

© Коллектив авторов, 2007

Н.В Козырева<sup>1)</sup>, Л.М. Казакова<sup>1)</sup>, А.В. Шабалдин<sup>2)</sup>

## ОБМЕН ЖЕЛЕЗА У ДЕТЕЙ – НОСИТЕЛЕЙ МУТАЦИИ C282Y ГЕНА ГЕМОХРОМАТОЗА HFE

<sup>1)</sup>Кемеровская государственная медицинская академия, <sup>2)</sup>Институт экологии человека СО РАН, г. Кемерово, РФ

Проведено генетическое исследование 240 детей на носительство мутации C282Y гена гемохроматоза HFE. Выявлено только гетерозиготное носительство данной мутации у 14 детей в возрасте от 1 года 8 мес до 16 лет. В данной группе клинические симптомы наследственного гемохроматоза (НГХ) отсутствовали. У 3 детей документирована железодефицитная анемия легкой и средней степени (все дети оказались в возрасте до 5 лет). Сидеропения при нормальных показателях красной крови обнаружена еще у 7 детей. У 4 детей (29%) выявлены высокие уровни сывороточного железа и коэффициента насыщения трансферрина железом, которые могут являться первыми признаками повышенной абсорбции железа в кишечнике. Следовательно, таких детей необходимо включать в группу высокого риска по раннему развитию клинической симптоматики НГХ.

Authors performed genetic examination of 240 children in order to detect carriage of C282Y mutation in HFE gene of hereditary hemochromatosis (HHC). Examination detected only heterozygous carriage of this mutation in 14 children aged 20 months–16 years. None of these children did not have HHC clinical signs. Mild and moderate iron-deficient anemia was diagnosed in 3 of these children (all the children in the age less than 5 years old). Sideropenia in combination of normal red blood cells parameters was diagnosed in 7 of these children. 4 children (29%) had high level of serum iron and high coefficient of transferrin saturation. These changes can be first signs of increased intestinal iron absorption, and so, these children must be included into risk group of early development of hemochromatosis clinical signs.

Железо (Fe) относится к числу незаменимых микроэлементов. Его биологическая роль связана со способностью легко окисляться и восстанавливаться. Благодаря этому Fe является переносчиком электронов в цепи тканевого дыхания, транспортирует кислород клеткам, является кофактором множества ферментов [1]. Но способность Fe менять валентность имеет и отрицательный момент. Свободное Fe образует гидроксильные радикалы, которые в результате пероксидазного повреждения клеточных мембран могут вызывать гибель клеток [2]. Чтобы не происходило последнее, обмен Fe (всасывание, транспорт, депонирование) осуществляется в нетоксичной форме микроэлемента, т.е. связанной с белком [3]. Проникновение Fe в эритроцит осуществляется при помощи белка-транспортера двухвалентных металлов (DMT1), выход из эритроцита в плазму происходит благодаря ферропортину 1 и гепестину, а в плазме Fe циркулирует с белком трансферрином. Для сохранения избытка (или запаса) Fe в организме используются ферритин и гемосидерин, которые содержатся в паренхиматозных клетках и фагоцитирующих макрофагах.

Содержание Fe в организме контролируется его регулируемым всасыванием, которое очень чувствительно к потребностям в Fe [4, 5]. Белок HFE принимает участие в процессе ограничения всасывания пищевого Fe в кишечнике. Мутация

этого белка приводит к избыточной абсорбции Fe и накоплению в виде гемосидерина и ферритина в паренхиматозных органах. Накопление Fe в организме происходит постепенно, поэтому клинические признаки появляются чаще всего в зрелом возрасте и свидетельствуют уже о необратимости процесса [6, 7]. Следовательно, при данной патологии важна донозологическая диагностика с целью своевременного устранения перегрузки организма Fe. На сегодняшний день доклиническая диагностика наследственного гемохроматоза (НГХ) возможна путем определения мутаций гена HFE (C282Y, H63D, S65C) и повышенного запаса Fe [8, 9]. Наша работа направлена на изучение и оценку состояния показателей обмена Fe у детей-носителей мутации C282Y гена HFE с целью обнаружения признаков НГХ и формирования группы риска по развитию данной патологии в более старшем возрасте.

### Материалы и методы исследования

Методом случайной выборки 240 детей обследовали на носительство мутации C282Y гена HFE.

Диагностику мутации гена гемохроматоза проводили на основе полимеразной цепной реакции (ПЦР), которая включала в себя амплификацию и рестрикцию, с последующим анализом рестрикционных фрагментов в 6% полиакриламидном геле.

В дальнейшем обследованы 14 детей в возрасте от 1 года 8 мес до 16 лет с мутацией C282Y гена HFE.

Таблица

**Результаты исследования показателей обмена железа у детей гетерозиготных носителей мутации С282У гена гемохроматоза HFE**

Пол	ФИО	Возраст, годы	Эр. · 10 <sup>12</sup> /л (4,1–4,7)	Нв, г/л (120–160)	СГЭ, пг (28–32)	Рет., ‰ (2–15)	ОЖСС, мкмоль/л (45–54)	СЖ, мкмоль/л (18–28)	КНТ, ‰ (35–50)	СФ, нг/мл (40–80)	СТ, мг/дл (130–275)
М	Р-н Д.С.	1,8	3,4	80	23,4	10	80,2	4,2	5,2	3,4	262
Ж	Т-ая Т.С.	4	4,3	120	27,9	12	59	29,7	50,3	48,6	249
Ж	Х-а А.П.	4	4,1	113	27,5	6	69,9	12,2	17,4	2,8	343
М	Т-н К.А.	5	4	109	27,2	6	61,6	9,9	16	8	217
Ж	З-а А.А.	6	5,3	138	25,9	8	67	8,6	12,8	12	364
Ж	П-ая Е.А.	6	4,3	130	30,2	7	70,1	12,3	17,5	28,6	377
М	С-в Д.С	8	4,3	128	29,7	8	64,9	15,9	24,5	1	324
М	С-н А.С.	11	4,8	132	27,5	11	60,2	16,1	26,7	1	154
М	М-в А.А.	11	4,5	141	31,1	7	56,2	28,1	50	1	172
Ж	К-а А.Ю	11	4,8	132	27,5	10	70	15,8	22	12,8	184
М	П-в Д.В.	13	4,5	127	26,7	11	64,4	21	32,6	18,6	75
М	Т-в Д.А.	13	4,5	141	31,3	3	58,4	22,6	38,7	27,2	288
М	В-т А.Ю	15	4,5	144	32	7	57,4	28,8	57,4	1,8	234
М	Г-в А.В.	16	5,5	178	32,3	8	55	43,7	79,5	1	267

Протокол исследования включал оценку генеалогического анамнеза; объективный осмотр; общий анализ крови и параметры метаболизма Fe (сывороточное железо, общая железосвязывающая способность сыворотки крови, сывороточный ферритин, сывороточный трансферрин, коэффициент насыщения трансферрина). Клинический анализ крови с определением числа эритроцитов, содержания общего гемоглобина (Нв), среднего содержания Нв в 1 эритроците (СГЭ) и числа ретикулоцитов проводили на гематологическом анализаторе Coulter. Сывороточное железо (СЖ) и общую железосвязывающую способность сыворотки крови (ОЖСС) определяли колориметрическим методом с помощью стандартных наборов ЭКОлаб-СЖ и ЭКОлаб-ОЖСС, сывороточный ферритин (СФ) – методом твердофазного иммуноферментного анализа на аппарате Униплан, сывороточный трансферрин (СТ) – иммунохимическим методом на аппарате Агау-360-System. Коэффициент насыщения трансферрина железом (КНТ) рассчитывали как отношение показателя СЖ к ОЖСС, выраженное в %.

В ходе обследования исключали все возможные причины, влияющие на результаты показателей обмена Fe: острые и активные хронические воспалительные процессы, заболевания печени, сопровождающиеся нарушением белково-синтетической функции.

#### Результаты и их обсуждение

Все дети оказались гетерозиготными носителями С282У гена HFE. При сборе их генеалогического анамнеза родственников с документированным НГХ не обнаружено. Кроме того, учитывая полиморфность клинической симптоматики гемохроматоза, обращали внимание на ассоциирован-

ные с ним нозологии – гепатиты, цирроз и рак печени, артропатию, миокардиопатию, сахарный диабет, гипогонадизм. В генеалогическом анамнезе у одного пробанда выявлен цирроз печени (Т-н К.А.). Отсутствие отягощенной наследственности (клинической симптоматики) характерно для гетерозиготного носительства при любом наследственном заболевании, в том числе и для НГХ.

Клинические симптомы гемохроматоза (меланодермия, кардиомиопатия, гепатолиенальный синдром, сахарный диабет, артропатия, гипогонадизм) у всех исследуемых гетерозиготных носителей С282У гена HFE отсутствовали.

Оценка результатов исследования метаболизма Fe (см. таблицу) показала, что у 3 детей документирована железодефицитная анемия (ЖДА), при этом Нв варьировал от 80 до 113 г/л, эритроциты – в пределах 3,4–4,1 · 10<sup>12</sup> г/л, СГЭ – от 23,4 до 27,5 пг. В параметрах обмена Fe регистрировались низкие показатели СЖ (4,2–12,2 мкмоль/л) и КНТ (5,2–17,4%). Уровень СФ, отражающий депо Fe в организме, был снижен до 2,8–8,0 нг/мл, а концентрация СТ только в одном случае превышала норму (343 мг/дл). Все дети с ЖДА оказались в возрасте до 5 лет, что связано с интенсивным ростом в этом периоде.

У 7 детей имел место латентный дефицит Fe. Из них у 5 детей Нв был в норме (128–138 г/л), показатели СЖ (8,6–16,1 мкмоль/л), КНТ (12,8–26,7%) и СФ (1,0–28,6 нг/мл) снижены, а ОЖСС повышена в пределах 60,2–70,1 мкмоль/мл. У 2 детей документирован только низкий СФ (18,6 нг/мл и 27,2 нг/мл). Уровень СТ в этой группе варьировал от 75 до 377 мг/дл.

Характерными для гемосидероза показателями являются повышение СЖ и КНТ, снижение ОЖСС и СТ и высокий уровень СФ. В целом из перечисленных показателей у 4 детей оказались повышенными СЖ (28,1–43,7 мкмоль/л) и КНТ (50,0–79,5%). Кроме того, у одного ребенка выявлен высокий уровень Нб (178 г/л) и повышение СГЭ до 32,2 пг. Необходимо отметить, что у 3 из этих детей уровень СФ оказался очень низким (от 1,0 до 1,8 нг/мл), а у одного – нормальным (48,6 нг/мл).

## Заключение

Таким образом, у всех детей – гетерозиготных носителей мутантного гена C282Y HFE клинические признаки перегрузки Fe организма не обнаружены. При изучении показателей обмена Fe у 29% детей выявлен высокий уровень СЖ и КНТ. Данные изменения могут быть первыми признаками повышенной абсорбции Fe в кишечнике. Следовательно, таких детей необходимо включить в группу высокого риска по ранней манифестации клинической симптоматики НГХ.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Schaefer R, Gasche C, Huch R, Krafft A.* Информационный бюллетень по препаратам железа. Рекомендации по лечению железодефицитной анемии. Гематол. и трансфузиол. 2004; 49 (4): 40–47.
2. *Токарев Ю.Н., Сеттарова Д.А.* Наследственный гемохроматоз. Клин. медицина. 1988; 3: 136–142.
3. *Морщакова Е.Ф., Павлов А.Д.* Регуляция гомеостаза железа. Гематол. и трансфузиол. 2003; 48 (1): 36–39.
4. *Waheed A, Parkkila S et al.* Hereditary hemochromatosis: effects of C282Y and H63D mutations on association with beta2-microglobulin, intracellular processing, and cell surface expression of the HFE protein in COS-7 cells. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997; 94: 12384–12389.
5. *Parkkila S, Waheed A, Britton RS et al.* Association of the transferring receptor in human placenta with HFE, the protein defective in hereditary hemochromatosis. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997; 94: 13198–13202.
6. *Valberg LS, Ghent CN.* Ann. Rev. Med. 1985; 36: 27–37.
7. *Орлова Н.Л., Ровенская Н.М., Латарцева Л.Н.* Клинико-морфологические варианты гемохроматоза. Тер. арх. 1986; 2: 71–73.
8. *Зборовский С.С., Мисюрин А.В., Щербинина С.П.* Первый опыт генетического тестирования наследственного гемохроматоза в России. Гематол. и трансфузиол. 2001; 46 (3): 64–65.
9. *Щербинина С.П., Романова Е.А., Левина А.А. и др.* Диагностическое значение комплексного исследования показателей метаболизма железа в клинической практике. Гематол. и трансфузиол. 2005; 50 (5): 23–28.