

© Коллектив авторов, 2009
УДК 616.36–002.2:616–092:546.72

ЖЕЛЕЗО И ПАТОГЕНЕЗ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕПАТИТА С

К.В. Жданов¹, Д.А. Гусев¹, В.С. Чирский¹, К.В. Козлов¹,
А.В. Шкуро², А.В. Лавров³

¹Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

²Дорожная клиническая больница, Санкт-Петербург

³Медико-генетический научный центр РАМН, Москва

В настоящее время в мире проживает не менее 170 млн. человек, инфицированных ВГС, что составляет около 3% населения планеты. HCV-инфекция представляет собой глобальную медико-социальную проблему, которая обусловлена стабильным уровнем заболеваемости и высокими затратами на диагностический и лечебный процессы [4, 6]. Патогенез HCV-инфекции, несмотря на интенсивные усилия исследователей, остается не до конца ясным.

Одна из таких противоречивых проблем – это изменение в метаболизме железа. Сывороточные концентрации железа, ферритина, коэффициент насыщения трансферрина железом повышены у большинства больных ХГС. По оценкам разных авторов, встречаемость этих изменений варьирует от 20 до 60% [2, 5, 9]. На сегодняшний день причины данного состояния остаются до конца невыясненными. Предполагается патогенетическая связь между вирусной инфекцией и нарушением метаболизма железа, однако сведения по данной проблеме крайне противоречивы [5].

Фундаментальный механизм, регулирующий обмен железа в организме человека, детерминирован генотипом. Прежде всего, геном, мутации которого приводят к развитию наследственного гемохроматоза (ген HFE). В норме комплекс HFE-протеина с β -2 микроглобулином связывается с трансферриновыми рецепторами (ТФР) 1 и 2 типов, препятствуя проникновению железа в клетку при увеличении его концентрации. Также данный белок стимулирует экспрессию гена гепсидина (отвечающего за гуморальную регуляцию метаболизма микроэлемента), биологическим эф-

фектом которого является снижение всасывания железа в тонком кишечнике и двенадцатиперстной кишке в ответ на повышение общих запасов железа в организме [2, 8, 10, 11, 17].

Известно, что одной из основных причин нарушения обмена железа у больных хроническим вирусным гепатитом С является возможное увеличение на фоне инфекции клинических признаков, связанных с выявлением гетерозиготных мутаций генов наследственного гемохроматоза, в первую очередь C282Y и H63D. При этом отмечено, что наличие таких мутаций у пациентов с HCV-инфекцией влияет на изменение концентраций показателей, отражающих метаболизм железа, в сторону перегрузки [2]. Хотя в среднем в популяции гетерозиготные носители гена H63D встречаются в 20–27% случаев, клинически значимое проявление эффектов этой мутации наблюдается не часто [3]. Однако наибольшие противоречия во мнениях исследователей вызваны взаимосвязью мутаций гена, кодирующего HFE-белок и течением HCV-инфекции. Полагают, что комбинация гепатита С и носительства мутантных аллелей гена наследственного гемохроматоза усиливает фиброгенез, утяжеляет течение заболевания [8, 10, 11]. Кроме того, носительство HFE мутаций рассматривается в качестве неблагоприятного фактора, влияющего на эффективность противовирусного лечения [2]. Выдвигались предположения, что носительство мутантных аллелей гена наследственного гемохроматоза не коррелирует с накоплением микроэлемента в ткани печени и не влияет на течение инфекционного процесса [16, 17, 19].

Несмотря на неоднозначную оценку генетических предпосылок в развитии так называемого “синдрома перегрузки железом”, разногласий среди исследователей по поводу неблагоприятного воздействия избытка данного микроэлемента, безусловно, нет. Железо – мощнейший

Жданов Константин Валерьевич, д. м. н., профессор кафедры инфекционных болезней.
Тел.: (812) 542-92-14, (812) 292-33-57.
E-mail: zhdanov@rambler.ru

Таблица 1

Средние концентрации показателей обмена железа ($M \pm Se$)

Железо сыворотки	ОЖСС	Трансфер-рин	Ферритин	Церуло-плазмин	Гапто-глобин	КНТ железом
мкмоль/л	мкмоль/л	г/л	нг/мл	мг/л	мг/дл	%
Норма						
♂-14,3-25,0 ♀-10,7-21,5	30,6-80	2-3,8	♂- 94-149 ♀- 34-76	220 - 610	30-220	20-52
Результаты в исследуемой группе						
♂26,6±0,8* ♀23±1,2*	53,4±2,4	3,2±1,2	♂204,9±13* ♀147,5±28*	458,6±24	225,6±17	51,8±8,2*
Результаты в группе контроля						
♂21,5±0,7* ♀16,4±0,5*	56,7±5,2	2,8±1,5	♂120±12* ♀73,1±11*	404,9±56	199,9±34	41,4±9,2*

* - различия исследуемой и контрольной групп статистически значимы, $p < 0,05$.

индуктор перекисного окисления липидов [7]. Помимо запуска окислительных реакций, свободное железо обладает способностью активировать клетки Ито, синтезирующие коллаген [18]. Микроэлемент в ткани печени, как правило, обнаруживается на поздних стадиях хронического гепатита С и выявляется преимущественно в тканевых макрофагах [9]. Данный факт рассматривается как крайне неблагоприятный для течения и прогноза заболевания [12, 15].

Таким образом, данные современной литературы являются противоречивыми в отношении влияния вируса гепатита С на клинические проявления со стороны мутантных аллелей гена HFE. Отсутствуют достоверные сведения о других возможных причинах изменения обмена железа у данной категории больных.

Вместе с тем, в недавних экспериментальных работах было показано ингибирующее влияние железа на репликацию вируса гепатита С в культуре ткани человеческой гепатомы (Huh 7). Так, установлено, что микроэлемент непосредственно ингибирует неструктурный белок вирусного полипротеина NS5B [13, 14]. Данный факт дает возможность предположить участие физиологических регуляторных механизмов метаболизма железа в патогенезе HCV-инфекции.

Все вышеизложенное послужило поводом для проведения данного исследования с целью дать патогенетическую характеристику нарушений гомеостаза железа у больных хроническим гепатитом С.

Материал и методы. Обследовано 111 больных ХГС (анти-HCV+, РНК HCV+), 84 мужчины и 27 женщин на различных стадиях заболевания в возрасте от 18 до 59 лет, в среднем – $33 \pm 1,5$ года. Распределение больных по стадии HCV-инфекции проводилось на основании оценки выраженности фиброза в гепатобиоптате в соответствии со стандартизированной системой «METAVIR» [4, 5, 12]: F1 (слабый фиброз) – 40 человек (36%),

F2 (умеренный фиброз) – 37 человек (33,3%), F3 (тяжелый фиброз) – 25 человек (22,5%), F4 (цирроз) – 9 человек (8,2%). Пациентам выполнялось биохимическое исследование крови, в том числе определялись показатели, характеризующие метаболизм железа (сывороточное железо, трансферрин, ферритин, гаптоглобин, общая железосвязывающая способность сыворотки (ОЖСС), коэффициент насыщения трансферрина (КНТ) железом). Определение концентраций в сыворотке крови параметров, характеризующих метаболизм железа, было выполнено на анализаторе HITACHI с использованием реагентов фирмы RANDOX иммунотурбидиметрическим методом. КНТ железом рассчитывался по формуле: железо сыворотки (мкмоль/л)/ОЖСС (мкмоль/л) $\times 100\%$. Контрольную группу для биохимического исследования составили 20 здоровых человек: 13 мужчин и 7 женщин в возрасте от 19 до 55 лет, в среднем – $32 \pm 0,9$ года. Таким образом, исследуемая и контрольная группа оказались однородными по основным характеристикам.

Молекулярно-биологические исследования крови с использованием ПЦР осуществлялись для оценки качественного и количественного содержания РНК-ВГС и его генотипа. Выявляли мутантные аллели гена наследственного гемохроматоза – C282Y и H63D. Определение данных мутаций проводилось на амплификаторе Терцик-2 (производство фирмы «ДНК-ТЕХНОЛОГИЯ») в Медико-генетическом научном центре РАМН, г. Москва.

Выполнялась пункционная биопсия печени для оценки степени активности и стадии ХГС, а также качественного и полуколичественного (количество клеток в 10 полях зрения) определения содержания железа в гепатобиоптате при помощи его окраски по методу Перлса. Контрольную группу для морфологического исследования составили десять гепатобиоптатов больных гемохроматозом.

Таблица 2

Сравнительный анализ распределения железа в ткани печени у больных ХГС и гемохроматозом. U-тест Манна-Уитни. Ме (UQ;LQ)

Железо в печени, баллы количество (количество клеток/10 полей зрения)	Вирусный гепатит С (n=40) Ме (UQ;LQ)	Гемохроматоз (n=10) Ме (UQ;LQ)
Общее содержание	1,35 (0,3;1,6) *	8,7 (8,2;13,8) *
В клетках Купфера	0,4 (0,1;0,6) *	2 (1,2;3) *
В гепатоцитах	0,3 (0,2;1) *	7,5 (6,2;10,8) *
В клетках инфильтрата	0,2 (0,1;0,3) *	1,5 (1;1,9) *
Соотношение клетки Купфера : гепатоциты	~ 1:1 * (в пользу Клеток Купфера)	~ 1:4 *

* - различия статистически значимы, $p < 0,05$.

Результаты исследования. Установлено, что средние показатели сывороточного железа (у мужчин $26,6 \pm 0,8$ мкмоль/л, у женщин $23 \pm 1,2$ мкмоль/л), ферритина (у мужчин $204,9 \pm 13$ нг/мл, у женщин $147,5 \pm 28$ нг/мл) статистически значимо превышали референтные величины, а КНТ железом находился у верхней границы нормы ($51,8 \pm 8,2\%$). Кроме того, данные параметры достоверно различались с группой контроля (табл. 1).

Отмечено, что сывороточное железо было повышено у 38 мужчин - 45,2% и 16 женщин - 59,3%, а сывороточный ферритин - у 51 мужчины - 60,7%, и 14 женщин - 51,8%.

При анализе репликативной активности вируса в зависимости от изменений в метаболизме железа у обследованных больных была установлена обратная умеренная взаимосвязь между КНТ железом (%) и репликативной активностью вируса гепатита С (МЕ/мл), $r = -0,4$, $p < 0,05$, что косвенно отражало снижение вирусной репликации по мере увеличения в сыворотке крови железа. Напротив, при сравнении групп пациентов с высокой (более 400000 МЕ в мл) и низкой вирусной репликацией (менее 400000 МЕ в мл) были выявлены достоверные различия по содержанию сывороточного ферритина. Так, в первой группе средняя его концентрация составила $216,5 \pm 19,6$ нг/мл, во второй – $155,7 \pm 21,9$ нг/мл, $p < 0,05$. При анализе показателей метаболизма железа в зависимости от генотипа вируса статистически значимых результатов получено не было.

Метаболизм железа изучался на различных стадиях заболевания и в зависимости от некро-воспалительной активности в ткани печени. Статистически значимые различия в показателях обмена железа по стадиям заболевания были выявлены между группами пациентов со слабым (F1) и умеренным (F2) фиброзом по содержанию гаптоглобина ($293,4 \pm 32$ мг/дл и $202,7 \pm 25$ мг/дл соответственно, $p < 0,05$). У больных со слабым

фиброзом (F1) и тяжелым (F3) - по гаптоглобину и ферритину ($293,4 \pm 32$ мг/дл и $184,8 \pm 34,8$ мг/дл; $145 \pm 15,2$ нг/мл и $236 \pm 27,3$ нг/мл соответственно, $p < 0,05$). У пациентов со слабым фиброзом (F1) и циррозом (F4) достоверно различались показатели сывороточного ферритина ($145 \pm 15,2$ нг/мл и $270,7 \pm 57$ мг/мл). При сравнении показателей обмена железа на ранних (F1 и F2) и поздних (F3 и F4) стадиях заболевания получены достоверные различия по содержанию в сыворотке крови ферритина и гаптоглобина. Так, на ранних стадиях данные показатели составили $165,4 \pm 14$ нг/мл и $256,4 \pm 22,3$ мг/дл соответственно. На поздних – $245,2 \pm 29$ нг/мл и $182,9 \pm 25,9$ мг/дл ($p < 0,05$).

В зависимости от активности воспалительного процесса в печени по "METAVIR" были получены статистически значимые различия. Так, между пациентами с минимальной некровоспалительной (A1) и слабовыраженной активностью (A2) статистически значимо различались показатели гаптоглобина ($316,8 \pm 38,7$ мг/дл и $198,4 \pm 17,8$ мг/дл соответственно, $p < 0,05$). А между больными со слабовыраженной (A1) и умеренной (A3) – сывороточного железа, гаптоглобина и церулоплазмينا: железо сыворотки - $23,9 \pm 1,3$ мкмоль/л и $27,9 \pm 2,0$ мкмоль/л соответственно, $p < 0,05$; гаптоглобин - $316,8 \pm 38,7$ мг/дл и $183,6 \pm 34,2$ мг/дл соответственно, $p < 0,05$; церулоплазмин – $548,0 \pm 56,0$ мг/л и $410,7 \pm 35,9$ мг/л соответственно, $p < 0,05$. Кроме того, при проведении корреляционного анализа были установлены прямая умеренная корреляционная взаимосвязь между ИГА в баллах (по Knodell) и железом сыворотки ($r = 0,3$; $p < 0,05$); обратная умеренная – с концентрацией сывороточного церулоплазмينا ($r = -0,35$; $p < 0,05$) и содержанием гаптоглобина в сыворотке крови ($r = -0,31$; $p < 0,05$).

На следующем этапе исследования была дана морфологическая и генетическая характеристика метаболизма железа. При окрашивании гепатобиоптатов 40 больных с типичными лаборатор-

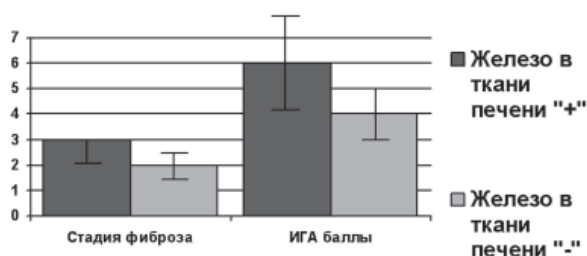


Рис. 1. Стадия фиброза и ИГА в зависимости от наличия либо отсутствия железа в ткани печени. U-тест Манна – Уитни. Мо (UQ;LQ), $p < 0,05$.

ными признаками изменений в обмене железа (31 мужчины и 9 женщин) по методике Перлса железо в клетках Купфера было выявлено у 31 человека (26 мужчин и 5 женщин), что составило 77,5%. В макрофагах и гепатоцитах железо определялось у 23 больных (19 мужчин и 4 женщин), что составило 57,5%. В макрофагах, гепатоцитах и клетках воспалительного инфильтрата портального тракта железо верифицировалось у 8 человек (7 мужчин и 1 женщины) – 20%. У двух мужчин микроэлемент был выявлен в клетках Купфера и воспалительного инфильтрата (5%).

Общее содержание железа в ткани печени больных ХГС, как было описано выше, рассчитывалось полуколичественным методом, в баллах. Медиана составила 1,35 баллов (интерквартильный размах от 0,3 баллов до 1,6 баллов). В качестве группы сравнения были изучены 10 гепатобиоптатов больных гемохроматозом без гепатита С. Таким же образом у них рассчитывалось содержание железа в морфологических образцах: медиана 8,7 баллов (интерквартильный размах от 8,2 баллов до 13,8 баллов). Различия между данными группами статистически значимы ($p < 0,05$). Кроме того, обращало внимание соотношение распределения железа между макрофагами и гепатоцитами у больных ХГС и гемохроматозом. У первых данное соотношение приблизительно составило 1:1 с незначительным сдвигом в сторону тканевых макрофагов, тогда как у больных гемохроматозом – 1:4 в сторону гепатоцитов (табл. 2).

Степень активности воспаления в ткани печени статистически значимо была выше у больных ХГС, в гепатобиоптатах которых железо выявля-

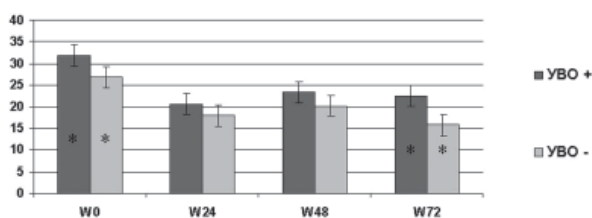


Рис. 2. Сравнительный анализ средних значений сывороточного железа на этапах мониторинга лечения в зависимости от наличия/отсутствия УВО. $Me \pm Se$, * - $p < 0,05$.

лось, по сравнению с группой пациентов, у которых исследуемый элемент в ткани органа не определялся (рис. 1). По стадии заболевания были получены схожие результаты. У пациентов, гепатобиоптаты которых окрашивались по методу Перлса, фиброз был достоверно более выражен по сравнению с группой больных, где гепатосидероза не наблюдалось.

Изученные сывороточные маркеры метаболизма железа и основные биохимические параметры были проанализированы у пациентов, в гепатобиоптатах которых железо выявлялось в клетках Купфера, гепатоцитах и клетках воспалительного инфильтрата, и у больных, ткань печени которых по методике Перлса не окрашивалась. Так, в группе пациентов, железо у которых определялось в клетках Купфера, статистически значимо были выше показатели ферритина сыворотки и активность ГГТП по сравнению с больными, железо в печени у которых не определялось: 219 нг/мл (149,2;362) и 147,1 нг/мл (55;242); 38 у/л (26;123) и 20 у/л (6,7;50) соответственно, $p < 0,05$.

Между пациентами, у которых железо определялось в гепатоцитах, и группой больных, элемент в печеночных клетках которых не выявлялся, статистически значимых различий по изучаемым биохимическим показателям обнаружено не было.

Статистически значимые различия по наличию либо отсутствию железа в клетках воспалительного инфильтрата портального тракта были отмечены по следующим параметрам: железу сыворотки - 33,3 мкмоль/л (26,7; 36,1) и 17 мкмоль/л (12,5; 29,3); ферритину - 362,4 нг/мл (316,5; 426,9) и 179,9 нг/мл (107; 267); ГГТП - 65,2 у/л (38,2; 128) и 27,3 у/л (17,6; 61); АСТ - 97,7 у/л (66,6; 119,8) и 45,6 у/л (35,4; 69,6); щелочной фосфатазе - 91 у/л (81,8; 119,7) и 74,2 у/л (48,9; 106,2) и общему билирубину - 22 ммоль/л (18,9; 24) и 14,5 ммоль/л (10,3; 19,8) соответственно, $p < 0,05$.

Кроме того, корреляционным непараметрическим методом Спирмена также были установлены прямая умеренная взаимосвязь между выявлением железа в клетках Купфера (полуколичественная оценка) и КНТ железом ($R=0,3$; $p < 0,05$) и обратная с ОЖСС ($R=-0,3$; $p < 0,05$), а также умеренная обратная взаимосвязь между выявлением железа в клетках воспалительного инфильтрата и концентрацией в сыворотке крови гаптоглобина ($R=-0,3$; $p < 0,05$).

Те же 40 человек с хроническим вирусным гепатитом С, у которых наблюдались лабораторные сдвиги в метаболизме железа, были обследованы на носительство мутантных аллелей гена наследственного гемохроматоза. Выявлены 1 гетерозиготный носитель C282Y и 9 гетерозиготных носителей H63D, то есть 25% всех обследованных. Гомозигот и компаунд гетерозигот обнаружено не было. Клинических проявлений характерных для наследственного гемохроматоза (гиперпигментации кожи, артропатий, признаков застойной сердечной недостаточности) у исследуемых больных не наблюдалось.

Таблица 3

Сравнительный анализ ИГА, стадии фиброза, содержания железа в ткани печени и некоторых биохимических параметров крови в зависимости от носительства мутантных аллелей гена наследственного гемохроматоза C282Y и H63D. U-тест Манна – Уитни. Me (UQ;LQ)

Показатели	Мутантные аллели гена HFE «+», Me(UQ;LQ)	Мутантные аллели гена HFE «-», Me(UQ;LQ)
Железо в ткани печени (клеток/10п.з.)	2,0 (1,6;3,2) *	0,4 (0,2;0,8) *
Стадия фиброза, Мо (UQ;LQ)	3 (1;3)	3 (2;4)
ИГА, Мо(UQ;LQ)	5 (5;8)	7 (5;8)
Железо сыворотки, мкмоль/л	25,8 (19,5;30,8)	27,9 (24,8;33,6)
Трансферрин, г/л	2,0 (1,6;3,2) *	2,6 (2,3;2,8) *
Ферритин, нг/мл	257,2 (138,4;391,5)	195,2 (111,1;420)
Гаптоглобин, мг/дл	280,3 (192,8;303,9)	263,6 (87,4;284,7)
Церулоплазмин, мг/л	429 (40;509)	340 (207;448)
ОЖСС, мкмоль/л	50 (10;52) *	55 (51;58) *
КНТ, %	57,9 (37,6;65,7)	49,9 (30,5;60)
ГГТП, у/л	65,9 (20,3;76,8)	68,3 (32;109)
АЛТ, у/л	116,4 (98,2;121)	115,7 (57,3;188,9)
АСТ, у/л	67,1 (40,1;78)	50 (37,1;91)
Билирубин, ммоль/л	12,1 (6,7;18,0)	14,1 (13,2;21,9)
Щелочная фосфатаза, у/л	77,9 (60,9;90,1)	77,5 (55,6;112,5)

* - различия статистически значимы, $p < 0,05$.

С другой стороны, у пациентов, у которых выявлялись мутации гена наследственного гемохроматоза, отмечалось статистически значимое увеличение железа в ткани печени (табл. 3) - 2,0 клетки в 10 полях зрения (1,6; 3,2), достоверное снижение ОЖСС - 50^{10} мкмоль/л (10; 52) и трансферрина сыворотки крови - 2,0 г/л (1,6; 3,2) по сравнению с пациентами, мутантные аллели у которых выявлены не были – соответственно 0,4 клетки в 10 полях зрения (0,2-0,8); 55 мкмоль/л (51; 58); 2,6 г/л (2,3; 2,8), $p < 0,05$.

50 пациентов с 1b генотипом ВГС получали стандартную терапию пегилированным интерфероном и рибавирином. При анализе содержания железа сыворотки на различных этапах контроля противовирусной терапии были установлены интересные статистические закономерности (рис. 2). Так, у больных, достигших УВО, сывороточное железо было несколько выше по сравнению с пациентами, у которых вирусологический ответ к 72 неделе отсутствовал. На старте лечения у пациентов, достигших УВО, железо составило $31,9 \pm 1,4$ мкмоль/л; на 24 неделе - $20,7 \pm 2,5$

мкмоль/л; на 48 неделе - $22,3 \pm 2,1$; через полгода после окончания лечения - $22,5 \pm 1,9$ мкмоль/л. При этом через полгода после окончания терапии железо сыворотки было достоверно выше у пациентов, РНК вируса в крови у которых не выявлялась. У достигших УВО больных железо составило $22,5 \pm 1,9$ мкмоль/л, у «не ответивших» - $15,8 \pm 1,2$ мкмоль/л. Кроме того, в группе «ответивших» больных средняя концентрация сывороточного железа на старте терапии ($31,9 \pm 1,4$ мкмоль/л) была статистически значимо выше, чем у пациентов, не достигших УВО ($26,8 \pm 1,8$ мкмоль/л, $p < 0,05$).

Обсуждение. В результате проведенного исследования, как ожидалось, было продемонстрировано повышение сывороточного железа и ферритина крови у большинства больных ХГС. При этом у мужчин чаще отмечалось увеличение содержания ферритина, а у женщин - железа сыворотки. В то же время получены данные, косвенно отражающие снижение вирусной репликации по мере нарастания общего содержания железа в организме. Так, установлена обратная

корреляционная взаимосвязь между КНТ железом и репликативной активностью вируса. Это нашло отражение в результатах недавних экспериментальных исследований на культуре ткани Huh 7, подтвердивших непосредственное влияние железа на активность РНК-зависимой РНК-полимеразы вируса гепатита С, что приводило к нарушению функции последней [13,14]. В свою очередь наблюдаемое нарастание ферритина в сыворотке крови по мере усиления репликации вируса тоже не противоречило полученным результатам и литературным данным, поскольку этот железосвязывающий протеин, являясь своего рода комплексобразующим элементом, вероятно, выводит свободное железо из циркуляции.

Распределение железа в ткани печени при хронической HCV-инфекции преимущественно происходило в макрофагах (Купферовских клетках и макрофагах воспалительного инфильтрата). Содержание его нарастало по мере прогрессирования заболевания. С одной стороны, это характеризовало срыв компенсаторно-приспособительных возможностей организма, борющегося с HCV-инфекцией, с другой – указывало на активное участие иммунопатологических процессов в патогенезе ХГС на более поздних этапах инфекционного процесса [1, 4]. Данные наблюдения были подтверждены при анализе морфологических и биохимических параметров, характеризующих метаболизм железа. В частности, было установлено, что клиничко-лабораторные изменения обмена микроэлемента у больных ХГС не всегда сопоставимы с морфологическими. Было отмечено, что выявление железа методом Перлса в макрофагах печени и, особенно, в клетках воспалительного инфильтрата, соотносилось с лабораторными сдвигами, характеризующими перегрузку железом. В то же время выявление гранул микроэлемента в печеночных клетках статистически значимо не отражало биохимические изменения в метаболизме железа. Ранее было показано, что снижение репликативной активности вируса происходит по мере увеличения степени фиброза, особенно на поздних его стадиях [1,4]. С учетом вышеизложенного возможность железа влиять на репликацию возбудителя становится обоснованной. Таким образом, лабораторные сдвиги показателей метаболизма железа в сторону перегрузки наблюдались у большинства больных ХГС как на ранних, так и на поздних стадиях заболевания, а морфологические проявления выявлялись лишь на поздних, характеризующих угнетение компенсаторных возможностей организма и активное участие в патогенезе заболевания иммуноопосредованных механизмов повреждения печени.

Мутантные аллели гена наследственного гемохроматоза были выявлены у четверти обследуемых больных ХГС с лабораторными признаками изменения метаболизма железа. Отмечено, что наличие изученных мутаций не влияло на уровни сывороточных железа и ферритина и

не соотносилось с некровоспалительной активностью и стадией заболевания, хотя наличие генотипов C282Y и H63D приводило к достоверному увеличению содержания железа в ткани печени, уменьшению ОЖСС и трансферрина сыворотки крови в пределах референтных значений, что отражало сдвиг гомеостаза в сторону перегрузки организма железом. Учитывая полученные данные, закономерно встает вопрос, являются ли мутации гена HFE основной причиной наблюдаемых сдвигов в гомеостазе железа? Вероятно, нет. Полученные нами результаты показали, что у большинства больных (75%) с повышенным содержанием железа и/или ферритина в сыворотке крови не было выявлено мутаций гена наследственного гемохроматоза. Для обозначения возможных причин изменений в обмене микроэлемента важную роль сыграл анализ динамики уровня железа сыворотки на этапах противовирусного лечения. Так, современная терапия пегилированным интерфероном и рибавирином сопровождалась снижением содержания сывороточного железа независимо от ответа на лечение. Тем не менее, УВО прямо коррелировал с более высоким уровнем железа сыворотки крови до терапии, на ее фоне и через полгода после завершения лечения. В этой связи материал, полученный в ходе настоящего клинического исследования, и экспериментальные данные [13, 14] позволяют нам обсуждать ингибирующее влияние железа на репликацию ВГС, а «синдром перегрузки железом» трактовать как возможные компенсаторно-приспособительные процессы организма в отношении HCV-инфекции, особенно на ее ранних стадиях.

Выводы

1. Сывороточное железо и ферритин сыворотки крови повышены у большинства больных ХГС. При этом железо в ткани печени преимущественно локализуется в клетках макрофагального ряда (Купферовских клетках и макрофагах воспалительного инфильтрата) и нарастает на поздних стадиях заболевания, являясь одним из показателей иммуноопосредованного повреждения ткани печени.

2. Мутантные гетерозиготные аллели гена наследственного гемохроматоза C282Y и H63D, вероятно, не являются основной причиной развития изменений в метаболизме железа, хотя и способствуют сдвигам в сторону перегрузки микроэлементом у больных ХГС.

3. Современная терапия пегилированным интерфероном и рибавирином у пациентов с ХГС сопровождается снижением содержания сывороточного железа независимо от ответа на лечение, тем не менее УВО прямо коррелирует с более высоким уровнем железа сыворотки крови до терапии, на ее фоне и в процессе наблюдения.

4. Наблюдаемые сдвиги в метаболизме железа отчасти сопряжены с более тяжелыми морфологическими изменениями в ткани печени, но, прежде всего, являются компенсаторно-приспособительной реакцией организма в отношении HCV-инфекции, особенно на ее ранних стадиях.

Литература

1. Гусев, Д.А. Хронический гепатит С: течение, прогноз и лечение больных в военно-медицинских учреждениях: Автореф. дис. ... д-ра. мед. наук / Д.А. Гусев. – СПб., 2001. – 46 с.
2. Кулагина, Е.А. Синдром перегрузки железом при хроническом вирусном гепатите С: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / Е.А. Кулагина. – Новосибирск, 2001. – 21 с.
3. Лавров, А.В. Молекулярно-генетическая характеристика наследственного гемохроматоза у российских больных: Автореф. дис. ... канд. мед. наук / А.В. Лавров. – М., 2004. – 31 с.
4. Лобзин, Ю.В. Вирусные гепатиты / Ю.В. Лобзин, К.В. Жданов, В.М. Волжанин, Д.А. Гусев. – СПб.: ИКФ «Фолиант», 2006. – 192 с.
5. Мамаев, С.Н. Показатели метаболизма железа и антиоксидантная активность сыворотки крови у больных хроническим вирусным гепатитом С / С.Н. Мамаев, Е.А. Лукина, Ч.С. Павлов [и др.] // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2003. – Т. 13, №2. – С. 32-37.
6. Шерлок, Ш. Заболевания печени и желчных путей: Практик. руководство / Ш. Шерлок, Д. Джули; Пер. с англ. – М.: Гэотар Медицина, 1999. – 864 с.
7. Casaril, M. Role of iron load on fibrogenesis in chronic hepatitis C / M. Casaril, A.M. Stanzial, P. Tognella, M. Pantalena [et al.] // Hepatogastroenterology. – 2000. – Vol. 47, № 31. – P. 220-225.
8. Corengia, C. Iron accumulation in chronic hepatitis C: relation of hepatic iron distribution, HFE genotype, and disease course / C. Corengia, S. Galimberti, G. Bovo [et al.] // Am. J. Clin. Pathol. – 2005. – Vol. 124, № 6. – P. 846-853.
9. Deugenier, Y. Iron and HCV: the middle age / Y. Deugenier, D. Guyader // Manuscripts of 2nd International Conference on the Management of Patient with Viral Hepatitis. – Paris, 2007. – P. 131-137.
10. Diwakaran, H.H. Accelerated hepatic fibrosis in patients with combined hereditary hemochromatosis and chronic hepatitis C infection / H.H. Diwakaran, A.S. Befeler, R.S. Britton [et al.] // J. Hepatol. – 2002. – Vol. 36, № 5. – P. 687-691.
11. Erhardt, A. HFE mutations and chronic hepatitis C: H63D and C282Y heterozygosity are independent risk factors for liver fibrosis and cirrhosis / A. Erhardt, A. Maschner-Olberg, C. Mellenthin [et al.] // J. Hepatol. – 2003. – Vol. 38, № 3. – P. 335-342.
12. Fabris, C. Serum iron indices as a measure of iron deposits in chronic hepatitis C / C. Fabris, P. Toniutto, C.A. Scott [et al.] // Clin. Chim. Acta. – 2001. – Vol. 304, 1-2. – P. 49-55.
13. Fillebeen, C. Expression of the subgenomic hepatitis C virus replicon alters iron homeostasis in Huh7 cells / C. Fillebeen, M. Muckenthaler, B. Andriopoulos [et al.] // Hepatol. – 2007. – Vol. 47, 1. – P. 12-22.
14. Fillebeen, C. Iron inactivates the RNA polymerase NS5B and suppresses subgenomic replication of hepatitis C virus / C. Fillebeen, A. Rivas-Estilla, M. Bisailon // The Journal of biological chemistry. – 2005. – Vol. 280, №10. – P. 9049-9057.
15. Guyader, D. Liver iron is a surrogate marker of severe fibrosis in CHC / D. Guyader, A. Thirouard, H. Erdtmann [et al.] // J. of Hepatology. – 2007. – Vol. 46, № 4. – P. 587-595.
16. Ladero, J.M. HFE gene mutations, hepatic iron content, and histological severity in hepatitis C virus-induced chronic hepatitis / J.M. Ladero P. Ropero, L. Ortega [et al.] // Rev. Esp. Enferm. Dig. – 2003. – Vol. 95, № 12. – P. 829-836.
17. Martinelli, A.L. Are haemochromatosis mutations related to the severity of liver disease in hepatitis C virus infection? / A.L. Martinelli, R.F. Franco, M.G. Villanova [et al.] // Acta Haematol. – 2000. – Vol. 102, № 3. – P. 152-156.
18. Rigamonti, C. Iron, hepatic stellate cells and fibrosis in chronic hepatitis C / C. Rigamonti, S. Andorno, E. Maduli [et al.] // Eur. J. Clin. Invest. – 2002. – Vol. 32, Suppl. 1. – P. 28-35.
19. Thorburn, D. The role of iron and haemochromatosis gene mutations in the progression of liver disease in chronic hepatitis C / D. Thorburn, G. Curry, R. Spooner [et al.] // Gut. – 2002. – Vol. 50, № 2. – P. 248-252.

ЖЕЛЕЗО И ПАТОГЕНЕЗ ХРОНИЧЕСКОГО
ГЕПАТИТА СК.В. ЖДАНОВ, Д.А. ГУСЕВ, В.С. ЧИРСКИЙ,
К.В. КОЗЛОВ, А.В. ШКУРО, А.В. ЛАВРОВ

Сывороточные концентрации железа, ферритина, коэффициент насыщения трансферрина железом повышены у большинства больных хроническим вирусным гепатитом С (ХГС). Изменения в метаболизме железа ассоциируются с неблагоприятным течением ХГС, плохим ответом на противовирусную терапию.

У 111 больных ХГС (84 мужчин и 27 женщин, средний возраст $33 \pm 1,5$ года) выполнены исследования крови, включающие определение сывороточных концентраций железа, трансферрина, ферритина, церулоплазмина, гаптоглобина, общей железосвязывающей способности сыворотки. Рассчитан коэффициент насыщения трансферрина железом. Выполнена биопсия печени. Гепатобиоптаты окрашивались по методу Перлса. Проводились генетические тесты на носительство мутантных аллелей гена наследственного гемохроматоза C282Y и H63D.

Установлено, что железо и ферритин сыворотки крови повышены у большинства пациентов с ХГС. Сывороточные маркеры обмена железа статистически значимо изменялись на стадиях заболевания и в зависимости от степени активности ХГС. Накопление железа в ткани печени преимущественно происходило в макрофагах, при этом мутации гена HFE усиливали его накопление. Повышение уровня сывороточного железа, вероятно, представляет собой компенсаторно-приспособительную реакцию организма человека на HCV-инфекцию.

Ключевые слова: гепатит С, метаболизм железа, гемохроматоз

IRON AND PATHOGENESIS OF CHRONIC
HEPATITIS CZHDANOV K.V., GUSSEV D.A., CHIRSKY V.S.,
KOZLOV K.V., SHKURO A.V., LAVROV A.V.

Serum iron and ferritin concentration, factor of transferrin saturation with iron are increased at the majority of patients with chronic viral hepatitis C. Changes in metabolism of iron associate with adverse current of chronic hepatitis C, the bad answer on antiviral therapy.

In 111 patients with chronic hepatitis C (84 men and 27 women, middle age - $33 \pm 1,5$ years) the researches of blood including definition of serum iron, transferrin, ferritin, ceruloplasmin, haptoglobin concentration, the general ferroconnecting ability of serum are carried out. The factor of transferrin saturation with iron is calculated. Liver biopsy was made. Hepatobiopates were painted by Perls' method. Genetic tests on carrying mutant alleles of a gene of hereditary hemochromatosis C282Y and H63D were carried out.

It is established, that iron and ferritin blood serums are increased at the majority of patients with chronic hepatitis C. Serum markers of iron exchange statistically significantly were changed at stages of disease and depending on a degree of activity of chronic hepatitis C. Accumulation of iron in a liver tissue mainly occurred in macrophages, thus mutations of HFE-gene strengthened its accumulation. Increase of a level of serum iron, probably, represents compensatory-adaptive reaction of the person's organism to HCV-infection.

Key words: hepatitis C, a metabolism of iron, hemochromatosis