

**КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЕ ОСОБЕННОСТИ КРИПТОГЕННЫХ
ЦИРРОЗОВ ПЕЧЕНИ У ПАЦИЕНТОВ С ГЕТЕРОЗИГОТНОЙ
МУТАЦИЕЙ Н63D ГЕНА ГЕМОХРОМАТОЗА.**

УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель

Введение. Хронические диффузные заболевания печени (ХДЗП) достаточно широко распространены среди населения. Наиболее частым неблагоприятным исходом ХДЗП является цирроз печени (ЦП) - тяжелое, малокурабельное заболевание, в большинстве случаев приводящее к смерти пациента. Распространенность ЦП увеличивается во всем мире, обуславливая растущее внимание исследователей к данной проблеме.

Тяжесть ЦП зависит от различных факторов, в первую очередь – от этиологии заболевания. Однако нередко практикующие врачи сталкиваются с отсутствием явных причин патологии печени, в этом случае ЦП классифицируется как криптогенный. Сопутствующие нарушения метаболизма – липидного, углеводного и др. имеют значения в прогрессировании ЦП. В последние десятилетия исследователями различных стран активно изучаются генетические предикторы метаболических нарушений. Одним из наиболее частых наследственных дефектов являются мутации гена гемохроматоза. Данные мутации могут вызывать синдром перегрузки железом - состояние, при котором избыточно всасываемое в кишечнике железо откладывается во внутренних органах, приводя к нарушению их функций. Из всех мутаций наибольшее распространение имеет мутация Н63D, приводящая к замене аминокислоты гистидина в 63 позиции в белке HFE на аспартат. Данная мутация достаточно широко распространена среди населения. По данным Сивицкой Л.Н. и соавт., средняя частота мутации Н63D в Республике Беларусь составляет 15,7% [1].

В большинстве случаев наличие простой гетерозиготной мутации не приводит к развитию заболевания. Тем не менее, представляет интерес влияние данной генетической поломки на течение ХДЗП. Австралийские ученые проводили оценку влияния мутаций С282Y и Н63D гена гемохроматоза, на скорость прогрессирования хронического гепатита С. Результаты исследования показали, что у пациентов с быстрым прогрессированием фиброза печени частота мутаций гена HFE была очень высока и составила 64,2%, а у лиц с медленным прогрессированием болезни – 35,8% [2].

В исследовании Богущ Л.С. при генотипировании больных ХДЗП с признаками синдрома перегрузки железом частота гетерозиготной мутации С282Y составила 7,6%, Н63D – 30,7%, на основании чего автором был сделан вывод о значимом вкладе генетических поломок в формировании избытка железа в организме [3].

Самоходская Л.М. и соавт. изучали влияние полиморфизма генов цитокинов и гемохроматоза (С282Y, Н63D) на темпы прогрессирования

фиброза у больных ХГС. Было выяснено, что некоторые аллели, в числе которых аллель H63D гена HFE, ассоциированы с быстрым прогрессированием фиброза у пациентов с ХГС [4].

Таким образом, имеющиеся в литературе данные позволяют говорить об определенном влиянии простых мутаций гена HFE на формирование ХДЗП.

Цель: изучить клинико-лабораторные особенности течения криптогенного ЦП у пациентов при наличии простой гетерозиготной мутации H63D в гене HFE.

Материалы и методы. Было проведено комплексное обследование пациентов с ЦП, направленных на консультацию в поликлиническое отделение ГУ «РНПЦРМиЭЧ» или поступивших на лечение в гастроэнтерологическое отделение У «Гомельская городская клиническая больница № 3».

Всего обследовано 35 пациентов с криптогенными циррозами печени (17 мужчин и 18 женщин). Диагноз ЦП устанавливался на основании комплексной оценки клинических, лабораторных и инструментальных данных, полученных при обследовании пациентов. Класс тяжести заболевания оценивался по шкале Чайлд-Пью.

Генотипирование пациентов для определения мутаций в гене HFE проводилось на базе центральной научно-исследовательской лаборатории Гомельского государственного медицинского университета с помощью ПЦР анализатора Rotor-Gene 3000. В качестве материала для исследования использовалась ДНК лейкоцитов, полученных из проб цельной венозной крови обследуемых.

Статистическая обработка данных, полученных в результате исследования, проводилась в операционной среде «WINDOWS XP» с использованием пакета прикладных программ «STATISTICA 7.0» и «MEDCALC Software».

Распределение количественных признаков оценивалось с помощью теста Шапиро-Уилка и теста Левена на равенство дисперсий. При несоответствии нормальному распределению вычислялась медиана (Me), минимальное (Min) и максимальное (Max) значения, 25-й (Q1) и 75-й (Q3) процентиля, 95%-ный доверительный интервал (95% ДИ).

Анализ первичных данных по количественному или качественному признаку двух независимых выборок осуществлялся с помощью теста U Манна-Уитни. При анализе качественного (бинарного) признака двух независимых выборок использовался метод двустороннего теста точного критерия Фишера. За критический уровень статистической значимости принимали вероятность безошибочного прогноза, равную 95 % ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение. Среди пациентов с криптогенным ЦП гетерозиготные мутации H63D в гене гемохроматоза были обнаружены у 9 (25,7%, 95% ДИ 12,5-43,3%) пациентов. Все остальные (74,3%, 95% ДИ 56,7-87,5%) больные являлись гомозиготами гена HFE по аллелю дикого типа (норма). Гомозигот по мутантному аллелю выявлено не было.

По результатам генотипирования все пациенты были разделены на 2 группы: 1 – пациенты с нормальным генотипом, 2 - гетерозиготы по мутанному аллелю Н63D. Медиана возраста пациентов 1 группы составила 51,5 года (Min=36, Max=72), 2 группы – 44 года (Min=27, Max=73). Группы были сравнимы по возрасту, статистически значимых различий не было ($p=0,72$).

Степень тяжести ЦП у пациентов оценивалась по шкале Чайлд-Пью, статистически значимых различий в группах выявлено не было (таблица 1).

Таблица 1 – Распределение ЦП по классам тяжести

Класс тяжести	1 группа		2 группа		p
	n	%	n	%	
Класс тяжести А	5	19,2	1	11,1	0,655
Класс тяжести В	8	30,8	4	44,45	0,686
Класс тяжести С	13	50	4	44,45	1

Основные субъективные и некоторые объективные симптомы, выявленные при обследовании пациентов обеих групп, отражены в таблице 2.

Таблица 2 – Клинические проявления ЦП у пациентов

Показатель	1 группа		2 группа		p
	n	%	n	%	
Слабость, повышенная утомляемость	24	92,3	9	100	1
Кожный зуд	9	34,6	5	55,6	0,432
Тошнота	14	53,8	7	77,8	0,262
Рвота	6	23,1	6	66,7	0,038
Горечь во рту	16	65,4	6	66,7	1
Боль в правом подреберье	19	73,1	8	88,9	0,648
Снижение аппетита	12	46,2	6	66,7	0,443
Диарея	15	57,7	7	77,8	0,431
Бессонница	22	84,6	9	100	0,553
Сонливость	21	80,8	9	100	0,297
Десневые кровотечения	12	46,2	8	88,9	0,048
Подкожные кровоизлияния	15	57,7	6	66,7	0,712
Отеки нижних конечностей	18	69,2	8	88,9	0,39
Снижение памяти	15	57,7	9	100	0,033
Увеличение живота	22	84,6	8	88,9	1
Желтуха	17	65,4	7	77,8	0,686
Следы расчесов	0	0	3	33,3	0,013
Асцит	17	65,4	7	77,8	0,686
Атрофия мышц	9	34,6	5	55,6	0,432
Петехии, экхимозы	11	42,3	6	66,7	0,264
Телеангиоэктазии	10	38,5	6	66,7	0,245
Лимфоаденопатия	4	15,4	2	22,2	0,635

Анализируя полученные данные, следует отметить, что наиболее частым клиническим синдромом, выявленным у пациентов обеих групп, был астено-вегетативный синдром, проявлявшийся слабостью, повышенной

утомляемостью и снижением работоспособности, нарушениями ночного сна, сонливостью в дневное время. Более высокая частота нарушений памяти была выявлена у больных 2 группы, однако этот показатель достаточно субъективен и может по-разному оцениваться пациентами.

Также с достаточно высокой частотой у пациентов обеих групп выявлялся болевой синдром. При этом выраженность боли у большинства пациентов была незначительной.

Синдром холестаза, клинически обычно проявляющийся кожным зудом, имел несколько большую распространенность среди пациентов второй группы, соответственно такой объективный признак как следы расчесов на коже также чаще обнаруживался среди пациентов второй группы, различия были статистически значимыми ($p=0,013$). Здесь следует отметить, что активность щелочной фосфатазы, отражающей выраженность синдрома холестаза, проявляющегося кожным зудом, была несколько выше у пациентов с мутациями.

Такое проявление диспепсического синдрома как рвота у пациентов второй группы встречалось статистически значимо чаще по сравнению с пациентами без мутаций. По другим проявлениям диспепсии у пациентов селективных групп статистически значимых различий не получено. Тем не менее, наблюдалась тенденция к большей выраженности тошноты, снижения аппетита, диареи у пациентов второй группы.

Более высокая выраженность и частота диспепсических расстройств у пациентов 2 группы может быть связана с сопутствующим поражением других органов, участвующих в пищеварении. Гетерозиготные мутации у пациентов ЦП могут потенцировать развитие синдрома перегрузки железом. При этом железо, накапливаясь в паренхиме поджелудочной железы, вызывает её поражение с нарушением внешнесекреторной активности и развитием различных вариантов панкреатической и кишечной диспепсии.

Также пациенты 2 группы чаще отмечали кровотечения из десен после или во время еды, чистки зубов. Однако ни по уровню протромбина, ни по количеству тромбоцитов обе группы пациентов не имели статистически значимых различий. Такое проявление геморрагического синдрома может быть следствием гиповитаминоза С, который вероятно был более выражен у пациентов 2 группы, вследствие большей выраженности синдрома мальабсорбции.

При ультразвуковом исследовании печени у всех пациентов были обнаружены диффузные изменения, характерные для ЦП: гепатомегалия, изменение эхоструктуры (усиление эхогенности) и неровность контуров печени, увеличение диаметра воротной вены. Спленомегалия обнаруживалась практически с одинаковой частотой у пациентов обеих групп – в 19 случаях в 1 группе пациентов (73,1%, 95ДИ 52,2-88,4%) и в 7 – во 2 группе (77,8%, 95ДИ 40,0-97,0%).

Одной из частых проблем пациентов с ЦП являются инфекции различной локализации, связанные со снижением иммунитета. В связи с этим была

проанализирована частота инфекционных заболеваний у пациентов обеих групп. Обнаружено, что распространенность инфекций в обеих группах была почти равной: 8 случаев в 1 группе (4 случая мочевой инфекции и 4 респираторной) (30,8%, 95% ДИ 14,3-51,8%) и 3 (1 случай мочевой и 2 случая респираторной инфекции) – во 2 группе (33,3%, 95% 7,5-70,1%, $p=1,0$).

Далее был проведен сравнительный анализ показателей общего анализа крови пациентов обеих групп (таблица 3).

Таблица 3 – Показатели общего анализа крови пациентов

Показатель	Группа	Me	Min	Max	Q1	Q3	95% ДИ	p
Гемоглобин	1 группа	125	82	152	113	139	113-138	0,199
	2 группа	107	74	164	88	129	79-144	
Эритроциты	1 группа	3,86	2,73	5,16	3,46	4,34	3,48-4,32	0,174
	2 группа	3,28	2,5	6,43	2,57	4,15	2,53-5,36	
СОЭ	1 группа	25	3	58	10	15	14-45	0,242
	2 группа	50	2	59	45	55	9-58	
Лейкоциты	1 группа	8,1	3,6	33,6	5	10,5	5,2-9,9	0,141
	2 группа	5,8	3,9	10,4	4,3	7,4	4,0-8,7	
Тромбоциты	1 группа	177	72	327	131	203	131-202	0,735
	2 группа	201	64	327	97	267	69-312	

Как видно из данных, представленных в таблице, в показателях общего анализа крови у пациентов обеих групп не было выявлено статистически значимых отличий.

Проведена оценка некоторых показателей биохимического анализа крови (таблица 4)

Таблица 4 – Показатели биохимического анализа крови пациентов

Показатель	Группа	Me	Min	Max	Q1	Q3	95% ДИ	p
АЛТ, Ед/л	1 группа	35	17	92	31	42	32-41	0,919
	2 группа	35	27	161	32	39	30-92	
АСТ Ед/л	1 группа	23	11	198	21	39	21-38	0,917
	2 группа	21	13	168	21	46	18-106	
ЩФ, Ед/л	1 группа	173	25	403	136	248	137-242	0,412
	2 группа	200	113	904	135	346	115-774	
Билирубин мкмоль/л	1 группа	52	8	564	31	233	35-177	0,545
	2 группа	59	20	201	30	82	23-138	
Альбумин, г/л	1 группа	35	24	54	32	43	32-43	0,714
	2 группа	36	28	47	30	42	28-46	
Мочевина, ммоль/л	1 группа	5,7	3	8	4,4	6,3	4,4-6,3	0,532
	2 группа	5,2	3,8	34,8	4,9	5,8	4-18,8	
Креатинин мкмоль/л	1 группа	75	39	139	71	81	71-81	0,981
	2 группа	76	52	334	71	86	56-264	
Общий белок, г/л	1 группа	71,3	52,7	90	62,7	75,8	64,6-75,4	0,343
	2 группа	68,3	60,6	85,6	65,2	70,6	61,6-81,5	
Холестерин ммоль/л	1 группа	4,3	3	5,1	3,6	4,6	3,6-4,6	0,153
	2 группа	4,6	3,8	10,4	3,9	6,6	3,8-10,4	

Продолжение таблицы 4

Сывороточное железо, мкмоль/л	1 группа	12	3,2	27,8	8,3	18,2	8,4-18,2	0,025
	2 группа	25	7	39,9	14,2	30,3	11,0-36,5	
Протромбин	1 группа	0,77	0,67	0,65	0,69	0,79	0,68-0,81	0,14
	2 группа	0,7	0,82	0,77	0,7	0,72	0,65-0,77	

При анализе данных, представленных в таблице, можно констатировать, что активность ЦП, оцениваемая по выраженности синдрома цитолиза (активность АЛТ и АСТ, уровень общего билирубина), у пациентов обеих групп была практически одинаковой. Активность щелочной фосфатазы, отражающей наличие холестатического синдрома, была незначительно выше у пациентов с мутациями, однако статистической значимости выявлено не было ($p=0,412$). Уровни общего холестерина, мочевины, креатинина, альбумина и глюкозы сыворотки крови также не имели существенных различий у пациентов обеих групп. Единственным показателем по которому закономерно получено статистически значимое различие был уровень сывороточного железа ($p=0,025$).

Заключение. В клинической симптоматике среди пациентов обеих групп были выявлены некоторые отличия в частоте выявления диспептического синдрома. В остальном клиническое течение ЦП у пациентов с гетерозиготной мутацией Н63D в сравнение с пациентами без мутаций имеет незначительные особенности. Это обусловлено тем, что течение хронических диффузных заболеваний печени имеет свои особенности на более ранней, доцирротической стадии патологического процесса. В случае, когда заболевание перешло в свою терминальную стадию, когда все патологические процессы приходят к своему логическому завершению, обнаружить какие-либо особенности ЦП при наличии синдрома перегрузки железом становится весьма трудно, если вообще возможно. На этой стадии клиника заболевания определяется в большей степени не этиологическим фактором, а проявлениями нарушений основных функции печени, т.е. ЦП протекает более однообразно.

В отношении лабораторных показателей следует заключить, что различия были получены только при сравнении уровня сывороточного железа у пациентов селективных групп. Данный показатель оказался статистически значимо более высоким у пациентов с мутациями ($p=0,025$). Согласно литературным данным, гетерозиготная мутация Н63D является одной из самых распространенных генетических поломок и в подавляющем большинстве случаев не вызывает развитие гемохроматоза. Однако у пациентов с длительно прогрессирующей патологией печени данная мутация, вероятно, могла быть дополнительным фактором, провоцирующим нарушение обмена железа вследствие постепенного накопления его в паренхиме, что в свою очередь провоцирует более активное коллагенообразование с развитием фиброза и прогрессирующее патологическое процесса.

Таким образом, в целом можно сделать вывод, что у пациентов с ЦП гетерозиготная мутация H63D является фактором риска развития синдрома перегрузки железом.

Литературные источники:

1. Сивицкая, Л.Н. Наследственный гемохроматоз: частота мутаций С282У и H63D гена HFE в белорусской популяции / Л. Н. Сивицкая, Е. И. Кушнеревич // Молодежь в науке 2007: прил. к журналу «Весці Нацыянальнай Акадэміі навук Беларусі». В 4 ч. Ч. 1. Серия биологических наук; серия медицинских наук / редколл. серии биол. наук: И.Д. Вологовский (гл. ред.), А.Г. Лобанок [и др.]; редколл. серии мед. наук: Е.Ф. Конопля (гл. ред.), А.Г. Мрочек [и др.]. – Минск: Беларус. наука, 2008. – С. 414-418.
2. Richardson, M.M. A combination of genetic polymorphisms increases the risk of progressive disease in chronic hepatitis C / M. M. Richardson [et al.] // J. Med. Genet. – 2005. – Vol. 42. – P.45-49.
3. Богуш, Л. С. Алгоритм диагностики нарушений обмена железа у больных хроническими диффузными заболеваниями печени / Л. С. Богуш // Проблемы здоровья и экологии. – 2008. – №3. – С. 142-148.
4. Самоходская, Л.М. Прогностическое значение комбинации аллельных вариантов генов цитокинов и гемохроматоза у больных хроническим гепатитом С / Л. М. Самоходская [и др.] // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол.– 2007. – №2. – С.50-56.

I.V. Paltsev, D.I. Gavrilenko

**CLINIC-LABORATORY FEATURES OF CHRONIC CRYPTOGENIC LIVER
CIRRHOSIS IN PATIENTS WITH HETEROZYGOTIC MUTATION H63D IN
HEMOCHROMATOSIS GENE**

Gomel State Medical University, Gomel

Summary

35 patients with chronic cryptogenic liver cirrhosis were examined. It has been revealed that for the patients with heterozygotic mutation H63D of hemochromatosis gene more frequent dyspeptic syndrome is characteristic. Also statistically significantly higher level of serum iron is found out in patients with mutations.