

З.В. Осадчук, Г.Р. Акоюн, Г.В. Макух, І.Б. Ковалів, Н.І. Кіцера, Н.М. Ячмінська
ДУ «Інститут спадкової патології НАМН України», Львів

Комплексна діагностика спадкового гемохроматозу

Комплексна діагностика спадкового гемохроматозу має базуватися на селективному скринінгу пацієнтів із хронічною гепатобіліарною патологією з урахуванням розроблених критеріїв. Результатом проведених досліджень стало виявлення у 21,6% хворих мінорної мутації H63D гена гемохроматозу (HFE) у гетерозиготному стані, а у 2,7% — мінорної мутації H63D гена HFE у гомозиготному стані (H63D/H63D), що є вагомим доказом спадкового гемохроматозу. Запровадження тестування генетичних маркерів схильності до спадкової патології людини, зокрема до спадкового гемохроматозу, є перспективним напрямком, який необхідно розвивати.

Ключові слова: гемохроматоз, молекулярно-генетична діагностика, рідкісні захворювання, спадкові хвороби, хронічна печінкова патологія.

Вступ

Висока заінтересованість лікарів різного фаху проблемою раннього виявлення гемохроматозу визначає актуальність вивчення та запровадження нових сучасних методів діагностики цього спадкового захворювання, які допоможуть фахівцям запобігти тяжким наслідкам патології та інвалідизації хворих.

Гемохроматоз (синоніми: пігментний цирроз, бронзовий діабет, сидерофілія, синдром Труазье — Ано — Шоффара) — спадкове захворювання, яке характеризується порушенням обміну залізовмісних пігментів, підвищенням всмоктуванням у кишечнику заліза та накопиченням його у тканинах і органах із подальшим розвитком органічних змін (Ефимов А.С., 2005; Greene C.M. et al., 2013).

За етіологією гемохроматоз можна класифікувати на первинний (розлад успадкований або генетично детермінований) та вторинний (захворювання, набуто протягом життя). У чоловіків клінічні прояви з'являються переважно у зрілому віці 30–50 років, у жінок — >50 років. У популяції домінує мало- та безсимптомний перебіг захворювання. Якщо діагноз вчасно не встановлено та не розпочато необхідне лікування, залізо інтенсивно накопичується у тканинах і органах, що може призвести до печінкової недостатності, панкреопатії, діабету, порушення серцевого ритму, артропатії, імпотенції, ранньої менопаузи, недостатності щитоподібної залози (Fracanzani A.L. et al., 2010; Осадчук З.В. та співавт., 2011).

Гемохроматоз частіше діагностують у осіб чоловічої статі. Здебільшого наслідки прискореної кишкової абсорбції заліза та його накопичення у різних тканинах клінічно проявляються у зрілому віці (Edwards C.O., 2007). У дітей частіше діагностують первинний спадковий гемохроматоз (Bardou-Jacquet E. et al., 2013). Вторинний гемохроматоз може виникати на фоні інтенсивної терапії препаратами заліза та після чисельних гемотрансфузій (Inadomi J.M., Kowdley K.V., 2009).

Найчастіше первинний гемохроматоз пов'язаний із двома мутаціями в гені ге-

мохроматозу (HFE) — C282Y та H63D. Ген HFE кодує протеїн, схожий за будовою до молекул 1-го класу головного комплексу гістосумісності, що взаємодіє з рецептором трансферину і регулює всмоктування заліза у петлях тонкого кишечника (Inadomi J.M., Kowdley K.V., 2009).

Причини захворювання, пов'язані з мутаціями в інших генах і згруповані у своєрідну категорію «некласичного спадкового гемохроматозу», відзначають рідше.

До цієї категорії належать:

- гемохроматоз типу 2A (неповнолітній);
- гемохроматоз типу 2B (підлітків);
- гемохроматоз типу 3;
- гемохроматоз типу 4 (африканська форма);
- неонатальний гемохроматоз;
- ацерулоплазмінемія (дуже рідкісна);
- вроджена атрансферинемія (дуже рідкісна);
- GRACILE синдром (дуже рідкісний).

Більшість типів спадкового гемохроматозу успадковуються за аутосомно-рецесивним типом, лише 4-й тип — аутосомно-домінантним шляхом (Habt E., 2006).

За клінічним перебігом гемохроматоз має: латентну форму, незначні (неспецифічні) прояви, або тяжкий перебіг (у дорослих — нелікований випадок, у дітей — неонатальний гемохроматоз) (Hanson E., Burke W., 2009).

Якщо виникає підозра на гемохроматоз, необхідно проводити первинні дослідження, а саме: детальну оцінку сімейного анамнезу щодо різної патології печінки у родичів (ідіопатичного гепатиту, цирозу та раку), особливо в поєднанні з високим рівнем (до 40%) смертності цих хворих у молодому віці (до 50 років); діагностичні лабораторні тести для визначення концентрації заліза в організмі, зокрема рівня феритину та сатурації трансферину.

За умов підвищеної концентрації заліза у крові необхідно застосовувати такі діагностичні методи: магнітно-резонансна томографія — для виявлення підвищеного депонування заліза в печінці; біопсія з подальшим гістологічним дослідженням тканини печінки; найбільш точне сучасне

обстеження — молекулярно-генетичне дослідження (Inadomi J.M., Kowdley K.V., 2009; ElMBERG M. et al., 2012).

Молекулярно-генетичне тестування гена HFE дозволяє підтвердити клінічний діагноз гемохроматозу у дітей чи дорослих на доклінічній стадії захворювання, особливо, якщо відомі випадки захворювання серед членів сім'ї. Досліджувані алелі гена HFE у 80% випадків свідчать про гемохроматоз у пацієнтів, проте варто зазначити, що негативний результат на наявність мутацій у гені HFE не виключає захворювання на гемохроматоз.

Виявлення мутації C282Y гена HFE вказує на більш тяжкі наслідки, а генотип C282Y/C282Y має найбільшу пенетрантність. Однак у значної частини носіїв цього генотипу хвороба не маніфестує. Особи носії генотипів C282Y/H63D і H63D/H63D також мають підвищений ризик інтенсивного накопичення заліза, однак хвороба маніфестує у <1% таких осіб. Отже, ізолювано генетичні тести на гемохроматоз визначають швидше можливість захворювання, ніж саме захворювання (Felitti V.J. et al., 2005; Leão G.D. et al., 2014).

Для діагностики гемохроматозу необхідне попереднє проведення базових досліджень:

- клінічний аналіз крові (гемоглобін при гемохроматозі знаходиться в межах норми);
- біохімічні дослідження функції печінки та підшлункової залози, серцево-судинної системи, опорно-рухового апарату, функції щитоподібної залози (рівень печінкових ферментів (аланінамінотрансфераза (АлАТ), аспартатамінотрансфераза (АсАТ)), рівень лужної фосфатази (ЛФ), протеїнограма, коагулограма, показники ліпідних фракцій, рівень глюкози в крові, гострофазові показники, рівень гормонів щитоподібної залози (тиреотропний гормон, вільний тироксин (Т4)) тощо);
- ультразвукове дослідження (УЗД) печінки, підшлункової залози, серця, щитоподібної залози;
- електрокардіограма (ЕКГ);
- рентенографія суглобів та грудної клітки;

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

Усі додаткові лабораторні та інструментальні дослідження залежать від перебігу та симптомів захворювання (Felitti V.J. et al., 2005; Inpadomi J.M., Kowdley K.V., 2009).

У молодому віці гемохроматоз здебільшого має безсимптомний перебіг (латентну форму), хоча можливі й неспецифічні клінічні прояви: загальна слабкість і швидка втомлюваність; астенія; носові кровотечі; артралгія; гіперпигментація шкіри і слизових оболонок; кардіоміопатія, аритмія, серцева недостатність; абдомінальний біль; цукровий діабет; зниження функції щитоподібної залози; алопеція; ураження нервової системи (Felitti V.J. et al., 2005; Creighton Mitchell T., McClain D.A., 2014).

Якщо гемохроматоз не діагностований на ранньому етапі розвитку хвороби, то за відсутності адекватного лікування це може призвести до тяжких клінічних проявів та ускладнень — цирозу печінки, серцевої недостатності, діабету, артриту та гепатоцелюлярної карциноми (Inpadomi J.M., Kowdley K.V., 2009; Kew M.C., 2014).

Об'єкт і методи дослідження

Проведено комплексну діагностику спадкового гемохроматозу після селективного скринінгу випадків хронічної печінкової патології за допомогою молекулярно-генетичного, клінічного, клініко-генеалогічного та медико-статистичного методів дослідження.

За допомогою методу полімеразної ланцюгової реакції, рестрикційного аналізу та електрофорезу в агарозному гелі проведено молекулярно-генетичне дослідження мутацій *C282Y* та *H63D* гена *HFE*. Сигнали порівнювали з маркерами довжин та детектували розміри отриманих фрагментів.

Результати та їх обговорення

Проведено комплексний аналіз клініко-параклінічних та клініко-генеалогічних даних 85 хворих, здебільшого дорослого віку, із хронічною гепатобілярною та поєднаною патологією, які перебували на стаціонарному лікуванні у гастроентерологічних відділеннях лікарень міста Львова протягом 2011–2013 рр. Усім пацієнтам проведено клінічний огляд, проаналізовано лабораторні, інструментальні дослідження та спадкові особливості. Під час вивчення сімейного анамнезу хворих звертали увагу на наявність хронічного гепатиту, цирозу печінки та онкологічної патології печінки у родичів. Врахування комплексу клініко-параклінічних ознак та спадкових особливостей обстежених дозволило сформувати підгрупу пацієнтів, яким доцільно було провести селективний скринінг за допомогою визначення рівня заліза у сироватці крові. Підвищена концентрація заліза у сироватці крові дозволяла із високою ймовірністю очікувати позитивні результати молекулярно-генетичних досліджень на спадковий гемохроматоз.

Згідно із зібраним анамнезом, найчастіше пацієнти скаржилися на загальну слабкість (81%), біль у суглобах (73%), частий біль у животі (73%), головний біль (62%) та підвищену втомлюваність (57%).

При клінічному огляді хворих групи ризику найчастіше виявляли збільшення розмірів печінки під час пальпації (87%), пигментацію шкірних покривів (63%), збільшення розмірів селезінки (58%), збільшення щитоподібної залози при пальпації (58%).

За даними УЗД виявлено, що найчастіше у хворих спостерігалися ехографічні ознаки збільшення розмірів та/чи структурних змін печінки (92%), патологічних змін жовчного міхура (85%), дифузного зоба та/чи зміни структури щитоподібної залози (67%).

Аналіз лабораторних даних свідчив про підвищення рівня ЛФ (74%), АлАТ (72%), АсАТ (72%), відхилення даних коагулограми (70%), зміни на ЕКГ (66%) та зміну функціональних показників щитоподібної залози (60%), що було підтвердженням виявленої хронічної печінкової патології та тиреопатії.

Клініко-генеалогічні дослідження базувалися на ретельно зібраному сімейному анамнезі пацієнтів із врахуванням захворювань печінки у родичів (хронічної печінкової недостатності, особливо — неперифікованого гепатиту, цирозу та онкологічної патології печінки). У 57% обстежених хворих із відібраної групи відзначали обтяжений сімейний анамнез щодо патології печінки, з них у 16% обстежених родичі хворіли на цироз печінки. Додатково зазначимо, що у сімейному анамнезі 42% хворих виявлено патологію щитоподібної залози, 37% — серцево-судинні захворювання, 28% — захворювання опорно-рухового апарату.

На основі проаналізованих вищенаведених ознак та спадкових особливостей хворих сформовано підгрупу пацієнтів, яким було доцільно провести визначення рівня заліза в сироватці крові для селективного скринінгу. Підвищена концентрація заліза в сироватці крові дозволяла із високою ймовірністю очікувати позитивних результатів молекулярно-генетичних досліджень гемохроматозу. Оскільки певним недоліком визначення феритину (як індикатора накопичення заліза) є підвищення його рівня при інших захворюваннях печінки та нирок, важливим додатковим лабораторним критерієм визначення рівня заліза в організмі є сатурація трансферину.

У 37 (43%) хворих основної групи ($n=85$) проведено аналіз на вивчення концентрації заліза в сироватці крові. У 17 (46%) пацієнтів цієї підгрупи рівень заліза в сироватці крові перевищував норму, у 8 (21,6%) пацієнтів за допомогою молекулярно-генетичної детекції виявлено мінорну мутацію *H63D* гена *HFE* у гетерозиготному стані. В одному випадку (2,7%) — виявлено мінорну мутацію *H63D* гена *HFE* у гомозиготному стані (*H63D/H63D*), що є беззаперечним доказом спадкового гемохроматозу. Опис цього випадку наведено нижче.

Хвора М. (2000 р.н.), яка проживає у Львівській області, госпіталізована

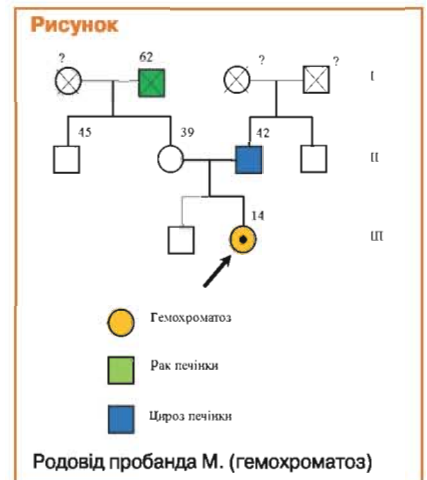
у Львівську обласну дитячу клінічну лікарню зі скаргами на періодичну нудоту, поганий апетит, біль у ділянці правого підребер'я. Хворіє протягом 3 років, неодноразово перебувала на стаціонарному лікуванні у гастроентерологічному відділенні районної лікарні, де їй встановлено діагноз: хронічний гастродуоденіт із підвищеною кислотоутворюючою функцією, дискінезія жовчовивідних шляхів за гіпокінетичним типом. Відповідне лікування давало ефект лише протягом 1–2 міс.

Під час огляду у хворої виявлено незначну блідість шкірних покривів, білий наліт на язичі, болючість під час пальпації у ділянці правого підребер'я. Печінка виступала нижче реберної дуги на 1,5 см. У визначених лабораторних та біохімічних показниках крові (АлАТ, АсАТ, ЛФ, гамма-глутамілтрансфераза, білірубін фракційно, протеїнограма, іонограма, креатинін, сечовина, ревмопроби, холестерин) — патологічних відхилень не виявлено. При УЗД внутрішніх органів встановлено незначне збільшення розмірів печінки та посилення ехо-сигналів від її паренхіми, ознаки збільшення розмірів жовчного міхура, розмір та структура щитоподібної залози — без особливостей; фіброгастродуоденоскопія — еритематозна гастродуоденопатія, рН-метрія — підвищена кислотоутворююча функція; ЕКГ — без особливостей. Для виключення інфекційного гепатиту визначено імуноглобуліни М (IgM) до вірусу гепатиту А (HAV), IgM до поверхневого антигену вірусу гепатиту В (HBsAg), сумарні антитіла до вірусу гепатиту С (HCV) і HBsAg — не відхилялися від норми.

Проведені дослідження підтвердили попередні діагнози: хронічний гастродуоденіт із підвищеною кислотоутворюючою функцією, дискінезія жовчовивідних шляхів за гіпокінетичним типом.

Зазначимо обтяжений сімейний анамнез хворої щодо гепатобілярної патології. За допомогою клініко-генеалогічного аналізу в родичів різного ступеня спорідненості (у батька дитини та діда по лінії матері) були відзначені випадки цирозу та раку печінки (рисунк).

Комплекс проведених досліджень дозволив зарахувати цю пацієнтку до групи ризику щодо гемохроматозу та провести селективний скринінг у вигляді визначення



заліза у сироватці крові. Рівень заліза у сироватці крові становив 29 ммоль/л, що перевищувало норму (для жінок — 10–20 ммоль/л). Сатурація трансферину становила 38%.

Підвищений рівень заліза у сироватці крові та межовий рівень сатурації трансферину у крові були підставою для проведення молекулярно-генетичного аналізу мутацій *C282Y* та *H63D* гена *HFE*. У результаті молекулярно-генетичної детекції у пацієнтки виявлено мінорну мутацію *H63D* гена *HFE* у гомозиготному стані (*H63D/H63D*).

Беручи до уваги молекулярно-генетичне підтвердження спадкового гемохроматозу, гастроентерологом було призначено відповідне лікування: дієта, багата на білок, з обмеженням продуктів, що містять залізо (м'ясо, риба, яйця, яблука), регулярні флеботомії (1 раз на тиждень) та хелатори, які зв'язують залізо та виводять його з організму. Завдяки лікуванню, стан хворої значно покращився: контрольний рівень заліза у сироватці крові знизився до норми (15 ммоль/л), значно підвищилась активність, зникли ознаки інтоксикації, біль у правій підреберній ділянці перестав турбувати.

Використання нових генетичних маркерів зробило діагностику гемохроматозу більш комплексною, що покращило якість лікування та допомогло уникнути інвалідизації хворої.

Отже, на сьогодні ефективна профілактика розвитку та ускладнень захворювання базується на ретельно зібраному сімейному анамнезі та молекулярно-генетичному обстеженні хворого та його родичів.

Висновки

1. Серед відібраних за допомогою селективного скринінгу випадків захворювання, у 21,6% хворих (за допомогою молекулярно-генетичної детекції) виявлено мінорну мутацію *H63D* гена *HFE* у гетерозиготному стані, а в 2,7% — мінорну мутацію *H63D* гена *HFE* у гомозиготному стані (*H63D/H63D*), що є вагомим доказом спадкового гемохроматозу.

2. Проведені дослідження показали, що основними критеріями відбору хворих до групи підвищеного ризику щодо гемохроматозу мають бути: хронічна печінкова патологія, відповідна спадкова обтяженість у родині пробанда, певні клініко-параклінічні зміни та підвищений рівень заліза у сироватці крові пацієнтів.

3. Запровадження тестування генетичних маркерів схильності до спадкового гемохроматозу — перспективний напрямок, який необхідно продовжувати розвивати і впроваджувати у клінічну практику спеці-

лізованих центрів та гастроентерологічних і терапевтичних відділень лікарень України.

Список використаної літератури

- Ефимов А.С.** (2005) Энциклопедия семейного врача. Т. 2, Здоров'я, Київ, 277с.
- Осадчук З.В., Акопян Г.Р., Білевич О.Б. та ін.** (2011) Клініко-генетичні дослідження випадків хронічної печінкової патології з ризиком розвитку спадкового гемохроматозу. Сучас. гастроентерол., 4: 20–25.
- Bardou-Jacquet E., Cunat S., Beaumont-Epinette M.P. et al.** (2013). Variable age of onset and clinical severity in transferrin receptor 2 related haemochromatosis: novel observations. Br. J. Haematol., 162(2): 278–281.
- Creighton Mitchell T., McClain D.A.** (2014) Diabetes and hemochromatosis. Curr. Diab. Rep., 14(5): 488.
- Edwards C.O.** (2007) Screening for hemochromatosis. N. Engl. J. Med., 7: 158–163.
- Elmberg M., Hultcrantz R., Simard J.F. et al.** (2012) Risk of ischaemic heart disease and cardiomyopathy in patients with haemochromatosis and in their first-degree relatives: a nationwide, population-based study. J. Intern. Med., 272(1): 45–54.
- Felitti V.J., Beutler E.H., Koziol J.A. et al.** (2005) Penetrance of 845G→A(C282Y) HFE hereditary haemochromatosis mutation in the USA. Lancet, 559: 211–218.
- Fracanzani A.L., Piperno A., Valenti L. et al.** (2010) Hemochromatosis in Italy in the last 30 years: role of genetic and acquired factors. Hepatol., 51: 501–510.
- Greene C.M., Varley R.B., Lawless M.W.** (2013) MicroRNAs and liver cancer associated with iron overload: therapeutic targets unravelled. World J. Gastroenterol., 19: 5212–5226.
- Habot E.** (2006) International consensus for screening of hereditary hemochromatosis. Ann. Intern. Med., 133: 181–187.
- Hanson E., Burke W.** (2009) HFE gene and hereditary hemochromatosis: a HuGE review. Am. J. Epidemiol., 258: 193–196.
- Inadomi J.M., Kowdley K.V.** (2009) Screening for hereditary hemochromatosis in siblings and children of affected patients. A cost-effectiveness analysis. Ann. Intern. Med., 152: 261–269.
- Kew M.C.** (2014) Hepatic iron overload and hepatocellular carcinoma. Liver Cancer, 3(1): 31–40.
- Leão G.D., Freire J.M., Cunha Fernandes A.L. et al.** (2014) Analysis of HFE genes C282Y, H63D, and S65D in patients with hyperferritinemia from northeastern Brazil. J. Clin. Lab. Anal., 28(3): 178–185.

Комплексная диагностика наследственного гемохроматоза

З.В. Осадчук, Г.Р. Акопян, Г.В. Макух, И.Б. Ковалив, Н.И. Кицера, Н.М. Ячминская

Резюме. Комплексная диагностика наследственного гемохроматоза должна ба-

зириваться на селективном скрининге пациентов с хронической гепатобилиарной патологией, учитывая разработанные критерии. Результатом проведенных исследований явилось выявление у 21,6% больных мінорной мутації *H63D* гена гемохроматоза (*HFE*) в гетерозиготном состоянии, а у 2,7% — мінорной мутації *H63D* гена *HFE* в гомозиготном состоянии (*H63D/H63D*), что является весомым доказательством наследственного гемохроматоза. Внедрение тестирования генетических маркеров склонности к наследственным заболеваниям человека, в частности к наследственному гемохроматозу, является перспективным направлением, которое необходимо развивать.

Ключевые слова: гемохроматоз, молекулярно-генетическая диагностика, редкие заболевания, наследственные болезни, хроническая печеночная патология.

Complex diagnostics of hereditary hemochromatosis

Z.V. Osadchuk, G.R. Akopian, G.V. Makukh, I.B. Kovaliv, N.I. Kitsera, N.M. Yachmincka

Summary. Complex diagnosis of hereditary hemochromatosis should be based on the selective screening of patients with chronic hepatobiliary disorders incl developed criteria. The result of the research was to identify in 21.6% of patients with minor mutations *H63D* hemochromatosis gene (*HFE*) in the heterozygous state as well. 2.7% — minor mutation *H63D* *HFE* gene in the homozygous state (*H63D/H63D*), which is strong evidence of hereditary hemochromatosis. The introduction of genetic marker testing susceptibility to hereditary diseases awareness of the hereditary hemochromatosis, is a promising area that needs to be developed.

Key words: hemochromatosis, molecular genetic diagnosis of rare diseases, hereditary diseases, chronic liver disorders.

Адреса для листування:

Осадчук Зоряна Василівна
79000, Львів, МСП-169,
вул. Лисенка, 31 А
ДУ «Інститут спадкової патології
НАМН України»
E-mail: nkitsera@gmail.com

Одержано 30.06.2014