

ских проявлений АС. Реактивация же латентной инфекции, сопровождаемая включением метаболической активности возбудителя, провоцирует и поддерживает хроническое иммунное воспаление в сосудистой стенке. Нарушение динамического равновесия в системе патоген-противоинфекционный ответ ведет к кумулированию повреждающего действия инфекционного фактора и формированию необратимой эндотелиальной дисфункции, сопровождающейся нарушением специфической рецепторной активности и структурной целостности эндотелиального монослоя, что создает условия для поступления и накопления липидов в интиму. Следовательно, частоту активаций персистентных инфекций, тропных к клеткам сосудистой стенки, можно рассматривать в качестве одного из дополнительных критериев степени повреждения сосудистой стенки и, таким образом, прогнозировать скорость развития АС. Окончательное решение вопроса этиопатогенеза АС позволит открыть принципиально новые подходы к диагностике, этиотропному лечению и специфической профилактике данной патологии.

**БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК**

1. Ардамацкий, Н. А. Показатели инфекционного процесса при атеросклерозе и других заболеваниях / Н. А. Ардамацкий, Ю. В. Абакумова, Е. Н. Корсунова // *Междунац. мед. журн.* — 2000. — № 2. — С. 105–112.
2. Вотяков, В. И. О роли вирусных агентов в индукции атерогенеза с позиций этиопатогенетических аспектов медленных инфекций и ассоциации атеросклероза с вирусами / В. И. Вотяков, Т. В. Амвросьева // *Вестн. АМН СССР.* — 1991. — № 5. — С. 59–64.
3. Жданов, В. С. Эволюция и патология атеросклероза у человека / В. С. Жданов, А. М. Вихерт, Н. Г. Стернби. — М.: Трианда-Х, 2002. — 143 с.
4. Мрочек, А. Г. Будем ли мы лечить атеросклероз антибиотиками? / А. Г. Мрочек // *Здравоохран.* — 2001. — № 9. — С. 38–41.
5. Нагорнев, В. А. Аутоиммунные и воспалительные механизмы развития атеросклероза / В. А. Нагорнев, С. В. Мальцева // *Арх. пат.* — 2005. — № 5. — С. 6–15.
6. Рудык, Ю. С. Связь бактериальной и вирусной инфекции с ишемической болезнью сердца / Ю. С. Рудык // *Укр. кардиол. журн.* — 2001. — № 5. — С. 17–28.
7. Chlamydia pneumoniae and Chlamydial Heat Shock Protein 60 stimulate proliferation of human vascular smooth muscle cells via Toll-like receptor4 and p44/p42 mitogen-activated protein kinase activation / S. Sasu [et al.] // *Circ. Res.* — 2001. — Vol. 89. — P. 244–250.
8. Libby, P. Inflammation and thrombosis the clot thickens / P. Libby, D. I. Simon // *Circulation.* — 2001. — Vol. 103. — P. 1718–1720.

Поступила 04.02.2008

УДК 616.36-002.2+616.36-004]-003.829.1

**ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ МУТАЦИЙ C282Y И H63D ГЕНА HFE У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ГЕПАТИТАМИ И ЦИРРОЗАМИ ПЕЧЕНИ РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИИ**

**В. М. Мицура, Е. Л. Красавцев, Е. В. Воропаев,  
О. Ю. Баранов, И. В. Пальцев, А. Л. Калинин**

**Гомельский государственный медицинский университет**

Изучена частота выявления мутаций C282Y и H63D гена HFE у 31 больного хроническими гепатитами и циррозами печени различной этиологии. Выявлено, что мутации гена HFE несколько чаще встречаются у мужчин (52,9%), чем у женщин (21,4%); у больных, злоупотребляющих алкоголем (46,2%), по сравнению с малопьющими или трезвенниками (33,3%). При наличии мутаций ответ на интерферонотерапию достигается реже, а в биоптатах печени преобладают фибротические изменения над воспалительными.

**Ключевые слова:** ген HFE, мутации C282Y и H63D, хронический гепатит, цирроз печени.

**THE FREQUENCY OF HFE GENE MUTATIONS C282Y AND H63D REVEALING IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS AND LIVER CIRRHOSIS OF DIFFERENT ETIOLOGY**

**V. M. Mitsura, T. L. Krasavtsev, E. V. Voropaev,  
O. Yu. Baranov, I. V. Paltsev, A. L. Kalinin**

**Gomel State Medical University**

The revealing of HFE gene mutations C282Y and H63D in 31 patients with chronic hepatitis and liver cirrhosis of different etiology was studied. Mutations were associated more often with male sex (52.9%) vs. female (21.4%) and alcohol abusing (46.2%) vs. non-drinkers (33.3%). In persons with mutations response to interferon therapy was poorer and fibrosis predominated over inflammation in liver biopates.

**Key words:** HFE gene, mutations C282Y and H63D, chronic hepatitis, liver cirrhosis.

### Введение

Поиск генетических маркеров, ответственных за ряд патологических состояний различного генеза, активизировался после широкого внедрения во многие отрасли медицины, биологии и химии техники полимеразной цепной реакции (ПЦР). Часть применяемых генетических тестов направлена на выявление наследственных заболеваний, одним из которых является гемохроматоз.

Первичный гемохроматоз (ПГХ) — это аутосомно-рецессивное, HLA-ассоциированное заболевание, обусловленное генетическим дефектом, характеризующимся нарушением обмена веществ, при котором наблюдается усиленное всасывание железа в желудочно-кишечном тракте [2]. Впервые заболевание было описано М. Troisier в 1871 г. как симптомокомплекс, характеризующийся сахарным диабетом, пигментацией кожи, циррозом печени, связанным с накоплением железа в организме. В 1889 г. Reclinghausen ввел термин «гемохроматоз», отражающий одну из особенностей болезни: необычную окраску кожи и внутренних органов. Было установлено, что железо вначале накапливается в паренхиматозных клетках печени, а затем может откладываться и в других органах (поджелудочной железе, сердце, суставах, гипофизе) [2, 13].

Идентификация гена HFE (ассоциированного с развитием гемохроматоза), который кодирует протеин HFE, состоящий из 343 аминокислот, явилась важной вехой в истории молекулярно-генетических исследований. Ген HFE кодирует структуру протеина, строение которого сходно с таковым молекулы системы МНС (major histocompatibility complex) класса I [7]. Причиной гемохроматоза являются две мутации в гене HFE — C282Y и H63D. От 85 до 90% пациентов с типичным фенотипом врожденного гемохроматоза являются гомозиготными по мутантному C282Y, меньшая часть больных — смешанными гетерозиготами (C282Y/H63D) [4]. Однако у значительной популяции людей с генотипом C282Y/C282Y болезнь не развивается. Индивиды с генотипами C282Y/H63D и H63D/H63D также имеют повышенный риск накопления железа, но болезнь развивается менее чем у 1%. Более чем у 90% гомозигот по C282Y развивается выраженная перегрузка железом. Такая перегрузка имеется менее чем у 5% сложных гетерозигот C282Y/H63D [13]. Таким образом, генетические тесты на гемохроматоз определяют скорее возможность заболевания, чем саму болезнь.

Популяционно-генетические исследования изменили представление о ПГХ как о редком заболевании. Среди белого населения частота

гомозиготности составляет 0,3%, частота гетерозиготного носительства — 8–10%. Мужчины болеют приблизительно в 10 раз чаще, чем женщины [7]. Петер Ференци (Австрия) отмечает, что наследственный гемохроматоз, развивающийся при врожденном нарушении метаболизма железа, наиболее распространенное заболевание с аутосомно-рецессивным типом наследования среди уроженцев Северной Европы (0,5% оказались гомозиготными по мутации C282Y в гене HFE, однако только у половины из них имелись клинические признаки гемохроматоза) [4]. В популяции Средней Азии частота встречаемости аллеля C282Y составляет 0,5%, аллеля H63D — 7,4%, частота гомозиготного носительства H63D — 0,8% [5]. У жителей Северной Индии частота носительства аллеля H63D составляет 12%, гомозиготности H63D — 1%, ни у одного из 336 обследованных не выявлено аллеля C282Y [9].

В течение наследственного гемохроматоза выделяют три стадии: без наличия перегрузки железом; перегрузка железом без болезненных проявлений; манифестация болезни. Типичными симптомами данного заболевания являются: общая слабость, артропатия, импотенция, пигментация кожи, гепатомегалия, гипогонадизм, признаки застойной сердечной недостаточности. Лабораторные данные показывают повышение уровня аминотрансфераз, отклонения показателей обмена железа, гипергликемию, порфиринурию [8, 13]. При биопсии печени обнаруживаются фиброз и цирротические изменения. Возможно развитие гепатоцеллюлярной карциномы [8, 15].

Начало болезни во многих случаях связывают с воздействием факторов внешней среды, таких как нарушение питания, прием алкоголя или других гепатотоксических веществ [11]. Помимо тестирования на мутации, гемохроматоз может быть диагностирован биохимическим методом определения железа в биологических жидкостях [13]. В настоящее время предметом обсуждения является тестирование людей с асимптоматическим течением гемохроматоза.

Важную роль в развитии перегрузки железом принадлежит употреблению алкоголя. Даже небольшие количества потребляемого алкоголя увеличивают риск развития перегрузки железом, усиливая перекисное окисление липидов и гистологические повреждения. Таким образом, алкоголь и переизбыток железа действуют совместно, приводя к поражению печени [10, 11].

В ряде работ установлено, что частота гетерозиготного носительства C282Y и H63D мутаций среди больных хроническим гепатитом С (ХГС) не превышает частоту в популяции, но у большинства больных (преимущественно

венно у мужчин) наличие мутации HFE сопровождается избыточным отложением железа в печени и значимо более выраженной степенью фиброза [12]. По данным Valenti L. и соавт. (2007), синдром перегрузки железом отмечается у 20% больных ХГС, при этом у них не наблюдалось повышения частоты выявления мутаций гена HFE по сравнению с контрольной группой. У этих же больных была обнаружена взаимосвязь между выявлением мутаций гена HFE и наличием стеатоза печени [14]. У больных ХГС с быстрым прогрессированием фиброза печени частота мутаций гена HFE составляла 64,2%, а у лиц с медленным прогрессированием болезни — 35,8% [6]. Самоходская Л. М. и соавт. (2007) изучали влияние полиморфизма генов цитокинов и гемохроматоза (С282У, Н63D) на темпы прогрессирования фиброза у больных ХГС. Некоторые аллели, в числе которых аллель Н63D гена HFE, ассоциированы с быстрым прогрессированием фиброза у пациентов с ХГС [1].

Таким образом, определение мутаций в гене HFE при хронических воспалительных заболеваниях печени, в том числе вирусной этиологии, представляется весьма актуальным.

#### Материалы и методы

Всего нами наблюдался 31 больной хроническими заболеваниями печени в возрасте от 9 до 66 лет (средний возраст  $43,3 \pm 2,5$  лет), находившийся на лечении в Гомельской областной инфекционной клинической больнице (ГОИКБ). Среди обследованных было 17 мужчин (54,8%) и 14 женщин (45,2%). Диагноз «хронический гепатит» выставлен 12 пациентам, у 10 из них был хронический вирусный гепатит С, у 1 — хронический вирусный гепатит В, и у 1 — хронический гепатит невирусной этиологии. Диагноз «цирроз печени» имели 19 больных, у 16 из них — цирроз печени вирусной этиологии С, у 1 — цирроз печени вирусной этиологии В и у 2 больных — цирроз печени невирусной этиологии. У 10 больных циррозом печени причиной госпитализации явилась декомпенсированная портальная гипертензия с наличием асцита.

По биохимической активности больные распределились следующим образом. Нормальные значения АЛТ были у 17 больных (54,8%), повышенные значения АЛТ отмечены у 14 боль-

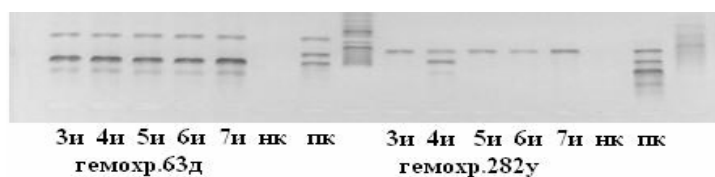
ных (45,2%). Повышенные значения общего билирубина зафиксированы у 21 больного (67,7%), средние значения —  $59,9 \pm 13,7$  мкмоль/л.

УЗИ выполнялось 28 больным, структурные изменения, характерные для хронических поражений печени, выявлены у всех пациентов.

ПЦР анализ проводился с помощью Real-Time ПЦР анализатора Rotor-Gene 3000 (Corbett Research). Для работы использовались ПЦР-тест-системы, разработанные фирмой «АмплиСенс»: «АмплиСенс Гемахроматоз – Н63D» и «АмплиСенс Гемахроматоз – С282У». Выделение ДНК производилось из цельной крови пациентов по стандартной методике.

При диагностике мутации С282У с использованием коммерческих тест-систем фирмы «АмплиСенс» аллель дикого типа выявлялся на уровне 541 п.н.; аллель, содержащий мутацию С282У, на уровне 838 п.н. и полноразмерный фрагмент — 1333 п.н. Образец считался гомозиготным по аллелю дикого типа, если он содержал специфические светящиеся полосы на уровне 541 и 1333 п.н. и не содержал полосы мутантного аллеля 650 п.н. Образец считался гомозиготным по аллелю, содержащему мутацию С282У, если он содержал специфические светящиеся полосы на уровне 838 и 1333 п.н. (полоса 1333 может отсутствовать в некоторых случаях) и не содержал полосы мутантного аллеля дикого типа 541 п.н. Образец считался гетерозиготным, если он содержал 3 специфические светящиеся полосы на уровнях 340, 650 и 950 п.н.

При диагностике мутации Н63D аллель дикого типа выявлялся на уровне 340 п.н.; аллель, содержащий мутацию Н63D, — на уровне 650 п.н. и полноразмерный фрагмент — 950 п.н. Образец считался гомозиготным по аллелю дикого типа, если он содержал специфические светящиеся полосы на уровне 340 и 950 п.н. и не содержал полосы мутантного аллеля 650 п.н. Образец считался гомозиготным по аллелю, содержащему мутацию Н63D, если он содержал специфические светящиеся полосы на уровне 650 и 950 п.н. и не содержал полосы мутантного аллеля дикого типа 340 п.н. Образец считался гетерозиготным, если он содержал 3 специфические светящиеся полосы на уровнях 340, 650 и 950 п.н. (рисунок 1).



4Н ГЕТЕРОЗИГОТА 282У  
ОСТАЛЬНЫЕ ГОМОЗИГОТЫ ПО АЛЛЕЛЮ ДИКОГО ТИПА

Рисунок 1 — Выявление мутантных аллелей С282У и Н63D

Исследование проводилось в рамках темы НИР «Изучение молекулярно-генетических механизмов в патогенезе соматических и инфекционных заболеваний и прогнозирование их течения. Разработка новых методов диагностики и реабилитационных технологий» ГКПНИ «Современные технологии в медицине» (№ ГР 20064268 от 27.07.2006).

Статистическая обработка полученных данных проводилась на персональном компьютере с помощью программы «Statistica» v.6.0.

#### **Результаты и их обсуждение**

Среди обследованных нами пациентов с хроническими поражениями печени было выявлено 19 гомозигот генов HFE по аллелю дикого типа, у 12 пациентов (38,7%) имелись различные мутации гена HFE: один пациент являлся гомозиготой по аллелю H63D, 8 больных — гетерозиготы по аллелю H63D, 2 пациента — гетерозиготы по аллелю C282Y, 1 пациент был из числа сложных гетерозигот C282Y/H63D.

По мутации H63D нормальный аллель Н — 82,2%, мутантный М — 17,8%. Наблюдаемая гетерозиготность — 29,0%, ожидаемая гетерозиготность — 29,3%. В целом по данной мутации наблюдается состояние, близкое к равновесию по Харди-Вайнбергу, что указывает на низкую селективную нагрузку со стороны естественного отбора. По мутации C282Y нормальный аллель Н — 90,3%, мутантный М — 9,7%. Наблюдаемая гетерозиготность — 9,7%, ожидаемая — 17,5%. В целом по данной мутации наблюдается состояние, которое отличается от равновесия по Харди-Вайнбергу. Наблюдается 2-кратный недостаток гетерозигот, что указывает на отбор, направленный на элиминацию гетерозигот, а также мутантного аллеля в целом.

В целом по гену выявлены аллели: Н — норма (77,4%), H63D — мутация в 63 положении (17,7%), C282Y — мутация в 282 положении (4,9%). Выявлены генотипы: 19 генотипов Н/Н (61,2%), 1 генотип H63D/H63D (3,2%), 8 генотипов Н/H63D (25,8%), 2 генотипа Н/C282Y (6,4%), 1 генотип H63D/C282Y (3,2%). Наблюдаемая гетерозиготность составила 35,4%, ожидаемая — 36,8%. В целом по данному гену наблюдается состояние, близкое к равновесию по Харди-Вайнбергу. Это объясняется, в первую очередь, большей аллельной частотой мутантного аллеля H63D, который нивелирует особенности по аллелю C282Y. В среднем по всем аллелям выявлен 3% недостаток гетерозигот, что не является существенным.

Из 17 мужчин у 9 выявлялись мутантные аллели гена HFE (52,9%), из 14 женщин мутантные аллели выявлены лишь у 3 (21,4%), разли-

чия статистически недостоверны ( $p = 0,077$  по точному критерию Фишера). Из 15 пациентов в возрасте до 45 лет лишь у 5 имелись мутантные аллели (33,3%), у лиц старшего возраста — у 7 из 16 (43,7%), различия статистически недостоверны ( $p = 0,41$  по точному критерию Фишера).

У 28 пациентов, имеющих маркеры инфицирования вирусами HCV и HBV, в 9 случаях (32,1%) выявлялись мутантные гены. У всех 3 больных без маркеров вирусного поражения печени (100%) выявлялись мутантные аллели.

Мутантные аллели были выявлены у 5 из 16 лиц (31,2%) с повышенным билирубином и у 7 из 15 (46,7%) — с нормальными значениями билирубина. Из 14 лиц с повышенными значениями АЛТ мутантные аллели были выявлены у 5 (35,7%), у больных с нормальными значениями билирубина, соответственно, у 7 из 17 (41,2%). Различия в обоих случаях статистически недостоверны ( $p > 0,2$ ).

Нами оценивались данные о наличии злоупотребления алкоголем у обследованных лиц. Среди 15 лиц, не употребляющих алкоголь или принимающих его в минимальных количествах, мутантные аллели обнаружены у 5 человек (33,3%). Среди 13 лиц, принимающих алкоголь в умеренных и значительных количествах, мутации гена гемохроматоза найдены у 6 человек (46,2%). У 3 больных не удалось достоверно определить количества потребляемого алкоголя.

Далее пациенты были разбиты на 2 группы в зависимости от наличия мутантных аллелей гена HFE: в 1 группу входило 19 человек, являющихся гомозиготами генов HFE по аллелю дикого типа; во 2 — 12 человек, имеющих различные мутации генов HFE (таблица 1).

Интересным представляется случай больного Г., гомозиготного по аллелю H63D. Больной Г., 48 лет, находился в ГОИКБ с диагнозом «Хронический вирусный гепатит С (анти-HCV tot пол., РНК HCV пол.) с исходом в цирроз, прогностический класс В по Чайлд-Пью. Портальная гипертензия: гепатоспленомегалия, гиперспленизм. Сахарный диабет II типа». Из анамнеза: страдает циррозом печени с 2004 года, до этого времени злоупотреблял алкоголем. Ухудшение самочувствия отмечает в течение недели. При поступлении в стационар предъявлял жалобы на слабость, выявлялись сниженные значения показателей эритроцитов ( $2,0 \times 10^{12}/л$ ) и гемоглобина (64 г/л), выявлялись пойкилоцитоз, анизоцитоз и гипохромия эритроцитов. Определялся сниженный уровень сывороточного железа (4,5 мкмоль/л). Больной не получал гемотрансфузий или препаратов железа. К 10 дню стационарного лечения значи-

тельно улучшились показатели эритроцитов ( $3,4 \times 10^{12}/л$ ) и гемоглобина (113 г/л). Пациент был выписан на 15 день лечения с улучшением, ему рекомендовано продолжить лечение амбулаторно, прием препаратов железа, витаминов группы В. Через 4 месяца больной умер. Ретроспективно анализируя данные его обследования, можно предположить, что у больного имелась перегрузка железом. Об этом говорит наличие HCV-ассоциированного цирроза печени и сахарного диабета II типа, сведения о

злоупотреблении алкоголем в анамнезе, гомозиготность по аллелю H63D. Наличие железодефицитной анемии можно объяснить недиагностированным желудочно-кишечным кровотечением перед госпитализацией. Быстрое восстановление показателей красной крови также свидетельствует об острой кровопотере на фоне перегрузки железом. Известно, что кровопускания являются наиболее доступным способом удаления избытка железа из организма и применяются с лечебной целью при гемохроматозе [1].

Таблица 1 — Характеристика больных 1 и 2 групп

Показатель	1 группа (n = 19)	2 группа (n = 12)	p
Пол: м/ж	8/11	9/3	0,077
Возраст (Me), лет	44,0	45,5	0,92
Диагноз: ХГ/ЦП	7/12	5/7	0,54
Асцит: нет/есть	13/6	8/4	0,61
Алкоголь: малоупьющие / злоупотребляющие	10/7	5/6	0,38
Сопутствующая патология ЖКТ	10 (52,6%)	7 (58,3%)	0,687
Билирубин общий, мкмоль/л (Me)	37,60	24,46	0,871
Билирубин прямой, мкмоль/л (Me)	6,20	7,52	0,392
Тимоловая проба, ед.SH (Me)	5,50	3,45	0,161
АЛТ, мккат/л (Me)	0,600	0,505	0,417
АСТ, мккат/л (Me)	0,320	0,225	<b>0,038</b>
Холестерин, ммоль/л (Me)	3,6	4,3	0,382
Общий белок, г/л (Me)	71,8	73,2	0,930
Эритроциты, $\times 10^{12}/л$ (Me)	4,10	4,10	0,796
Гемоглобин, г/л (Me)	135,0	135,0	0,651
Тромбоциты, $\times 10^9/л$ (Me)	185,0	287,0	0,291
Лейкоциты, $\times 10^9/л$ (Me)	5,20	5,80	0,914
СОЭ, мм/ч (Me)	16,0	18,0	0,982

Получали ранее интерферонотерапию 9 пациентов из 31 обследованного. Из них у 3 был достигнут стойкий вирусологический и биохимический ответ на терапию (все — гомозиготы по аллелю дикого типа). Из 6 лиц, не ответивших на интерферонотерапию, было двое пациентов, гетерозиготных по аллелям H63D и C282Y.

Частота мутаций подсчитывалась нами отдельно у больных хроническими гепатитами и циррозами печени. Из 12 больных хроническими гепатитами мутантные аллели имелись у 5 (41,7%); из 19 больных циррозами печени — у 7 (36,8%).

Для оценки морфологии печени использовались данные ультразвукового исследования печени. Они показали, что печень была увеличе-

на у 20 человек из 28: у 5 из 10 больных с хроническими гепатитами и у 15 из 18 человек с циррозом печени. Селезенка была увеличена у 22 из 28 больных (78,6%); у 5 из 10 больных с хроническим гепатитом и у 17 из 18 больных циррозом печени. У 18 больных циррозом печени выявлялись признаки портальной гипертензии: расширение воротной вены у 5 больных (27,8%), расширение селезеночной вены — у 16 из 18 (88,9%). Размеры печени: косой вертикальный размер (КВР), кранио-каудальный размер (ККР) и переднезадний размер левой доли печени (ПЗРл), длина и ширина селезенки и размер воротной и селезеночной вен оценивались отдельно у больных в зависимости от мутаций гена HFE (таблица 2).

Таблица 2 — Размеры печени, селезенки, портальной и селезеночной вен у больных в зависимости от мутаций гена HFE

Размеры	Норма (n = 19)	Мутации HFE (n = 9)	p
КВР, мм	150,0	170,0	0,133
ККР, мм	106,0	106,0	0,538
ПЗРл, мм	100,0	84,0	0,673
V. portae, мм	11,0	11,0	1,000
Длина селезенки	134,0	140,0	0,825
Ширина селезенки	60,0	55,0	0,621
V. lienalis	8,0	8,0	0,635

При сравнении размеров печени, селезенки, портальной и селезеночной вен у больных в зависимости от мутаций гена HFE значимых различий не выявлено ( $p > 0,1$ ).

Морфологические исследования (биопсия печени) проводилась у 7 пациентов из исследуемой группы. Для учета распространенности и выраженности морфологических изменений в биоптате печени использовалась полуколичественная оценка степени активности и стадии заболевания по В.В.Серову, 1996 [3]. Учитывались гистологический индекс степени ак-

тивности (ГИСА) и гистологический индекс стадии хронизации (ГИСХ). У 2 из 7 больных выявлялись мутации гена HFE: гетерозиготность по H63D и C282Y. У этих лиц имелись признаки фиброза (ГИСХ 3 и 9 баллов), а гистологическая активность была сравнительно невысокой (ГИСА 15 баллов). Из 5 лиц с отсутствием мутаций у 3 фиброз в биоптате печени не определялся (ГИСХ 0 баллов); у всех этих больных гистологическая активность была выше, чем у лиц с мутациями гена HFE (таблица 3).

Таблица 3— Морфологические изменения печени у больных хроническими гепатитами

Пациент, пол, возраст	Диагноз	Ген HFE	ГИСА	ГИСХ
М., жен., 24 года	ХГС	норма	47	0
Н., муж., 56 лет	ХГС	норма	30	12
Т., жен., 43 года	ХГС	норма	25	5
А., муж., 30 лет	ХГС	норма	21	0
К., жен., 28 лет	ХГС	норма	18	0
Г., муж., 24 года	ХГ неуточненной этиологии	H63D+	15	3
Б., муж., 46 лет	ХГС	C282Y+	15	9

Таким образом, в результате проведенного исследования отработана методика определения мутаций C282Y и H63D в гене HFE у больных хроническими воспалительными заболеваниями печени. Выявлено, что мутации несколько чаще встречаются у мужчин (52,9%), чем у женщин (21,4%); у больных, злоупотребляющих алкоголем (46,2%), по сравнению с малопьющими или трезвенниками (33,3%). Не выявлено значимых различий в клинико-лабораторных параметрах у пациентов в зависимости от выявления мутаций гена HFE, за исключением уровней АСТ, которые оказались значительно ниже у лиц с мутациями ( $p = 0,038$ ). Размеры печени, селезенки, портальной и селезеночной вен также значительно не различались у больных в зависимости от выявления мутаций гена HFE. Из 9 пациентов, получавших ранее интерферонотерапию, у 3 был достигнут стойкий вирусологический и биохимический ответ на терапию (все — гомозиготы по аллелю дикого типа); из 6 лиц, не ответивших на интерферонотерапию, было двое пациентов, гетерозиготных по аллелям H63D и C282Y.

При патогистологическом анализе биоптатов печени у семи больных хроническими гепатитами выявлено, что у лиц с мутациями гена HFE была менее выражена гистологическая активность и более выражены фибротические изменения по сравнению с пациентами с отсутствием мутаций.

Для дальнейшего изучения распространенности мутаций C282Y и H63D в гене HFE и их роли в прогрессировании заболевания пла-

нируется провести исследования среди большей когорты здоровых людей и пациентов с хроническими заболеваниями печени. Выявление мутаций гена гемохроматоза может использоваться для прогноза прогрессирования заболевания или эффективности лечения интерфероном.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Прогностическое значение комбинации аллельных вариантов генов цитокинов и гемохроматоза у больных хроническим гепатитом С / Л. М. Самоходская [и др.] // Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. — 2007. — № 2. — С. 50–56.
2. Радченко, В. Г. Основы клинической гепатологии. Заболевания печени и билиарной системы / В. Г. Радченко, А. В. Шабров, Е. Н. Зиновьев. — Спб.: Изд-во «Диалект»; М.: Изд-во «БИНОМ», 2005. — 864 с.
3. Серов, В. В. Морфологические критерии оценки этиологии, степени активности и стадии процесса при вирусных хронических гепатитах В и С / В. В. Серов, Л. О. Севергина // Архив патологии. — 1996. — № 4. — С. 61–64.
4. Ференци, П. Гемохроматоз и болезнь Вильсона // Гастросайт [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://www.gastrosite.ru/doctors/liver/article.asp?id=1056>. — Дата доступа: 29.01.2008.
5. Хусаинова, Р. И. Анализ мутаций C282Y и H63D в гене гемохроматоза (HFE) в популяциях Средней Азии / Р.И. Хусаинова, Н.Н. Хуснутдинова, Э.К. Хуснутдинова // Генетика. — 2006. — Т. 42, № 3. — С. 421–426.
6. A combination of genetic polymorphisms increases the risk of progressive disease in chronic hepatitis C / М. М. Richardson [et al.] // J. Med. Genet. — 2005. — Vol. 42. — P. 45.
7. Genetic and clinical description of hemochromatosis probands and heterozygotes: evidence that multiple genes linked to the major histocompatibility complex are responsible for hemochromato-

sis / J. C. Barton [et al.] // Blood Cells Mol. Dis. — 1997. — Vol. 23. — P. 135–145.

8. *Deugnier, Y.* Pathology of hepatic iron overload / Y. Deugnier, B. Turlin // World J. Gastroenterol. — 2007. — Vol. 13, N 35. — P. 4755–4760.

9. Frequency of primary iron overload and HFE gene mutations (C282Y, H63D and S65C) in chronic liver disease patients in north India / B. K. Dhillon [et al.] // World J. Gastroenterol. — 2007. — Vol. 13, N 21. — P. 2956–2959.

10. *Harrison-Findik, D. D.* Role of alcohol in the regulation of iron metabolism / D. D. Harrison-Findik // World J. Gastroenterol. — 2007. — Vol. 13, N 37. — P. 4925–4930.

11. Iron overload and cofactors with special reference to alcohol, hepatitis C virus infection and steatosis/insulin resistance / Y. Kohgo [et al.] // World J. Gastroenterol. — 2007. — Vol. 13, N 35. — P. 4699–4706.

12. Liver iron accumulation in patients with chronic active hepatitis C: prevalence and role of hemochromatosis gene mutations and relationship with hepatic histological lesions / C. Hezode [et al.] // J. Hepatology. — 1999. — Vol. 31. — P. 979–984.

13. *Piperno, A.* Classification and diagnosis of iron overload / A. Piperno // Haematologica. — 1998. — Vol. 83. — P. 447–455.

14. Relative contribution of iron genes, dysmetabolism and hepatitis C virus (HCV) in the pathogenesis of altered iron regulation in HCV chronic hepatitis / L. Valenti [et al.] // Haematologica. — 2007. — Vol. 92. — P. 1037–1042.

15. *Sebastiani, G.* HFE gene in primary and secondary hepatic iron overload / G. Sebastiani, A. P. Walker // World J. Gastroenterol. — 2007. — Vol. 13, N 35. — P. 4673–4689.

Поступила 01.04.2008

УДК 615.277:616-002

## РОЛЬ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА В ПОВРЕЖДЕНИИ ГЕПАТОЦИТОВ ПРИ ИНФЕКЦИОННО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССАХ

О. Л. Палковский

Гомельский государственный медицинский университет

При инфекционно-воспалительной патологии наблюдается повышение активности свободнорадикальных процессов. Помимо активных форм кислорода в окислительных процессах участвуют также и метаболиты оксида азота, образование которых зависит от перекисных процессов. В работе изучается выраженность свободнорадикальных процессов при инфекционно-воспалительной патологии и изменения некоторых параметров гомеостаза на фоне окислительного стресса. Исследование показало наличие биохимических признаков повреждения клеток печени на фоне инфекционно-воспалительной патологии, непосредственно не затрагивающей печень.

**Ключевые слова:** активные формы кислорода, оксид азота, инфекционно-воспалительные процессы, гомеостаз, гепатоциты.

## ROLE OF ACTIVE FORMS OF OXYGEN IN DAMAGE HEPATOCYTES AT INFECTIOUS-INFLAMMATORY PROCESSES

O. L. Palkovsky

Gomel State Medical University

At an infectious-inflammatory pathology increase of activity free-radical processes is observed. Besides active forms of oxygen in oxidizing processes participate as well metabolites of oxide nitrogen which formation depends from peroxidic processes. In work expressiveness free-radical processes is investigated at an infectious-inflammatory pathology and changes of some parameters of a homeostasis on a background of oxidizing stress. Research has shown presence of biochemical attributes of damage of cells of a liver, on a background infectious-inflammatory to a pathology which are directly not mentioning a liver.

**Key words:** active forms of oxygen, oxide nitrogen, infectious-inflammatory processes, a homeostasis, hepatocytes.

В случае тяжелой инфекционно-воспалительной патологии ряд процессов приводит к так называемой «метаболической анархии» [1, 2]. Эндотоксины Гр-отрицательных и комплекс пептидогликан-теichoic кислота Гр-положительных микроорганизмов активируют множество биологических систем: кининовую, систему коагуляции, клеток периферической крови (нейтрофилы, эозинофилы, моноциты), эндотелио-

циты. «Метаболическая анархия» проявляется повышением уровня лактата, общих липосахаридов, простаглицлинов, ростом активности циклооксигеназы, коагулопатией, низким уровнем циркулирующих антител. Стимуляция фагоцитов вызывает высвобождение активных форм кислорода, усиление свободнорадикальных процессов, в частности, перекисного окисления липидов [3, 4, 5]. Взаимодействие NO с активными