,3]. Антигенное тестирование по HLA проводилось по методу Тераски с помощью набора тестовых анти-HLA сывороток. У нескольких больных проведена пункционная биопсия печени с последующим морфологическим наследованием.

Результаты исследования и их обсуждение. Исследование биохимических показателей в зависимости от возраста может дать ценную информацию для постановки диагноза, прогностической оценки и контроля эффективности проводимых лечебных мероприятий. Наиболее значимой является проблема раннего распознавания НГХ и прогнозирование развития

этой болезни у детей с целью проведения в дальнейшем эффективной терапии. Для выявления НГХ в пуповинной крови у 200 новорожденных исследовали показатели обмена железа. У 20 (10%) новорожденных (11 мальчиков и 9 девочек) определили высокий уровень СЖ и других показателей крови (**табл.**).

Полученные результаты позволили нам отнести эту группу новорожденных к группе риска. По содержанию железа в крови новорожденных разделили на гетерозиготных и гомозиготных носителей НГХ.

В группе новорожденных с предварительным диагнозом гетерозиготное носительство НГХ (14 новорожденных) концентрация СЖ колебалась от 30,1 до 34,4 - $32,24 \pm 0,34$ (норма $20,25 \pm 1,19$ мкмоль/л). КНТ в этой группе в среднем составил $61,41 \pm 4,2\%$ (норма $44,76 \pm 4,32\%$). Сравнение показателей СЖ и КНТ у детей с гетерозиготным носительством НГХ и контрольной группой показало, что уровень СЖ у гетерозигот в 1,5 раза выше по сравнению с контрольной группой, а КНТ выше в 1,3 раза. В крови новорожденных с гомозиготным носительством НГХ (6 новорожденных) содержание СЖ в среднем выявлено $41,72 \pm 1,02$ мкмоль/л.

В этой группе содержание железа превышало в 2,1 раза по сравнению с контрольной группой. Уровень КНТ у детей с гомозиготным носительством НГХ в среднем был $111,87 \pm 3,33\%$ (норма $44,76 \pm 4,32\%$). Содержание КНТ было выявлено в 2,1 раза выше, чем у здоровых новорожденных.

В работе представлены материалы наблюдения над 176 детьми возраста (100 мальчиков и 76 девочек), среди которых у 16 (9,0%) выявлено носительство НГХ. Из них 5 были гомозиготными и 11

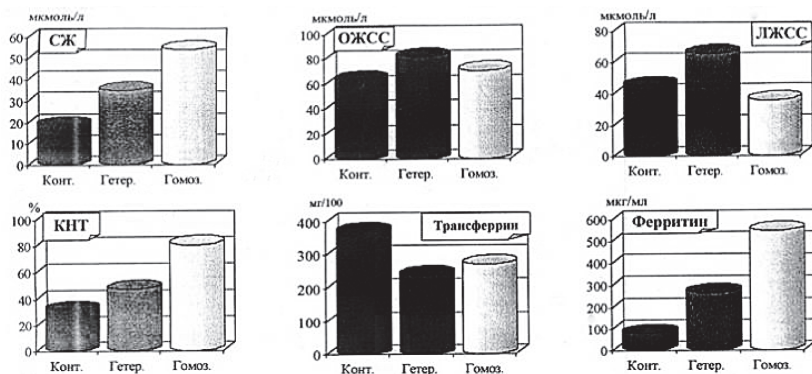


Рис.2 Диаграмма биохимических показателей железа больных с НГХ.

гетерозиготними носителями захворювання (рис. 1). Отримані результати показали, що найбільше виражені зміни вмісту білків, відповідальних за метаболізм заліза у хворих, гомозиготних по гену НГХ. Особливо підвищений рівень ферритину (17,8%), що видимо, пов'язано з накопиченням заліза з віком і підвищеною його абсорбцією в шлунково-кишковому тракті починаючи з періоду новонародженості. Велике значення при накопиченні заліза в організмі має також трансферин. Синтез його при надлишку заліза в організмі не збільшується, а навпаки, трохи знижується через функціональні порушення печінки, що веде до значительного збільшення КНТ, а також до неспецифічного зв'язування заліза з цим білком, і к ще більшому сидерозу печінки і інших органів.

У гомозиготних дітей спостерігали збільшення СЖ – $46,58 \pm 2,76$ ммоль/л (норма $12,01 \pm 0,32$ ммоль/л) КНТ виявили $74,76 \pm 5,75\%$ (норма $28,59 \pm 0,22\%$). У гомозиготних хворих СЖ було збільшено в 3,9 рази, а КНТ в 2,6 рази. У гетерозиготних дітей біохімічні показники обміну заліза відрізнялися від контрольної групи. Кількість СЖ було підвищено в 3 рази, а КНТ в 2 рази. В цій групі хворих визначили підвищений рівень сировоточного ферритину $222,7 \pm 0,6$ мкг/мл при нормі – $28,5 \pm 0,37$ мкг/мл. Діагностика гетерозиготного носітелства НГХ у цих дітей стала можливою тільки тому, що один із батьків у них був носітелем НГХ. Одиночним походженням захворювання у цих дітей свідчили результати дослідження найближчих родичів з проведенням НЛА типізації і генеалогічне дослідження

сімей в 3-х поколіннях. У спостережуваних хворих дітей серед родичів виявлені гаплотипи $A_3 B_7$ (в 6 випадках), і A_{11}, B_{15} (в 4 випадках), що підтверджують асоціацію НГХ з специфічними антигенами НЛА.

Серед досліджуваних також виявлено 29 хворих гомозиготних і гетерозиготних по гену НГХ в віці від 23 до 63 років (17 жінок і 12 чоловіків). Контрольну групу склали 20 здорових людей (8 жінок і 12 чоловіків, середній вік – 45 років).

Результати дослідження показників обміну заліза у хворих НГХ показали, що рівень СЖ був підвищений і коливався від 38,4 до $81,36$ мкмоль/л. КНТ незмінно перевищував 60%, часто досягаючи 157%. Рівень запасного заліза СФ – $548,4 \pm 76,94$ мкг/л в окремих випадках коливався від 92 до $1100,5$ мкг/л. Рівень сировоточного трансферину зрівнявся $271 \pm 4,2$ мкг/100, при нормі $369 \pm 20,5$ мкг/100 (рис. 2).

Таким чином, нами розроблено комплекс методических прийомів для дослідження обміну заліза в різних вікових періодах.

Висновок. Найбільш інформативним диференціально-діагностичним критерієм НГХ є коефіцієнт насичення трансферину (КНТ) який визначає порушення обміну заліза у осіб з точністю до 95%. Отримані дані обміну заліза для вікових груп допоможуть лікарям точно для розпізнавання різних генетических форм НГХ і призначення лікування захворювання.

Перспективи дальніших досліджень. Будуть досліджуватися порушення обміну заліза при інших спадкових захворюваннях крові характерних для населення Азербайджанської Республіки.

Література

1. Аскерова Т.А. Сімейні випадки спадкового гемохроматоза / Т.А. Аскерова, В.І. Ягубова, С.А. Джавадов // International Journal of Immunorehabilitation. — May 1999. — № 12. — С. 131.
2. Bardon-Jacqnet E. Diagnostic evaluation of hereditary hemochromatosis (HFE and non HFE) / E. Bardon-Jacqnet, P. Brissot // Hematol Oncol Clin North Am 2014. — Anj 28 (4). — С. 625-635.
3. Brandhaugen D.J. Iron overload in cirrhosis HFE genotypes and outcome after liver transplantation / D.J. Brandhaugen, W. Alvarez, T.M. Thernean [et al.] // Hepatology. — 2000. — Feb, v. 31. — № 2. — С. 456-460.
4. Fleming R.E. Transferrin receptor 2 continued expression in mouse liver in the face of iron overload and in hereditary haemochromatosis / R.E. Fleming, M.C. Migas, C.C. Holden [et al.] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 2000. — Feb. 29, v. 97, № 5. — С. 2214-2219.
5. Fronchini M. A prillig safety and efficacy of subcutaneous bolus injection of desferrioxamine in iron overload patients with non overload / M. Fronchini, G. Qandini, M. De Gironcoli [et al.] // Blood. — 2000. — May, v. 95, № 9. — С. 2776-2779.
6. Heissat S. Neonatal Hemochromatosis: Diagnostic Work-Up Based on a Series of 56 Cases of Fetal Death and Neonatal Liver Failure / S. Heissat // January 2015. — v. 166, Issue 1. — С. 66-73.
7. Jacobs P. Hemochromatosis: Phenotype to genotype or man to molecules / P. Jacobs // "Home". — 2013. — v. 31, № 6. — С. 25-30.
8. Lee J.Y. HFE gene mutation, C 282 Y changing hereditary haemochromatosis in Caucasian is extremely rare in Korean population / J.Y. Lee, K.H. Yoo, S.H. Hann // J. Korean Med Sci. — 2000. — Apr., v. 15, № 2. — С. 179-182.
9. Makker J. Dysmetabolic hyperferritinemia: All Iron Overload Is Not Hemochromatosis / J. Makker, A. Hanif, B. Bajantri, S. Chilikumri // Case Rep Gastroenterol. — 2015. — № 9. — С. 7-14.
10. Ogilvie C. Improved Detection of Hereditary Hemochromatosis / C. Ogilvie, D. Gaffrey, H. Murray [et al.] // J. Clin. Pathol. — 2015. — 68 (3). — С. 218-221.

УДК: 61:577.132:03.31.

ВІКОВІ ОСОБЛИВОСТІ ОБМІНУ ЗАЛІЗА У ХВОРИХ ІЗ СПАДКОВИМ ГЕМОХРОМАТОЗОМ

Аскерова Т. А., Гасанзаде Н. Ч.

Резюме. Пошук лабораторних комплексних методів для виявлення вікових особливостей серед хворих із спадковим гемохроматозом (СГХ) є актуальним завданням. Такими біохімічними показниками можуть бути сироваткове залізо, коефіцієнт насичення трансферину, феритин, трансферин і НЛА типізація. Метою даного дослідження було вивчення на основі сучасних біохімічних і генетических методів вікових особливостей обміну заліза серед хворих з СГХ. В дослідження було включено 245 хворих з СГХ, у яких вимірювали рівень обміну заліза. Показано, що із усіх досліджуваних показників обміну заліза, найбільшу значимість

мають показники сироваткового заліза (СЗ) і коефіцієнт насичення трансферину (КНТ). Підвищений рівень СЗ і КНТ було виявлено у всіх вікових періодах. Порівняння показників заліза виявило, що ці дані збільшені у порівнянні з контрольною групою в 1,5-2,0 рази. Спадковий характер порушення обміну заліза підтвердили вивченням цих показників серед найближчих родичів виявлених хворих.

Ключові слова: спадковий гемохроматоз, залізо, трансферин, феритин.

УДК: 61:577.132:03.31.

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ ОБМЕНА ЖЕЛЕЗА У БОЛЬНЫХ С НАСЛЕДСТВЕННЫМ ГЕМОХРОМАТОЗОМ

Аскерова Т. А., Гасанзаде Н. Ч.

Резюме. Поиск лабораторных комплексных методов для выявления возрастных особенностей среди больных с наследственным гемохроматозом (НГХ) является актуальной задачей. Такими биохимическими показателями могут быть сывороточное железо, коэффициент насыщения трансферрина, ферритин, трансферрин и HLA типирования. Целью данного исследования явилось изучение на основании современных биохимических и генетических методов возрастных особенностей обмена железа среди больных с НГХ. В исследование было включено 245 больных с НГХ, у которых измеряли уровень обмена железа. Показано, что из всех исследуемых показателей обмена железа, наибольшей значимостью обладают показатели сывороточного железа (СЖ) и коэффициент насыщения трансферрина (КНТ). Повышенный уровень СЖ и КНТ был выявлен во всех возрастных периодах. Сравнение показателей железа выявило, что эти данные увеличены по сравнению с контрольной группой 1,5-2,0 раза. Наследственный характер нарушения обмена железа подтвердили изучением этих показателей среди ближайших родственников выявленных больных.

Ключевые слова: наследственный гемохроматоз, железо, трансферин, ферритин.

UDC: 61:577.132:03.31.

AGE PECULIARITIES OF IRON METABOLISM IN PATIENTS WITH HEREDITARY HEMOCHROMATOSIS

Askerova T. A., Hasanzade N. H.

Abstract. Purpose: to study age peculiarities of iron metabolism in patients NGKH on the basis of modern biochemical and genetic techniques.

Object and methods. We studied 245 patients with NGKH. Of these, 200 people were newborns, 16 children aged 6-12 years and 29 individuals adults. Used complex clinical diagnostic techniques, biochemical, and immunochemical methods. Of the biochemical methods used the determination of serum iron (SG), total iron binding capacity serum (OSS), latent iron-binding capacity of serum (LISS), the coefficient saturation of transferrin (CST) on Henry. Analytical isoelectric focusing (IEF) of different types of transferrin in polyacrylamide-amprenavir plates with a pH of 4-6 in the 2117 Multiphor apparatus with subsequent quantification of the gels 2202 laser densitometer (LKB, Sweden). Antigenic testing at the HLA was carried out according to the method Taraski using the set of test anti-HLA sera. Several patients carried out liver biopsy with subsequent morphological inheritance.

The results and discussion. To identify NGKH in umbilical cord blood from 200 newborns examined indicators of iron metabolism. In 20 (10%) of the infants (11 boys and 9 girls) were identified with a high level of the LF and other parameters of blood. The obtained results allowed us to classify this group of newborns at risk. The content of iron in the blood of newborns were divided into heterozygous and homozygous carriers NGKH. The paper presents monitoring data on 176 children (100 boys and 76 girls), among whom 16 (9,0%) revealed carrier NGKH. 5 of them were homozygous and 11 heterozygous carriers of the disease. The most pronounced changes in the content of proteins responsible for iron metabolism in patients homozygous for the gene NGKH. In homozygous children have seen an increase in the LF – $46,58 \pm 2,76$ mmol/l (norm of $12,01 \pm 0,32$ mmol/l) of the CST revealed $74,76 \pm 5,75\%$ (norm $28,59 \pm 0,22\%$). In homozygous patients with CF was increased 3.9 times, and the CST 2.6 times. Heterozygous children biochemical indicators of iron metabolism were different from the control group. The number of LF was increased in 3 times, and CST 2 times. In this group of patients identified elevated levels of serum ferritin $222,7 \pm 0,6$ $\mu\text{g/ml}$ when the norm is $28,5 \pm 0,37$ mcg/ml. Diagnosis of heterozygous carriers NGKH these children was only possible because one of the parents was a carrier NGKH.

Those surveyed also identified 29 patients homozygous and heterozygous for the gene NGKH in age from 23 to 63 years (17 women and 12 men). The control group consisted of 20 healthy individuals (8 women and 12 men, mean age 45 years). The results of studying of indicators of iron metabolism in patients NGKH showed that the level of LF was increased and ranged from 38,4 to 81,36 $\mu\text{mol/l}$. CST has consistently exceeded 60%, often reaching 157%. The level of reserve iron SF – $548,4 \pm 76,94$ $\mu\text{g/l}$ in individual cases ranged from 92 to 1100,5 $\mu\text{g/L}$. The levels of serum transferrin was equal to $271 \pm 4,2$ mg/100, at a rate of $369 \pm 20,5$ mg/100. Thus, we have developed a range of methodological techniques for the study of iron metabolism in different age periods.

Conclusion. The most informative differential diagnostic criterion NGKH is the coefficient of saturation of transferrin (CST) which determines iron metabolism in individuals with an accuracy of 95%.

Keywords: hereditary, hemochromatosis, iron, transferring, ferritin.

Рецензент – проф. Непорада К. С.

Стаття надійшла 18.05.2016 року