УДК 616-008.9:616.15:616.36-Б 181

# ВТОРИЧНЫЕ ПЕЧЕНОЧНЫЕ ПОРФИРИИ У БОЛЬНЫХ С НАСЛЕДСТВЕННЫМ HLA-АССОЦИИРОВАННЫМ ГЕМОХРОМАТОЗОМ

**Байтаева Д.А.**

*Азербайджанский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии им. Б.А. Эйвазова, Баку, e-mail: kbrussia@yaboo.com*

Проведено исследование ведущих показателей метаболизма порфиринов и железа в сопоставлении с функциональным состоянием печени у 100 больных с гемохроматозом (ГХ), в динамике. Дана объективная оценка их роли в своевременной и правильной постановке вторичной печеночной порфирии на ранних этапах развития патологического процесса. Порфириновый обмен при наследственном гемохроматозе (НГХ) характеризуется глубоко нарушенными и нестабильными показателями, затрагивающими все этапы синтеза гема гемоглобина (Hb). У больных с НГХ и с сопутствующими поздней кожной порфирией (ПКП) и инфекционными вирусными гепатитами В и С, независимо от типа мутации гена HFE (C289Y или H63D) изменения в обмене железа коррелируют с нарушенным синтезом аминолевулиновой кислоты (АЛК) и порфобилиногена (ПБГ). У больных диагностическую ценность в определении функционального состояния печени наряду с трансаминазами представляет исследование экскреции копропорфирина (КП) с мочой. Выявленные изменения в порфириновом обмене при гомозиготной форме НГХ носят постоянный, часто необратимый характер, ухудшая прогноз заболевания.

**Ключевые слова: наследственный гемохроматоз, порфобилиноген, аминолевулиновая кислота, поздняя кожная порфирия, копропорфирин, протопорфирин, уропорфирин, вторичный гемохроматоз**

# PATİENTS WITH GENETIC HEMOCHROMATOSIS HLA-ASSOCIATED ALONG WITH THE SECONDARY HEPATIC POPHYRIA

**Baytayeva D.A.**

*Azerbaijan Institute of Scientific-Researching of Hematology and Transfuziology, Baku, e-mail: kbrussia@yaboo.com*

A hundred of patients with hemochromatosis have been tested to analyze porphyrin and ferrum metabolism key figures versus liver functional status in the course of disease. An objective evaluation of their role in a timely and correct diagnosis at an early stage of pathogenesis has been given. Porphyrin metabolism of the patients with genetic hemochromatosis is characterized by very defective and unstable rates affecting all the stages of hemoglobin (Hb) synthesis. For such patients with associated end-plate potentials (EPPs) and viral B and C hepatitis, regardless of the HFE (C289Y или H63D) gene mutation type, the change in ferrum metamolism correlates with the defective aminolevulinic acid and porphobilinogen synthesis. The analysis of the coproporphyrin excreted in the urine has a diagnostic value for the determination of the liver functional status during genetic hemochromatosis. The detected changes in the porphyrin metabolism along with the homozygous genetic hemochromatosis are permanent and often irreversible, which indicates an unfavorable prognosis for a disease. A group of patients with the secondary or acquired genetic hemochromatosis has ben examined as a comparison.

**Keywords: genetic hemochromatosis, porphobilinogen, aminolevulinic acid, porphyria cutanea tarda, coproporphyrin, protoporphyrin, uroporphyrin, secondary hemochromatosis**

В последние годы возрос интерес к проблеме перегрузки организма железом, в частности к наследственному HLA-ассоциированному гемохроматозу (НГХ). Патология тяжелая и диагностируется не только как самостоятельное заболевание, но и осложнение, например при сахарном диабете, циррозе печени, гемоглобинопатиях и поздней кожной порфирии (ПКП). Это на сегодня малоизученная проблема, особенно при сочетании НГХ с другими наследственными аномалиями эритрона. В доступной литературе недостаточно полно освещены вопросы о метаболизме порфиринового обмена при НГХ в связи с функциональным состоянием печени [3, 8, 9]. НГХ патология с аутосомно-рецессивным типом наследования. Ген, ответственный за НГХ расположен на коротком плече 6-й хромосомы и тесно связан с локусом HLA [4, 5, 10]. Существует высокая ассоциация ГХ с антигенами HLA-Ф3, B7 и B14 и гаплотипами A3/B7 и A3/B14 [6, 10]. На основании анализа HLA-A аллелей получены определенные доказательства связи НГХ с наследственными аномалиями крови – ПКП и β-талассемией. Не исключается, что пациенты с β-талассемией могут иметь мутацию в гене HFE (C282Y и H63D). При этих патологических состояниях наблюдается повышение HLA-B7, либо HLA-A3[2-4]. Около 0,5 % кавказоидов гомозиготны по главной мутации НГХ (C282Y) и приблизительно 13 % являются гетерозиготными носителями данной мутации [3]. У больных почти в 85 % случаях страдает печень, с переходом в дальнейшем в цирроз, либо в гепатоцеллюлярную карциному. Появляются устойчивые признаки ранней инвалидности или заболевание заканчивается летальным исходом в трудоспособном возрасте [1, 7, 9].

Исходя из вышеизложенного, целью настоящей работы явилось с помощью определения основных показателей порфиринового обмена изыскать и предложить к практическому применению дополнительные диагностические тесты, характеризующие функциональное состояние печени при НГХ, с тем чтобы предупредить развитие у больных вторичной печеночной порфирии.

## Материал и методы

Обследовано 100 больных с гемохроматозом (ГХ). Гомозиготная форма заболевания была у 26 (1-я группа) и гетерозиготная у 47 пациентов, причем у 10 в сочетании с ПКП (2-я группа) и у 37 без нее (3-я группа). Для сравнения создана группа из 27 больных со вторичным. приобретенным ГХ (4-я группа), у которых нарушения в обмене железа были связаны с неэффективным эритропоэзом, с частыми гемотрансфузиями без применения хелаторных средств, а также с ошибочным назначением препаратов железа. В группу вошли больные с сахарным диабетом и гематологическими заболеваниями. Среди обследуемых мужчин было 81, женщин 19. Возраст больных от 30 до 40 лет для выявления заболевания считался наиболее вероятным, так как к этому периоду пациенты гомозиготные по гену НГХ уже содержали железо более 30-40 г. Гомозиготные женщины имели преимущество из-за защитного действия менструального цикла и беременности. У больных подробно собран анамнез и проведен общий соматический осмотр. Исследовался общий анализ крови с эритроцитарными параметрами, определялись общий билирубин в сыворотке крови, аланин и аспартатаминотрансфераза, щелочная фосфатаза, тимоловая проба. Критериями перегрузки железом были показатели сывороточного железа (СЖ) больше 35 мкмоль/л., коэффициента насыщения трансферрина железом более 50 % и сывороточного ферритина (СФ) равного 300 нг/мл и более. Эти параметры служили в качестве отборочного теста для проведения последующей дифференциальной диагностики наследственного и вторично приобретенного ГХ. Наряду с показателями обмена железа исследовались предшественники порфиринового обмена- δ-аминолевулиновая кислота (АЛК) и порфобилиноген (ПБГ), а также свободные эритроцитарные уропорфирин (УП), копропорфирин (КП) и протопорфирин (ПП). В моче определялась экскреция УП и КП, а в кале уровень КП и ПП. Проводилась пункционная биопсия печени и магнитно-резонансная томография (МРТ). Там где клинической течение НГХ осложнялось присоединением инфекционных вирусных гепатитов В или С исследовались сывороточные маркеры вирусоносительства. С помощью ПЦР диагностики у 38 больных обнаружена мутация в 2 аллелях гена НГХ и у 13 в одном, которая приводила к аминокислотной замене C282Y. Мутация гена НГХ с аминокислотной заменой H63D имела место у 20 больных. Изучение HLA способствовало своевременному выявлению носительства гена НГХ при ПКП и β талассемии и осуществлению лечебно-профилактических мероприятий по определению прогноза заболеваемости в популяции.

## Результаты и обсуждение

Состояние 68 больных с НГХ оценивалось как компенсированное, средней тяжести и у 22 декомпенсированное тяжелое. У 10 больных с НГХ и ПКП имелись рубцовые изменения на открытых участках тела, связанные с повышенной фотосенсибилизацией кожи из-за скопления в эпидермисе неиспользованных продуктов порфиринового обмена. Гепатоспленомегалия определялась в 72 случаях НГХ. Независимо от типа мутации нарушения в работе печени имелись у всех больных и особенно у 64 пациентов с НГХ, у которых заболевание осложнилось ПКП и инфекционными вирусными гепатитами В и С. У больных как до, так и после определялась высокой активность трансаминаз (АЛТ 68,3 ± 3,5 МЕ/л. и 42,1 ± 1,9 МЕ/л.; АСТ 39,0 ± 1,5 МЕ/л. и 30,6 ± 1,3 МЕ/л.). Тест совпадал с нарушенной экскрецией АЛК и ПБГ, свидетельствуя об изменениях в работе печени. Вывод подтверждался результатами биопсии печени и МРТ. У 26 больных выявлен портальный цирроз печени. В остальных случаях НГХ и особенно у больных 4 группы, незначительно повышенные показатели АЛТ и АСТ, до лечения ближе к выписке уменьшились, в среднем соответствуя норме. Тест совпадал с повышенной экскрецией КП с мочой. Последний наряду с трансаминазами можно отнести к чувствительным диагностическим тестам в определении функционального состояния печени при НГХ. При гомозиготной НГХ синтез АЛК и ПБГ зависел от состояния печени, которая определялась нарушенной из-за гемосидероза и вирусных гепатитов В и С (таблица)

В группе из 26 больных 10 были инфицированы гепатитом В и у них уровень АЛК определялся ниже нормы, по сравнению с 6 пациентами, у которых в крови был обнаружен вирусный гепатит С. У них количество АЛК в моче незначительно превышало норму, равняясь ей у остальных 10 пациентов. Поэтому, до лечения, в 1 группе величина АЛК в среднем достоверно отличалась от контрольных данных и показаний в остальных 3-х группах. Сниженная концентрация АЛК в 1-й группе, как до так и после лечения коррелировала со сниженным уровнем ПБГ. Во 2-й и 3-й группах, где из 47 пациентов с НГХ 18 были инфицированы гепатитом С и 9 гепатитом В, до лечения, средняя концентрация АЛК в моче превышала норму. В этом дополнительную роль сыграло присоединение ПКП. Несмотря на проведенную комплексную терапию, которая включала в себя сеансы флеботомий и плазмафереза, десфералотерапию и гепатопротекторы экскреция АЛК с мочой не нормализовалась. Там, где больные с НГХ инфицированы гепатитом С величина АЛК превы-

шала норму, а где гепатитом В параметр имел низкую концентрацию. Полученный вывод подтверждался результатами исследований АЛК у пациентов 4-й группы, которые не были инфицированы. Здесь как до, так и после лечения, данные теста несущественно отличались от нормы, совпадая с результатами полученными другими учеными [4, 8]. Нормальный синтез АЛК при вторичном гемохроматозе может служить отличительным признаком заболевания от НГХ. Разброс данных параметра подтверждает связь его синтеза с работой печени, степенью перегрузки железом, инфицированием вирусными гепатитами В и С, а также с присоединением ПКП. ПБГ определялся ниже нормы в 1-й и 3-й группах и равнялся ей во 2-й и 4-й.

Показатели обмена порфиринов при ГХ, с учетом функционального состояния печени и проводимой терапии

| СРЕДА | Тесты | Норма | Период опред. | Форма заболевания | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Гомоз. форма НГХ $n = 26$ | Гетерозиготная форма НГХ: ГХ с ПКП $n = 10$ | Гетерозиготная форма НГХ: Гетероз. форма ГХ $n = 37$ | Вторичный ГХ $n = 27$ |
| ЭРИТРОЦИТЫ | УП, мкмоль/л | 0,2 ± 0,01 | д/л | 0,18 ± 0,01 | 0,25 ± 0,02 | 0,28 ± 0,02 | 0,35 ± 0,02 |
| | | | п/л | 0,15 ± 0,01 | 0,29 ± 0,03 | 0,31 ± 0,03 | 0,38 ± 0,03 |
| | КП, мкмоль/л | 0,55 ± 0,04 | д/л | 0,28 ± 0,02 | 0,24 ± 0,015 | 0,44 ± 0,03 | 0,98 ± 0,07 |
| | | | п/л | 0,37 ± 0,03 | 0,29 ± 0,02 | 059 ± 0,04 | 1,25 ± 0,1 |
| | ПП, мкмоль/л | 4,3 ± 0,3 | д/л | 0,13 ± 0,01 | 0,12 ± 0,01 | 0,13 ± 0,02 | 0,59 ± 0,03 |
| | | | п/л | 0,28 ± 0,02 | 0,17 ± 0,02 | 0,24 ± 0,02 | 0,76 ± 0,05 |
| | ПБГ-Д, мЕД/г Hb | > 2 | д/л | 2,48 ± 0,4 | 2,13 ± 0,2 | 2,2 ± 0,01 | 2,54 ± 0,16 |
| МОЧА | АЛК, мкмоль в 8,8 ммоль креат. | 8,6 ± 0,74 | д/л | 1,1 ± 0,08 | 15 ± 1,6 | 14,7 ± 1,3 | 7,45 ± 0,8 |
| | | | п/л | 1,38 ± 0,03 | 13 ± 1,4 | 11,2 ± 1,1 | 9,2 ± 1,1 |
| | ПБГ, мкмоль в 8,8 ммоль креат. | 2,06 ± 0,34 | д/л | 0,21 ± 0,01 | 1,72 ± 0,08 | 2,25 ± 0,18 | 2,4 ± 0,14 |
| | | | п/л | 0,34 ± 0,02 | 2,01 ± 0,14 | 2,51 ± 0,2 | 3,0 ± 0,11 |
| | УП, нмоль в 8,8 ммоль креат. | 8,9 ± 0,51 | д/л | 3,19 ± 0,15 | 20,1 ± 1,3 | 24,1 ± 1,2 | 16,0 ± 0,6 |
| | | | п/л | 4,05 ± 0,16 | 14,3 ± 1,05 | 19,7 ± 0,8 | 12,9 ± 0,32 |
| | КП, нмоль в 8,8 ммоль креат. | 69,3 ± 4,6 | д/л | 1258 ± 107 | 1461 ± 73,1 | 771 ± 73,6 | 497 ± 15,5 |
| | | | п/л | 1110 ± 56,4 | 1096 ± 61,8 | 451 ± 392, | 294 ± 9,5 |
| КАЛ | КП, нмоль | 19,8 ± 1,5 | д/л | 72,3 ± 4,1 | 47,0 ± 2,2 | 41,5 ± 2,6 | 30,5 ± 1,52 |
| | | | п/л | 87,1 ± 1,9 | 53,6 ± 2,5 | 50,0 ± 2,42 | 42,0 ± 2,15 |
| | ПП, нмоль | 43,8 ± 2,6 | д/л | 17,5 ± 1,1 | 12,9 ± 0,15 | 11,2 ± 0,1 | 14,9 ± 0,15 |
| | | | п/л | 12,8 ± 0,17 | 9,8 ± 0,08 | 7,7 ± 1,42 | 21,4м1,09 |

Примечание: д/л – до лечения, п/л – после лечения.

Проведенное лечение приблизило к норме ранее сниженные показатели ПБГ в 3-й группе и несущественно увеличило во 2-й и 4-й ($p < 0,5$). Свободный эритроцитарный УП до лечения в 1-й группе определялся больше нормы. Высокие показатели параметра коррелировали с низкой его экскрецией с мочой. Лечение не повлияло на содержание УП в моче. В остальных группах уровень УП в эритроцитах как до, так и после лечения определялся больше нормы, коррелируя с повышенной экскрецией вещества с мочой и со степенью перегрузки железом. До лечения из 26 больных с гомозиготным НГХ только у 4 в эритроцитах присутствовал КП. После лечения его уровень увеличился у 22 пациентов. В группе как до, так и после лечения имелась высокая экскреция КП не только с мочой, но и с калом, коррелируя с положительными печеночными пробами: АЛТ, АСТ (49 ± 1,6 и 45 ± 2,8 МЕ/л), тимоловой пробой (14 ± 1,2 ед.). Сниженное содержание КП в эритроцитах как до, так и после лечения совпадало с высокой концентрацией вещества в моче и кале. Видимо при ГХ существует особый механизм, ответственный за использование КП для образования гема и который контролирует выделение его с мочой. В других группах с гетерозиготной формой НГХ, в эритроцитах выявлялись минимальные количества КП как до, так и после лечения, чего нельзя было отметить у пациентов со вторичном ГХ. Повышенный

КП в эритроцитах у них, после лечения еще больше увеличился, коррелируя с высоким уровнем КП в моче и в кале. При гетерозиготном ГХ после лечения, КП в моче хотя и уменьшился, все же оставался повышенным, коррелируя с высокой экскрецией КП с калом. Уровень КП в моче достоверно превышал норму ($p < 0{,}001$), свидетельствуя о сопутствующей вторичной печеночной порфирии. Последняя чаще развивалась при инфицировании вирусными гепатитами В и С.

Выявленные нарушения в обмене порфиринов, в основном, касались больных с НГХ и в меньшей степени пациентов со вторичным ГХ. Изменения находились во взаимосвязи с обменом железа и функциональным состоянием печени и зависели от давности инфицирования вирусными гепатитами В и С и сопутствующей ПКП. Полученные результаты позволили сделать следующие выводы:

При отсутствии существенных различий в показателях обмена железа у гомо- и гетерозигот с НГХ имеет значение определение функционального состояния печени путем исследования параметров порфиринового обмена.

Нормальный синтез АЛК при вторичном гемохроматозе можно применять в качестве отличительного признака заболевания от НГХ.

При гомозиготной форме НГХ высокие показатели СЖ, КНТ и СФ коррелируют с низкой экскрецией АЛК и ПБГ с мочой.

Для выявления функциональной недостаточности печени при наследственной патологии крови амбулаторно рекомендуется применение мониторинга параметров порфиринового обмена в моче.

Наиболее выраженные изменения в работе печени имеют место при сочетании гетерозиготной формы НГХ с ПКП, которые в большинстве случаев необратимы.

**Список литературы**

1. Андреева А.П., Левина А.А., Сеттарова Д.А. и др. Метаболизм железа при наследственном гемохроматозе // Врачебное дело. – 1989. – № 4. – С. 65-69.

2. Аскерова Т.А. Гемохроматоз в Азербайджанской республике: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. – 2003. – 18 с.

3. Сеттарова Д.А., Донсков С.И., Манишкина Р.П. Возможность нетрансфузионного гемосидероза при ß- талассемии, обусловленного ассоциацией с гемохроматозом, сцепленным с HLA // Гематология и трансфузиология. – 1990. – № 3. – С. 16-18.

4. Румянцев А.Г., Токарев Ю.Н. Болезни перегрузки железом (гемохроматозы). – М.: И.Д. Медпрактика, 2004. – С. 63-94.

5. Brissot P., Le Lan C., Troadec M.B. et al. Hemochromatose HFE: approche pathogenique et diagnostique // Transfus. Clin. Biol. – 2005. – Vol. 12. – P. 77-82.

6. Ellervik C., Mandrup-Poulsen T., Nordestgaard B. Prevalence of hereditary haemochromatosis in late- onset type I diabetes mellitus: a retrospective study // Lancet. – 2000. – Vol. 3, №58. – P. 1405-1407.

7. Galhenage S.P., Viiala C.H., Olynyk J.K. Screening for hemochromatosis: patients with liver disease families and populations// Current Gastroenterology. Rep.2004. – Vol. 6. – P. 44-51.

8. Sampietro M., Fiorelli G., Fargion S. Iron overload in porphyria cutanea tarda // Haematologica. – 1999. – Vol. 3, № 14. – P. 248-253.

9. Skowron F., Berard F., Grezard P. et al. Role of the hemochromatosis gene in porphyria cutanea tarda. Prospective study of 56 cases // Ann. Dermatol. Venerol. – 2001. – Vol. 5. – P. 600-604.

10. Stolzel U., KostlerE., Schuppan D. et al. Hemochromatosis (HFE) gene mutations and response to chloroquine in porphyria cutanea tarda // Arch. Dermatol. – 2003. – №3. – P. 309-313.