

МУТАЦИИ В ГЕНЕ HFE У БОЛЬНЫХ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНЬЮ ПЕЧЕНИ, ОСОБЕННОСТИ ОБМЕННЫХ НАРУШЕНИЙ

Кондратова М. А.¹, Куимов А. Д.¹, Максимов В. Н.^{1,2}, Алёшкина А. В.², Воевода М. И.², Кривошеев А. Б.¹

¹ Федеральное Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

² Научно-исследовательский институт терапии и профилактической медицины — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук»

THE FREQUENCY OF HFE GENE POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH NONALCOHOLIC LIVER DISEASE AND IN PERSONS OF THE GENERAL POPULATION. FEATURES OF METABOLIC DISORDERS

Kondratova M. A.¹, Kuimov A. D.¹, Maksimov V. N.^{1,2}, Alechina A. V.², Voevoda M. I.², Krivosheev A. B.¹

¹ Federal State budgetary educational institution of higher professional education "Novosibirsk state medical University" Ministry of healthcare of the Russian Federation

² Research Institute of Internal and Preventive Medicine" -Branch of the Federal State Budget Scientific Institution "The Federal Research Center Institute of Cytology and Genetics of Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences

Кривошеев

Александр Борисович
Krivosheev Aleksander B.
krivosheev-ab@narod.ru

Кондратова М. А. — аспирант кафедры факультетской терапии

Куимов А. Д. — профессор, заведующий кафедры факультетской терапии

Максимов В. Н. — д.м.н., заведующий лабораторией молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний

Алёшкина А. В. — м.н.с. лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний

Воевода М. И. — академик СО РАН, директор НИИТПМ — филиал ИЦиГ СО РАН

Кривошеев А. Б. — профессор кафедры факультетской терапии

Kondratova M. A. — postgraduate student of the Department of faculty therapy

Kuimov A. D. — professor, head of Department of faculty therapy

Maksimov V. N. — M. D., head of laboratory of molecular genetic studies of therapeutic diseases

Alechina A. V. — googlelady researcher of laboratory of molecular genetic studies of therapeutic diseases

Voevoda M. I. — academician of RAS, the Director of the IIPM — Branch of IC&G SB RAS

Krivosheev A. B. — professor of Department of faculty therapy

Резюме

Цель исследования. Определение частоты аллелей C 282Y и H63D гена HFE при неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП) в сравнении с лицами из общей популяции и выявление особенностей в обмене порфиринов.

Материалы и методы. Молекулярно-генетическое обследование проведено у 454 человек. Оценивали частоту аллелей C 282Y и H63D гена HFE у пациентов с НАЖБП (основная группа, 112 человек) и сравнивали с результатами, полученные при обследовании лиц общей популяции (группа сравнения, 342 человека). У больных НАЖБП определяли экскреторный профиль показателей порфиринового обмена.

Результаты. Мутантные аллели 282Y и 63D гена HFE у пациентов с НАЖБП и у лиц общей популяции регистрируются с одинаковой частотой, соответственно в 32,1 % и 33,9 % случаев. В обеих группах чаще обнаруживался аллель 63D, соответственно в 26,8 % и 28,1 % случаев. Нарушения порфиринового обмена выявлены у 77 (68,8 %) больных НАЖБП. Сравнительный анализ обнаруженных нарушений порфиринового обмена у больных с выявленными мутациями C 282Y и H63D в гене HFE и без них не позволил обнаружить принципиальных различий в качественных характеристиках. У пациентов регистрировались идентичные нарушения. У больных с имеющимися мутациями C 282Y и H63D в гене HFE частота регистрации нарушений, а также степень их выраженности были достоверно выше ($p < 0,05-0,001$).

Заключение. Метаболизм порфиринов может быть весьма чувствительным «индикатором», реагирующим многообразными неспецифическими отклонениями от нормы под действием широкого спектра метаболических расстройств, в том числе генетических нарушений. Обнаружение мутаций C 282Y и H63D гена HFE в сочетании с расстройствами порфиринового обмена позволяет рассматривать таких больных как группу риска формирования фиброза печени.

Ключевые слова. Неалкогольная жировая болезнь печени, мутация, аллель, C 282Y, H63D, ген, HFE, обмен порфиринов
Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология 2017; 145 (9): 18–24

Summary

The purpose of the study. The determination of the frequency of polymorphism alleles C282Y and H63D of the HFE gene in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) in comparison to individuals from the General population and to identify the peculiarities in the metabolism of porphyrins.

Materials and methods. Molecular genetic examination was performed in 454 people. We evaluated the frequency of polymorphism alleles C282Y and H63D of the HFE gene in patients with NAFLD (major group 112) and compared with the results obtained in the examination of persons General population (comparison group, 342 people). Patients with NAFLD were determined excretory profile of indicators of porphyrin exchange.

Results. Polymorphism of the alleles C282Y and H63D of the HFE gene in patients with NAFLD and in patients the General population is recorded with the same frequency, respectively, at 32.1 % and 33.9 % of cases. In both groups, was often detected polymorphism for alleles C282Y, respectively, 26.8 % and 28.1 % of cases. Disorders of porphyrin metabolism diagnosed in 77 (68,8 %) patients had NAFLD. Comparative analysis of detected disorders of porphyrin metabolism in patients with the identified polymorphisms C282Y and H63D in HFE gene and without it did not reveal fundamental differences in the qualitative characteristics. Patients were recorded with identical violations. In patients with existing polymorphisms C282Y and H63D in the HFE gene, the frequency of violations and their degree of severity were significantly higher ($p < 0,05-0,001$).

Conclusion. The metabolism of porphyrins can be measured very sensitive "indicator" responsive to the diverse non-specific abnormalities under the wide range of metabolic disorders, including genetic disorders. Detection of the C282Y and H63D polymorphisms of the HFE gene in combination with disorders of porphyrin metabolism allows us to consider such patients as a risk group who have not excluded an increased risk of formation of liver fibrosis.

Key words. Non-alcoholic fatty liver disease, the polymorphism of alleles C282Y and H63D of HFE gene, porphyrin metabolism
 Eksperimental'naya i Klinicheskaya Gastroenterologiya 2017; 145 (9): 18–24

Развитие современной теоретической и практической медицины характеризуется неуклонно возрастающим применением генетических методов. Это связано с несколькими обстоятельствами. Важнейшим из них является то, что прогресс в понимании этиологии и патогенеза ряда распространенных заболеваний (ишемическая болезнь сердца, артериальная гипертензия, болезни печени, сахарный диабет, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки и др.) свидетельствует о существенном значении наследственного предрасположения в возникновении таких форм патологии [1].

При хронических заболеваниях печени проведение генетических исследований позволяет не только идентифицировать конкретные гены-кандидаты, ассоциирующиеся с той или иной патологией печени, но и дает возможность прогнозировать течение заболевания, а также риск возникновения осложнений. При этом генетические маркеры могут определять не только подверженность заболеванию в целом, но и ассоциироваться с конкретными патогенетически значимыми признаками. В частности, И.А. Гончаровой и соавт. [2] было доказано, что при хроническом вирусном гепатите полиморфизм по аллели Ile50Val гена IL4RA ассоциируется с повышенным риском формирования и прогрессирования фиброза печени.

Генетические факторы, как, вероятная, причина обсуждается и при неалкогольной жировой болезни печени (НАЖБП). Об этом могут свидетельствовать значительные этнические колебания в распространенности заболевания [3]. Отмечается низкая регистрация стеатоза печени у афроамериканцев [4] и, напротив, высокая среди мексиканцев, страдающих сахарным диабетом (СД) 2 типа [5].

По данным I.R. Willner и соавт. [6] неалкогольный стеатогепатит часто выявляется среди ближайших родственников. В последнее время появились исследования доказывающие наследственные механизмы формирования НАЖБП. В этом направлении целенаправленно проводился поиск полиморфизма определенных генов предположительно отвечающих за метаболизм липидов, оксидативного стресса, активность цитокинов [7,8].

Идентификация гена HFE, который ассоциируется с развитием наследственного гемохроматоза стало значимым открытием в молекулярно-генетических исследованиях. У пациентов с наследственным гемохроматозом в гене HFE обнаружены две частые мутации C282Y и H63D [9,10]. Ген HFE расположен на коротком плече 6-й хромосомы человека около кластера генов главного комплекса гистосовместимости – major histocompatibility complex класса I (МНС I) [11,12]. Замены C282Y и H63D влияют на взаимодействие трансферринового рецептора с комплексом железа и трансферрина, т.е. изменяют состояние обмена железа [13]. Получены данные, которые свидетельствуют о высокой предрасположенности лиц европейской расы к нарушениям обмена железа и мутации в гене HFE у них регистрируется существенно чаще [14].

Отклонения в показателях содержания железа часто регистрируются при других хронических заболеваниях печени. Гиперсидеринемия обнаруживается у пациентов с хроническими вирусными гепатитами В и С [15,16,17]. Аналогичные нарушения обнаруживаются при неалкогольном стеатогепатите [18,19], алкогольной болезни печени [20]. При манифестных нарушениях порфиринового

обмена, в частности поздней кожной порфирии, мутации в гене HFE могут регистрироваться в 73 % случаев [21,22]. Необходимо отметить, что неклассифицированные расстройства порфиринового обмена у пациентов с НАЖБП регистрируются в 65,3 % случаев [23]. Исследования у этой

категории пациентов на наличие мутаций С282У и Н63D в гене HFE не проводились. Целью исследования явилось определение частоты генотипов и аллелей С282У и Н63D гена HFE при НАЖБП в сравнении с лицами общей популяции и выявление особенностей в обмене порфиринов.

Материал и методы исследования

Молекулярно-генетическое обследование было проведено у 454 человек. Оценивали частоту генотипов и аллелей С282У и Н63D гена HFE у пациентов с НАЖБП и сравнивали с результатами, полученные при обследовании группы сравнения (популяционной).

В исследование было включено 112 больных (основная группа), у которых диагноз НАЖБП подтверждался согласно клиническим рекомендациям по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации [24]. У всех больных детально изучали анамнестические сведения, включая данные семейного анамнеза. Возраст больных на момент поступления их в отделение для обследования и лечения варьировал в широких пределах (от 28 до 65 лет), средний возраст больных составил $50,5 \pm 2,1$ года. Среди наблюдавшихся больных мужчин было 81 (72,3 %), средний возраст $47,2 \pm 1,8$ года и женщин – 31 (27,7 %), средний возраст $53,8 \pm 2,3$ года. Женщин были достоверно ($p < 0,05$) старше мужчин. Все обследованные были лица европейской расы.

Группа сравнения (популяционная) сформирована на основе случайной выборки жителей г. Новосибирска, из здоровых добровольцев, постоянно проживающих в Новосибирске (подобрана по возрасту в соотношении примерно 1:3, 1 случай: 3 контроля). В группу включено 342 человека, обследованных в рамках программы «MONICA», которые были прогенотипированы в лаборатории молекулярно-генетических исследований терапевтических заболеваний НИИТПМ на наличие и/или отсутствие аллелей С282У и Н63D гена HFE. Образцы ДНК и сведения о лицах группы сравнения были предоставлены ФГБНУ научно-исследовательским институтом терапии и профилактической медицины. Все обследованные были лица европейской расы. Возраст добровольцев колебался в широких пределах (от 25 до 65 лет), средний возраст в целом по группе составил $49,3 \pm 0,9$ года. Среди включенных в группу сравнения мужчин было 181 человек (52,9 %), средний возраст $47,9 \pm 0,9$ года и женщин – 161 человек (47,1 %), средний

возраст $50,6 \pm 0,9$ года. Длительность НАЖБП у обследованных больных колебалась от 1–6 месяцев до 3 лет (средняя продолжительность болезни в целом по группе обследованных составила $1,7 \pm 0,3$ года). Вместе с тем мы понимаем, что точно установить сроки начала заболевания представляет определенные трудности ввиду длительного бессимптомного течения НАЖБП. Поэтому началом заболевания считали выявление данной патологии при контрольных медицинских обследованиях. Учитывая сходство НАЖБП с алкогольной болезнью печени, у всех пациентов НАЖБП было исключено хроническое алкогольное поражение печени, а также гепатотропная вирусная инфекция. С этой целью определяли маркеры вирусных гепатитов В и С, а также проводили анкетирование больных. Пациенты самостоятельно заполняли анкеты «Тест для выявления скрытой алкогольной зависимости» и «Опросник CAGE». Всем больным проводили комплексное обследование.

При исследовании порфиринового обмена наиболее информативным является определение экскреторного профиля, в ходе которого выявляется больший спектр расстройств [23]. Методом хроматографии-спектрофотометрии с помощью тест-набора «BioSystems» (Испания) определяли предшественники порфиринов: δ -аминолевулиновую кислоту (АЛК) и порфобилиноген (ПБГ), а также фракции порфиринов: уropорфирин (УП) и копропорфирин (КП), рассчитывали общее содержание порфиринов и коэффициент соотношения КП/УП.

Частоты аллелей и генотипов С282У и Н63D определяли в ходе молекулярно-генетического анализа ДНК при помощи ПЦР с последующим ПДРФ анализом.

Результаты клинических и лабораторных исследований обрабатывали при помощи комплекса программ по расчету статистических показателей и сравнивали с результатами обследования в контрольной группе, которую составили 40 практических здоровых лиц. Различия между средними величинами изучаемых биохимических признаков в абсолютном исчислении считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В целом по группе обследованных пациентов с НАЖБП мутантные аллели 282У и 63D гена HFE зарегистрированы у 36 человек (32,1 %). Значительно чаще обнаруживался мутантный аллель 63D гена HFE. Данная мутация выявлена у 30 человек (26,8 %). Мутантный аллель 282У гена HFE наблюдались только у 6 человек (5,4 %). Мутантный

аллель 63D гена HFE регистрировался практически с одинаковой частотой как у мужчин, так и у женщин (табл. 1). Напротив, мутантный аллель 282У гена HFE наблюдался в 5 раз реже (6 человек, 5,4 %) и преимущественно у мужчин (5 человек, 4,5 %).

Мутантные аллели 282У и 63D гена HFE у лиц общей популяции выявлены у 116 человек (33,9 %).

Показатели	В целом по группе		Мужчины		Женщины	
	n	%	n	%	n	%
Пациенты НАЖБП (основная группа) n = 112						
Мутации аллелей C282Y и H63D в целом по группе	36	32,1	-	-	-	-
Мутации аллели C282Y гена HFE	6	5,4	5	4,5	1	0,9
Мутации аллели H63D гена HFE	30	26,8	14	12,5	16	14,3
Пациенты группы сравнения (популяционная) n = 342						
Мутации аллелей C282Y и H63D в целом по группе	116	33,9	-	-	-	-
Мутации аллели C282Y гена HFE	20	5,8	10	2,9	10	2,9
Мутации аллели H63D гена HFE	96	28,1	55	16,1	41	12,0

Таблица 1.
Частота регистрации мутаций аллелей C282Y и H63D гена HFE

Варианты порфиринового обмена	Группы обследованных					
	В целом по группе (n=112)		Пациенты с мутациями аллелей C282Y и H63D гена HFE (n=36)		Пациенты без мутаций аллелей C282Y и H63D гена HFE (n=76)	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Нормальный обмена порфиринов	35	31,3	7	19,4	28	36,8
Повышение АЛК и ПБГ	24	21,4	10	27,8	14	18,4
Повышение АЛК и ПБГ с изменением соотношения фракций КП/УП	17	15,2	9	25,0	8	10,5
Повышение АЛК и ПБГ в сочетании с ВКПУ	2	1,8	-	-	2	2,6
Повышение АЛК и ПБГ в сочетании с ХЛПП	16	14,3	3	8,3	13	17,1
Изменение соотношений фракций КП/УП	3	2,6	1	2,8	2	2,6
ВКПУ	7	6,3	1	2,8	6	8,0
УП-урия	3	2,6	3	8,3	-	-
ХЛПП	5	4,5	2	5,6	3	4,0
Всего:	112	100,0	36	100,0	76	100,0

Таблица 2.
Состояние порфиринового обмена у пациентов с НАЖБП

Заметно чаще (в 4,5 раза) как и в основной группе регистрировалась мутация по аллелю 63D (табл. 1). Изменения наблюдались как у мужчин, так и у женщин. Мутантный аллель 282Y встречался с одинаковой частотой, тогда как аллель 63D в 4,5 раза чаще обнаруживался у мужчин.

Состояние порфиринового обмена изучено у 112 пациентов НАЖБП. При дифференцированной оценке показателей порфиринового обмена только у 35 человек (31,3 %) содержание всех фракций порфиринов в моче (УП от следовых концентраций до 40,1 нмоль/сут, КП от 8,2 до 115,9 нмоль/сут) их соотношение (КП/УП от 1,1 до 6,7), а также предшественников порфиринов – АЛК (101,5–366,2 нмоль/сут) и ПБГ (2,5–44,2 нмоль/сут) соответствовали контрольным значениям (табл. 2). У 77 (68,8 %) пациентов НАЖБП выявлены нарушения порфиринового обмена. Данные расстройства были весьма вариabельны. У больных НАЖБП верифицировали повышение предшественников порфиринов, изменение соотношения фракций порфиринов, вторичную копропорфирурию (ВКПУ), урокопропорфирурию (УП-урия), хроническую латентную печеночную порфирию (ХЛПП), сочетанные нарушения (табл. 2). Все эти варианты нарушений порфиринового обмена были зарегистрированы у 48 пациентов (63,2 %) без

мутантных аллелей 282Y и 63D гена HFE (табл. 2). У больных с мутантными аллелями 282Y и 63D гена HFE аналогичные нарушения обнаружены у 29 человек (80,6 %), что оказалось достоверно чаще ($p < 0,05$).

Обнаруженные нарушения порфиринового обмена имели следующие характеристики:

1. Повышение предшественников порфиринов характеризовалось высокой экскрецией АЛК (от 412,0 до 1083,5 нмоль/сут) и ПБГ (от 48,6 до 119,3 нмоль/сут). Экскреция фракций УП (от следовых концентраций до 39,8 нмоль/сут) и КП (от 13,7 до 108,7 нмоль/сут) не превышала контрольных значений. Данный синдром зарегистрирован у 59 человек (52,7 %). У 24 пациентов (21,4 %) высокая экскреция АЛК и ПБГ наблюдалась изолированно, а у 35 больных (31,3 %) сочеталась с другими расстройствами порфиринового обмена (табл. 2): изменение соотношений фракций порфиринов (17 человек, 15,2 %), ХЛПП (16 человек, 14,3 %), ВКПУ (2 человека, 1,8 %).
2. Изменение соотношения фракций порфиринов. Для данного синдрома характерно заметное повышение экскреции фракции УП (от 48,6 до 94,2 нмоль/сут) при нормальной и/или сниженной экскреции фракции КП (38,8–94,0 нмоль/сут).

Таблица 3.

Экскреция порфиринов с мочой у обследованных больных НАЖБП (М ± m)

Условные обозначения.
АЛК – аминолевулиновая кислота, ПБГ – порфиблиноген, УП – уropпорфирин, КП – копропорфирин, ВКПУ – вторичная копропорфирурия, УП-урия – уropпорфирурия, ХЛПП – хроническая латентная печеночная порфирия. *) различия статистически достоверны (0,05–0,001) в сравнении с контролем.

Варианты нарушений порфиринового обмена	Показатели порфиринового обмена					
	УП, нмоль/сут	КП, нмоль/сут	ОС, нмоль/сут	КП/УП	АЛК, нмоль/сут	ПБГ, нмоль/сут
Контрольная группа (n=40)	14,0±2,8	55,4±5,1	68,0±4,7	3,8±1,8	267,4±11,7	18,5±3,2
Нормальный обмен порфиринов (n=35)	10,1±2,9	53,7±7,1	63,8±9,2	2,3±0,6	247,6±19,0	18,3±3,1
Повышение АЛК и ПБК (n=24)	18,6±4,4	58,1±6,8	76,7±10,5	2,4±0,5	594,6±56,9*	32,2±2,5*
Изменение соотношения фракций УП и КП (n=3)	51,1±4,8*	36,5±9,1	87,6±8,7*	0,74±0,04	274,7±17,3	17,6±3,8
ВКПУ (n=7)	10,1±2,5	142,7±6,6*	152,8±9,9*	4,7±1,3	283,6±26,5	18,9±2,9
УП-урия (n=3)	58,3±4,5*	76,9±7,6	135,2±6,1*	1,7±0,9	201,4±46,7	22,8±2,7
ХЛПП (n=5)	84,2±13,2*	301,6±18,3*	385,8±31,1*	30,2±0,5	261,3±28,6	23,0±3,2
Комбинированные нарушения						
Повышение АЛК и ПБГ в сочетании с изменением соотношения фракций УП и КП (n=17)	48,8±4,9*	37,5±2,7*	80,7±7,6	0,67±0,05	522,2±21,3*	38,1±4,2*
Повышение АЛК и ПБГ в сочетании с ХЛПП (n=16)	114,1±8,7*	204,7±25,2*	318,8±61,8*	1,8±0,1	520,1±55,8*	89,9±14,6*
Повышение АЛК и ПБГ в сочетании с ВКПУ (n=2)	12,1–22,5	383,2–217,4	239–395,3	9,7–31,7	495,9–648,6	30,1–35,4

Общее содержание порфиринов в моче остается нормальным, но изменяется нормальное соотношение фракций УП и КП. В результате коэффициент соотношения КП/УП становится менее 1 при норме 1,6–5,1. Синдром зарегистрирован у 20 пациентов (17,8%). У большинства больных (17 человек, 15,2%) сочетался с высокой экскрецией предшественников порфиринов и только у 3 человек (2,6%) наблюдался изолированно (табл. 2).

3. Биохимический синдром вторичной копропорфирурии был зарегистрирован у 9 пациентов (8,1%). У 2 человек (1,8%) сочетался с высокой экскрецией предшественников порфиринов, а у 7 (6,3%) протекал изолированно (табл. 2). Для данного биохимического синдрома характерна высокая экскреция фракции КП. Общая экскреция порфиринов с мочой в 3 раза превышает нормальные значения. Доминирующей фракцией до 95% становится фракция КП (от 130,1 до 383,2 нмоль/сут), что достоверно (p < 0,001) превышало показатели в контрольной группе.

4. Синдром уropпорфирурии. Характеризуется исключительно высокой экскрецией фракции УП (от 52,0 до 137,7 нмоль/сут), сочетаний с другими нарушениями порфиринового обмена не зарегистрировано. Экскреция фракции КП в пределах контрольных значений (от 41,0 до 68,4 нмоль/сут). Синдром зарегистрирован у 3 пациентов (2,6%) (табл. 2).

5. Синдром хронической латентной печеночной порфирии. Зарегистрирован у 21 пациента (18,8%). У 16 пациентов (14,3%) сочетался с высокой экскрецией предшественников порфиринов (АЛК и ПБГ), а у 5 человек (5,4%) протекал изолированно. На этом этапе развития нарушений порфиринового обмена появляются специфические для манифестной поздней кожной порфирии биохимические признаки.

В моче обязательно до патологических значений повышаются фракции УП и КП, прослеживается тенденция к доминированию этих фракций, но не всегда и не у всех больных. Общее содержание порфиринов в моче может достигать 1000 нмоль/сут. Этот биохимический синдром зарегистрирован у 21 (18,8%) пациента и характеризовался повышением до патологических значений всей фракций порфиринов: экскреция УП достигала (108,9–1048,4 нмоль/сут), КП – 214,0–423,6 нмоль/сут. В отличие от манифестной ПКП при этом биохимическом синдроме отсутствовали характерные для ПКП симптомы фотосенсибилизации (табл. 2).

У 42 пациентов (54,5%) нарушения соответствовали обозначенным биохимическим синдромам: повышение предшественников порфиринов (АЛК и ПБГ), изменение соотношения фракций порфиринов (УП и КП), ВКПУ, УП-урия, ХЛПП. Напротив, у 35 человек (45,5%) расстройства порфиринового обмена имели комбинированный характер. Чаще регистрировались комбинации сочетания повышенной экскреции предшественников порфиринов (АЛК и ПБГ) с изменением соотношения фракций порфиринов УП и КП (17 человек, 22,1%) и ХЛПП (16 человек, 20,8%) У 2 пациентов (2,6%) высокая экскреция предшественников порфиринов сочеталась с ВКПУ (табл. 3).

При сравнительной оценке порфиринового обмена у пациентов с заменами С282Y и H63D гена HFE и у больных с нормальными гомозиготными генотипами расстройства характеризовались аналогичными вариантами, качественных различий не обнаружено (табл. 4). Однако в количественном отношении степень выраженности нарушений оказалась достоверно (p < 0,05–0,001) выше у пациентов с мутантными аллелями 282Y и 63D гена HFE (табл. 4).

Показатели порфиринового обмена	Контрольная группа (n = 40)	n	Больные с мутациями гена HFE	n	Больные без мутаций гена HFE
Экскреция δ-Аминолевулиновой кислоты, порфобилиногена, уропорфирина и копропорфирина при нормальном обмене порфиринов, нмоль/сут					
δ-Аминолевулиновая кислота, нмоль/сут	221,3 ± 38,1	5	249,5 ± 11,1	17	261,1 ± 17,2
Порфобилиноген, нмоль/сут	17,6 ± 4,4	5	23,0 ± 4,4	17	16,8 ± 2,7
Уропорфирин, нмоль/сут	13,8±2,9	5	11,3±3,1	17	13,9±2,0
Копропорфирин, нмоль/сут	54,1±5,1	5	38,1±7,2	17	40,2±9,3
Экскреция δ-Аминолевулиновой кислоты, порфобилиногена, уропорфирина и копропорфирина при нарушенном обмене порфиринов, нмоль/сут					
δ-Аминолевулиновая кислота, нмоль/сут	221,3 ± 38,1	36	794,2 ± 81,**	36	575,3 ± 38,3*
Порфобилиноген, нмоль/сут	17,6 ± 4,4	36	67,8 ± 8,3**	36	47,3 ± 2,1*
Уропорфирин, нмоль/сут	13,8±2,9	36	86,1±8,2**	36	68,1±4,8*
Копропорфирин, нмоль/сут	54,1±5,1	36	249,9±16,7**	36	109,1±5,6*

Таблица 4.
Сравнительная оценка показателей порфиринового у больных с наличием и отсутствием мутаций гена HFE (M±m)

Примечание.
Различия статистически достоверны: *) с контролем (p < 0,001), **) с контролем и между группами обследованных больных (p < 0,02–0,05)

Результаты проведенных нами клинических исследований позволили констатировать, что мутации С282Y и H63D гена HFE у пациентов с НАЖБП и у лиц общей популяции регистрируются с одинаковой частотой, соответственно в 32,1 % и 33,9 % случаев. В обеих группах чаще регистрировалась мутация по аллелю 63D, соответственно в 26,8 % и 28,1 % случаев. Зарегистрированы различия по гендерному признаку. В частности, мутация по аллелю 63D в основной группе несколько чаще регистрировалась у женщин, тогда как в группе сравнения – у мужчин. Напротив, мутация по аллелю 282Y в группе сравнения обнаруживалась с одинаковой частотой у мужчин и женщин, а в основной группе – преимущественно у мужчин.

Нарушения порфиринового обмена выявлены у 77 (68,8 %) больных НАЖБП. Расстройства оказались очень вариабельными. По результатам биохимических исследований выделено пять биохимических синдромов: повышение предшественников порфиринов (АЛК и ПБГ), изменение соотношения фракций порфиринов (КП/УП), ВКПУ, УП-урия и ХЛПП. Эти синдромы наблюдались у 42 пациентов (54,5 %). Вместе с тем были обнаружены комбинированные нарушения порфиринового обмена (35 человек, 45,5 %), которые характеризовались сочетанием биохимических синдромов. Чаще наблюдалось сочетание повышения предшественников порфиринов с изменением соотношения фракций

и ХЛПП. Такая вариабельность нарушений может быть, с одной стороны, обусловлена дефектами разных ферментов, регулирующих обмен порфиринов, а с другой, – прогрессирующим течением расстройств порфиринового обмена [25].

Сравнительный анализ обнаруженных нарушений порфиринового обмена у больных с выявленными мутациями С282Y и H63D в гене HFE и без такового не позволил обнаружить принципиальных различий в качественных характеристиках. У пациентов регистрировались идентичные нарушения порфиринового обмена. Вместе с тем у больных с имеющимися мутациями С282Y и H63D в гене HFE частота регистрации нарушений в обмене порфиринов, а также степень их выраженности были достоверно выше (p < 0,05–0,001).

Таким образом, метаболизм порфиринов может быть весьма чувствительным «индикатором», реагирующим многообразными неспецифическими отклонениями от нормы под действием широкого спектра метаболических расстройств, в том числе генетических нарушений, возникающих при НАЖБП. Обнаружение мутаций С282Y и H63D гена HFE в сочетании с расстройствами порфиринового обмена позволяет рассматривать таких больных как группу риска формирования фиброза печени. Однако, в этом плане необходимы дополнительные исследования.

Авторы выражают глубокую благодарность за помощь в работе по определению показателей порфиринового обмена врачу Куприяновой Л. Я. ГБУЗ НСО ГKB № 1 г. Новосибирск.

Литература

1. Бочков Н. П., Захаров А. Ф., Иванов В. И. Медицинская генетика. – М.: Медицина, 1984.
2. Гончарова И. А., Дунаева Л. Е., Белобородова Е. В., Фрейдлин М. Б. Изучение связи гена IL4RA (ILE 50VAL) с хроническим вирусным гепатитом. Сибирский журнал гастроэнтерологии и гепатологии, 2004, том 18, с. 185.
3. Santos L., Molina E. G., Jeffers L. J. et al. Prevalence of nonalcoholic steatohepatitis among ethnic groups. Gastroenterology. 2001, vol. 120, p. A630.
4. Caldwell S. H., Harris D. M., Hespenheide E. E. Is NASH underdiagnosed among African Americans. Am.J. Gastroenterol. 2002, vol. 97, p. 1496–1500.
5. Kemmer N. M., McKinney K. H., Xiao S-Y. et al. High prevalence of NASH among Mexican American females with type II diabetes mellitus. Gastroenterology. 2001, vol. 120, p. A117.
6. Willner I. R., Waters B., Patil S. R. et al. Ninety patients with nonalcoholic steatohepatitis: insulin resistance, familial tendency, and severity of disease. Am.J. Gastroenterol. 2001, vol. 96, p. 2957–2961.
7. Day C. P. The potential role of genes in nonalcoholic fatty liver disease. Clin. Liver Dis. 2004, vol. 8, p. 673–692.
8. Merriman R. B., Aouizerat B. E., Bass N. M. Genetic influences in nonalcoholic fatty liver disease. J. Clin. Gastroenterol. 2005, vol. 39, Suppl. 4, p. S286–S289.
9. Ференс П. Гемохроматоз и болезнь Вильсона. Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. 2001, том 11, № 4, – с. 64–66.
10. Михайлова С. В. Полиморфизм гена наследственного гемохроматоза HFE у населения Сибири. Автореф. канд. мед. наук. Новосибирск. – 2010.
11. Feder J. N., Gnirke A., Thomas W. et al. A novel MHC class I-like is mutated in patients with hereditary hemochromatosis. Nature Genetics. 1996, vol. 13, p. 399–408.
12. Feder J. N., Penny D. M., Irrinki A. et al. The hemochromatosis gene product complexes with the transferrin receptor and lowers its affinity for ligand binding. Proc. Natl. Acad. Sci USA. 1998, vol. 95, p. 1472–1477.
13. Waheed A., Parkkila S., Zhou X. Y. et al. Hereditary hemochromatosis^ Effects of C282Y and H63D mutations on association with β 2-microglobulin, intracellular processing, and cell surface expression of the HFE protein in COS-7 cells. Proc. Natl. Acad. Sci USA. 1997, vol. 94, p. 12384–12389.
14. Михайлова С. В., Кобзев В. Ф., Ромашенко А. Г., Хаснулин В. И., Воевода М. И. Распространение аллелей C282Y, H63D и S65C гена HFE и предрасположенность к нарушениям метаболизма железа в популяциях России. Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. 2001, том 11, № 4, с. 13–17.
15. Кулагина Е. А., Курилович С. А., Максимов В. Н., Воевода М. И., Шербакова Л. В., Куликов И. В. Клинико-генетическое исследование синдрома перегрузки железом при хронических диффузных заболеваниях печени. Бюллетень СО РАМН. 2009, № 3. вып. 137, с. 36–41.
16. Tung B. Y., Kowdley K. V. Iron and viral hepatitis. Viral. Hepat. 1999, vol. 5, № 1, p. 63–76.
17. Kowdley K. V. The role of iron in nonalcoholic fatty liver disease: the story continues. Gastroenterol. 2010, vol. 138, p. 817–819.
18. Bacon B. R., Faravesh M. J., Janney C. G. et al. Nonalcoholic steatohepatitis: on expanded clinical entity. Gastroenterology. 1994, vol. 107, p. 1103–1109.
19. Marchesini G., Brisi M., Bianchi G. et al. Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of metabolic syndrome. Diabetea. 2001, vol. 50, p. 1844–1850.
20. Fletcher L. M., Halliday J. W., Powell L. W. Interrelationships of alcohol and iron in liver disease with particular reference to the iron – binding proteins, ferritin and transferring. J. Gastroenterol. Hepatol. 1999, vol. 14, № 2, p. 202–214.
21. Bonkovsky H., Poh-Fitzpatrick M., Pimstone N. et al. Porphyria cutanea tarda, Hepatitis C, and HFE gene mutation in North America. Hepatology. 1998, vol. 27, p. 1661–1669.
22. Bulaj Z. J., Phillips S., Ajioka R. S. Hemochromatosis genes and other factors contributing to the pathogenesis of porphyria cutanea tarda. Blood. 2000, vol. 95, p. 1565–1571.
23. Гмыза О. А. Состояние порфиринового обмена при неалкогольной жировой болезни печени. Автореф. Дисс. ... канд. мед. наук. – Новосибирск, 2013.
24. Ивашкин В. Т., Маевская М. В., Павлов Ч. С. и др. Клинические рекомендации по диагностике и лечению неалкогольной жировой болезни печени Российского общества по изучению печени и Российской гастроэнтерологической ассоциации. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2016, том 27, № 2: 1–20.
25. Кривошеев Б. Н., Куимов А. Д., Кривошеев А. Б. Заболевания внутренних органов при манифестных и латентных нарушениях порфиринового обмена. – М.: ИНФРА-М, 2014.