

УДК 616.36-002.2-022.6:575.22]612.015.32

## НАРУШЕНИЯ УГЛЕВОДНОГО ОБМЕНА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ С МУТАЦИЯМИ В ГЕНЕ ГЕМО-ХРОМАТОЗА

*И.В. Пальцев, А.Л. Калинин, В.М. Мицура*

УО "Гомельский государственный медицинский университет", Гомель, Беларусь

*Целью исследования явился сравнительный анализ показателей углеводного обмена у пациентов с хроническими вирусными гепатитами (ХВГ) при наличии мутаций в гене HFE. Выявлено, что для больных ХВГ, имеющих мутации гена гемохроматоза и синдром перегрузки железом, характерна более высокая частота сахарного диабета (СД).*

**Ключевые слова:** хронические вирусные гепатиты, гемохроматоз, обмен железа, сахарный диабет.

Гемохроматоз - заболевание, характеризующееся повышенным всасыванием железа из продуктов питания с последующим его отложением в паренхиматозных органах, т.е. формированием синдрома перегрузки железом (СПЖ). Первичный, или наследственный, гемохроматоз (НГ) вызывается врожденной мутацией гена HFE. В настоящее время известно 5 мутаций, детерминирующих возникновение НГ, но наиболее распространенными являются два варианта - C282Y и H63D [8].

Наиболее часто при гемохроматозе страдает печень - орган, изначально депонирующий железо для физиологических нужд. Вторым по частоте поражения органом является поджелудочная железа, патология которой вызывает нарушения углеводного обмена, вплоть до развития сахарного диабета. Наличие мутации в гене HFE уже увеличивает риск развития СД [6].

Следует отметить, что хронические диффузные заболевания печени (ХДЗП) сами по себе увеличивают риск развития нарушений углеводного обмена. Это обусловлено в первую очередь тем, что при поражении печени в крови повышается уровень инсулиназы, разрушающей инсулин. При этом в самой печени уменьшается количество гликогена и растет удельный вес жира, что ведет к развитию стеатогепатоза. Так, китайскими учеными было доказано, что распространенность СД выше у пациентов с неалкогольным стеатогепатитом, хроническим гепатитом, алкогольной болезнью печени и циррозом печени [7].

Однако наличие СПЖ является дополнительным фактором риска развития сахарного диабета, о чем свидетельствуют данные ученых разных стран. Патогенез СД при этом достаточно сложен и полностью не изучен. С одной стороны, железо, откладываясь в паренхиме поджелудочной железы, вызывает поражение клеток с последующим развитием фиброза, что приводит к абсолютной инсулиновой недостаточности. С другой стороны, имеются данные о других механизмах нарушения углеводного обмена. В эксперименте на мышах, проведенном американскими учеными, было показано, что основным механизмом развития СД при этом является снижение количества  $\beta$ -клеток, однако выявлены и другие механизмы прогрессирования СД - повышенный синтез глюкозы в печени, а также снижение активности пируватдегидрогеназы в скелетных мышцах. В целом авторы отмечают, что высокий уровень железа является фактором риска развития сахарного диабета [4].

Австралийские ученые проводили исследование для выяснения роли различных факторов в прогрессировании заболеваний печени. В исследование был включен 291 пациент с гомозиготной мутацией C282Y. Всем пациентам выполнена пункционная биопсия печени. Проведен ретроспективный анализ, показавший связь высоко-

го фиброза печени с мужским полом, злоупотреблением алкоголем, концентрацией железа в печени и сахарным диабетом. Из перечисленных факторов наиболее высокая ассоциация была отмечена с сахарным диабетом. Авторы указывают, что механизм этой ассоциации неизвестен, однако не исключено, что диабет вызывает дополнительное оксидативное повреждение печени вследствие гипергликемии. Таким образом, контроль уровня гликемии важен для снижения риска прогрессирования заболевания. Наличие стеатоза также было ассоциировано с высоким фиброзом, однако эти данные были на границе статистической значимости [2].

По данным Dongiovanni, является доказанной связь между СПЖ и развитием таких патологических состояний, как жировая дистрофия печени, субклиническое воспаление и резистентность к инсулину. Последнее способствует развитию СД 2 типа. Кроме того, прогрессированию СД способствует индуцированное железом поражение  $\beta$ -клеточной функции поджелудочной железы [3].

Данные литературы также свидетельствуют, что нормализация уровней сывороточного ферритина и индекса насыщения трансферрина у пациентов с наследственным гемохроматозом, достигнутая путем систематических кровопусканий, приводит к улучшению показателей метаболизма углеводов. Это доказывает существенную роль СПЖ в развитии и прогрессировании нарушения углеводного обмена [1,5].

Таким образом, данные литературы свидетельствуют о том, что наличие СПЖ у пациентов с ХДЗП существенно повышает риск развития СД.

### Цель работы

Провести сравнительную оценку показателей, характеризующих углеводный обмен у пациентов с хроническими вирусными гепатитами в зависимости от наличия мутаций в гене HFE и уровней сывороточного железа и ферритина.

### Материалы и методы исследования

Проведено комплексное клиническое и лабораторное обследование 40 пациентов с хроническими вирусными гепатитами минимальной и слабовыраженной активности, наблюдавшихся в ГУ "Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека". Из них в 3 (8,1%) случаях был установлен диагноз хронического вирусного гепатита В, остальные 37 (91,9%) пациентов имели хронический вирусный гепатит С. Диагноз хронического гепатита у обследованных был установлен на основании данных традиционных клинических, лабораторных и инструментальных исследований, части пациентов была выполнена пункционная биопсия печени. Вирусная этиология заболевания под-

тверждалась наличием маркеров вирусных гепатитов - HBsAg и антиHCV, а также выявлением в крови пациентов ДНК HBV и РНК HCV методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Генотипирование пациентов для определения мутаций в гене HFE проводилось на базе центральной научно-исследовательской лаборатории Гомельского государственного медицинского университета с помощью ПЦР анализатора Rotor-Gene 3000. В качестве материала для исследования использовалась ДНК лейкоцитов, полученных из проб цельной венозной крови обследуемых.

Статистическая обработка данных, полученных в результате исследования, проводилась в операционной среде "WINDOWS XP" с использованием пакета прикладных программ "STATISTICA 7.0" и "MEDCALC Software".

Распределение количественных признаков оценивалось с помощью теста Шапиро-Уилка и теста Левена на равенство дисперсий. При несоответствии нормальному распределению вычислялась медиана (Me), минимальное (Min) и максимальное (Max) значения, 25 (Q1) и 75 (Q3) процентиля, 95% доверительный интервал (95% ДИ).

Сравнение двух независимых выборок по количественному или качественному признаку осуществлялся с помощью теста U Манна-Уитни. При сравнении качественных (бинарных) признаков двух независимых выборок использовался метод двустороннего теста точного критерия Фишера. За критический уровень статистической значимости принимали вероятность безошибочного прогноза, равную или превышающую 95% ( $p < 0,05$ ). Оценка взаимосвязи количественных признаков выполнялась с помощью корреляционного анализа по Спирмену с определением коэффициента ранговой корреляции.

Для определения информативности метода исследования строили характеристические кривые (ROC-кривые), которые отражали зависимость чувствительности от вероятности ложноположительных результатов, то есть величины "1-специфичность", с расчетом - 95% доверительного интервала. Диагностическую значимость метода определяли по высоте расположения характеристической кривой с определением площади под кривой (ППК). За точку разделения при отсутствии специальных соображений по поводу оптимальной чувствительности или специфичности принимали точку, наиболее близкую к перегибу ROC-кривой. Помимо чувствительности и специфичности определяли отношение правдоподобия положительного результата (ОППР).

### Результаты и их обсуждение

По результатам генотипирования все пациенты были разделены на 2 группы. Первую группу составили 24 (60%, 95% ДИ 44,6-73,9%) пациента без мутаций. Во второй группе (n=16) в 14 (35%, 95% ДИ 22,1-50,6%) случаях были выявлены простые гетерозиготные мутации (С282Y/Н и Н63Д/Н), в 1 (2,5%, 95% ДИ 0-14%) компаундная гетерозигота и в 1 (2,5%, 95% ДИ 0-14%) гомозигота по аллелю Н63Д.

Средний возраст пациентов 1 группы составил 46,1±14,2 года, 2 группы - 50,6±11,3 года. Группы были сопоставимы по возрасту, статистически значимых различий выявлено не было ( $p=0,3$ ).

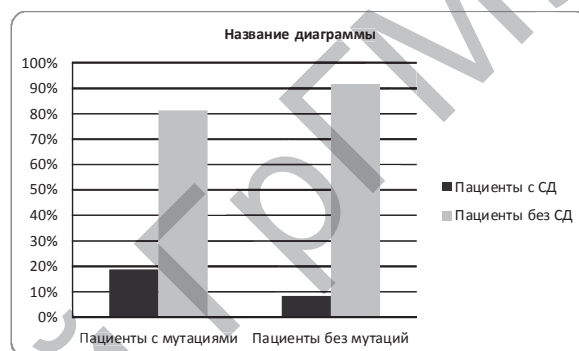
Гипергликемия встречалась у пациентов обеих групп, однако статистически значимых различий в уровнях глюкозы обнаружено не было (таблица 1).

Далее у пациентов обеих групп проанализирована частота встречаемости сахарного диабета. Всего СД (2 тип) обнаружен у 5 пациентов. В 1 группе СД выявлен у 2-х пациентов (8,3%, 95% ДИ 1,2-27,0%), во 2 группе - у 3 больных (18,7%, 95 ДИ 5,8-43,8%). Различия не было статистически значимым ( $p=0,4$ ), однако более чем двукратное

превышение частоты СД во второй группе позволяет предположить определенное влияние мутации гена гемохроматоза на формирование патологии метаболизма углеводов (рис. 1).

**Таблица 1** - Уровень глюкозы в сыворотке крови пациентов

Уровень глюкозы (ммоль/л)	Me	Min	Max	Q1	Q3	95% ДИ	U (p)
1 группа (n=24)	5,2	3,9	9	4,5	5,7	4,5-5,75	159,5 (0,3)
2 группа (n=16)	5,25	4,7	7,5	5,0	5,55	5,0-5,63	



**Рисунок 1** - Распространенность СД у больных ХВГ в зависимости от наличия мутаций в гене гемохроматоза

При проведении корреляционного анализа обнаружена прямая умеренная корреляция между уровнем глюкозы и индексом массы тела пациентов (ИМТ) ( $R=0,419$ ,  $p=0,01$ ). При сравнительном анализе ИМТ у пациентов обеих групп статистически значимых различий обнаружено не было ( $U=224,5$ ,  $p=0,2$ ). Это указывает на необходимость учета других факторов, влияющих на метаболизм углеводов.

В связи с этим проведен анализ частоты выявления заболеваемости СД в зависимости от уровня сывороточного железа.

В целом в обеих группах высокие показатели сывороточного железа отмечены у 13 пациентов (32,5%, 95% ДИ 20,0-48,1%), остальных 27 (68,5%, 95% ДИ 51,9-80,0%) больных уровень железа оставался в пределах нормы. Всего сахарный диабет диагностирован у 5 пациентов с ХВГ, из них в 4 случаях (80%) концентрация сывороточного железа превышала норму. Таким образом, в группе пациентов с повышенным сывороточным железом частота сахарного диабета составила 30,8% (95% ДИ 12,4-58,0%), а в группе с нормальным метаболизмом железа - 3,7% (95% ДИ 0-19,8%) (рис. 2).

Различия в заболеваемости СД среди пациентов обеих групп было статистически значимым ( $p=0,03$ ). Полученные данные позволяют говорить о том, что наличие синдрома перегрузки железом является достаточно значимым фактором в развитии патологии поджелудочной железы и нарушений метаболизма углеводов у больных ХВГ.

Следует помнить, что уровень глюкозы в сыворотке крови во многом зависит от образа жизни и диетических пристрастий пациентов, вследствие чего может иметь значительные колебания в течение суток. Поэтому при однократном анализе крови на глюкозу не всегда удается выявить группу риска пациентов с возможным нарушением метаболизма углеводов,

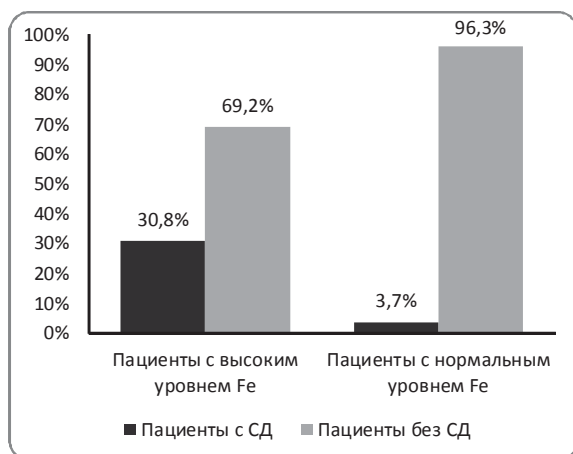


Рисунок 2 - Распространенность СД у пациентов с различным метаболизмом железа

которым необходимо дальнейшее обследование. В то же время уровень сывороточного ферритина достаточно стабилен и не подвержен значительным колебаниям. В связи с вышесказанным с помощью ROC-анализа была проведена оценка диагностической значимости уровня сывороточного ферритина в диагностике СД у пациентов с ХВГ (рис. 2).

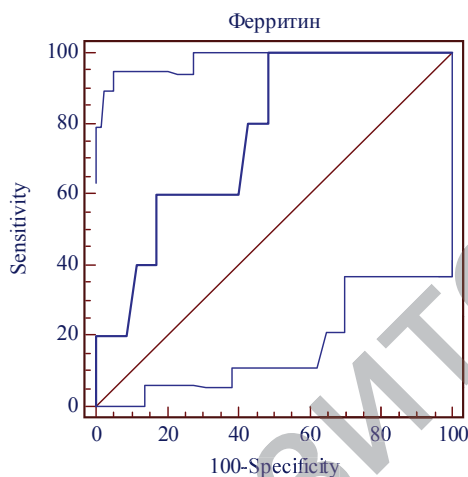


Рисунок 3 - ROC анализ диагностической значимости уровня сывороточного ферритина

При точке разделения 408 (уровень сывороточного ферритина, мкг/л) чувствительность метода составила 60%, специфичность 83%, ППК -  $0,766 \pm 0,13$  ( $p=0,04$ ), ОПШР составило 3,5. В целом, повышенный уровень сывороточного ферритина является достаточно чувствительным тестом для выявления пациентов с высоким риском раз-

вития СД среди больных ХВГ. Это позволяет рекомендовать назначение теста толерантности к глюкозе пациентам с ХВГ при наличии гиперферритинемии для выявления у них нарушений метаболизма углеводов независимо от уровня сывороточной глюкозы.

#### Выводы

1. В группе больных ХВГ с мутациями в гене гемохроматоза выявлена более высокая частота СД по сравнению с пациентами с нормальным генотипом (18,7% и 8,3%, соответственно). Это предполагает определенное значение мутаций в гене HFE в патогенезе нарушений углеводного обмена.

2. Обнаружена достоверная прямая корреляционная связь между уровнем глюкозы и индексом массы тела пациентов ( $R=0,419$ ,  $p=0,01$ ), статистически значимых различий ИМТ между пациентами с мутациями и без них выявлено не было.

3. Среди пациентов, страдающих хроническим вирусным гепатитом, при наличии синдрома перегрузки железом распространенность СД выше, чем при нормальном метаболизме железа ( $p=0,03$ ). С помощью ROC-анализа определена достаточно высокая чувствительность и специфичность показателя уровня сывороточного ферритина для выявления больных ХВГ с повышенным риском развития СД. Полученные данные позволяют предполагать определенную роль СПЖ в формировании патологии поджелудочной железы и нарушения обмена углеводов.

#### Литература

1. Adipocyte iron regulates adiponectin and insulin sensitivity / J.S. Gabrielsen [et al.] // J Clin Invest. - 2012. - Vol.122. - P.3529-3540.
2. Clinical cofactors and hepatic fibrosis in hereditary hemochromatosis: the role of diabetes mellitus / M.J. Wood [et al.] // Hepatology. - 2012. - Vol.56. - P.904-911
3. Iron in fatty liver and in the metabolic syndrome: a promising therapeutic target / P. Dongiovanni [et al.] // J. Hepatology. - 2011. - Vol.55. - P. 920 - 932.
4. Iron overload and diabetes risk: a shift from glucose to Fatty Acid oxidation and increased hepatic glucose production in a mouse model of hereditary hemochromatosis / J. Huang [et al.] // Diabetes. - 2011. - Vol.60. - P. 80-87
5. Glucose metabolism after normalization of markers of iron overload by venesection in subjects with hereditary hemochromatosis / M. Hatunic [et al.] // Metabolism. - 2010. - Vol.59. - P. 1811-1815.
6. Hemochromatosis gene (HFE) polymorphisms and risk of type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis / Y. Rong [et al.] // Am J Epidemiology. - 2012. - Vol.176. - P. 461-472.
7. Hsieh, P.S. Impact of liver diseases on the development of type 2 diabetes mellitus / P.S. Hsieh, Y.J. Hsieh // World J. Gastroenterol. - 2011. - Vol.17, N48. - P. 5240-5245
8. Pietrangelo, A. Hereditary hemochromatosis: pathogenesis, diagnosis, and treatment / A. Pietrangelo // Gastroenterology. - 2010. - Vol. 139. - P. 393-408.

## IMPAIRMENTS OF CARBOHYDRATE METABOLISM IN PATIENTS WITH CHRONIC VIRAL HEPATITIS WITH MUTATIONS IN HEMOCHROMATOSIS GENE

I.V. Paltsev, A.L. Kalinin, V.M. Mitsura

Educational Establishment «Gomel State Medical University», Gomel, Belarus

The research objective was the comparative analysis of the indicators of carbohydrates metabolism in patients with chronic viral hepatitis in the presence of mutations in the HFE gene. It has been revealed that the patients with chronic viral hepatitis having mutations of hemochromatosis gene and syndrome of iron overload are characterized by higher diabetes incidence.

**Key words:** chronic viral hepatitis, hemochromatosis, iron metabolism, diabetes mellitus.