

детекцией результатов амплификации в режиме реального времени пригоден для использования в клинической лабораторной диагностике и научной практике для расширенного генотипирования HCV.

## **ГЕМОХРОМАТОЗ: ОЦЕНКА ЧАСТОТ МУТАЦИЙ C282Y И H63D ГЕНА HFE В РАЗНЫХ КЛИНИЧЕСКИХ ГРУППАХ**

**Михайловская Г.В., Чуланов В.П.**

*ФГУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва, Россия*

**Введение.** Наследственный гемохроматоз (НГХ) – наследственное системное заболевание, приводящее к избыточному накоплению железа в тканях организма, в результате которого наблюдается нарушение функций печени, поджелудочной железы, сердца, гипофиза. Впервые это заболевание было описано в 1886 году как бронзовый диабет. В 1889 году введен термин гемохроматоз, классическими признаками которого являются бронзовая кожа, цирроз печени, сахарный диабет. В 1996 году в коротком плече 6 хромосомы обнаружены миссенс мутации в гене HFE, кодирующем 348 аминокислот атипичного белка главного комплекса гистосовместимости класса I. В результате этих мутаций происходит замена цистеина на тирозин в 282 позиции (C282Y) либо замена гистидина на аспариновую кислоту в 63 позиции (H63D). Сейчас известно 5 генов, мутации в которых приводят к НГХ, однако самая распространенная форма (более 95% всех случаев) обусловлена основными мутациями C282Y и H63D. Ряд других мутаций являются клинически значимыми в сочетании с основными мутациями либо имеют выраженные отличия в клиническом течении заболевания и скоростью его развития. По данным зарубежных авторов гемохроматоз является самым распространенным наследственным заболеванием населения Европы. Частота НГХ составляет 3–8 : 1000 населения, что в свою очередь предполагает гетерозиготное носительство мутантных генов у 10–13% населения Европы. Относительно высокие частоты мутации C282Y гена HFE встречаются у больных, предки которых происходили из Северо-Западной Европы, подтверждают гипотезу кельтского происхождения мутации, распространившейся далее по миграционным путям. Вопреки ожидаемым высоким частотам гомозиготных мутаций C282Y гемохроматоз с полной развернутой клиникой до сих пор считался среди европейских популяций довольно редким заболеванием.

В России выявление больных с признаками НГХ по клиническим и биохимическим критериям в практике врача встречается редко. Имеющиеся работы показали различия клинических проявлений у больных с синдромом перегрузки железом (СПЖ) при наличии мутаций в гене HFE и без них. Клинические проявления выражены более сильно у лиц, несущих в генотипе две мутации одновременно (гомозиготы и компаунды) нежели у лиц с прочими генотипами. Генотипирование больных клиник г.Москвы с клиническим диагнозом НГХ по мутациям С282У и H63D показало, что гомозиготы и компаундные гетерозиготы по мутантным аллелям немногочисленны (18%), гетерозиготы составляют 54% (преобладают гетерозиготы по H63D), в то же время существенна доля лиц с нормальным генотипом (28%). Также проведена диагностика мутаций гена HFE на выборке больных терапевтических отделений в предполагаемых группах риска – отделения гепатологии, гастроэнтерологии, эндокринологии, кардиологии, – где частоты мутантных аллелей У 2,9% и D 15,8% сопоставимы с популяционными частотами европейских популяций, а также некоторых популяций на территории РФ.

Своевременная диагностика НГХ по клиническим и биохимическим признакам с подтверждением наличия основных мутаций в гене HFE необходим для назначения и корректировки своевременного лечения. Нелеченый гемохроматоз приводит к развитию таких тяжелых заболеваний, как сахарный диабет, гепатоцеллюлярная карцинома, сердечная недостаточность и др.

**Целью** настоящей работы было определение частоты мутаций С282У и H63D гена HFE в группе пациентов с подозрением на НГХ, а также в группах пациентов инфекционного стационара без клинико-лабораторных признаков НГХ.

**Материалы и методы.** Определение основных мутаций гена HFE проводилось на образцах венозной крови 207 пациентов с помощью набора реагентов «АмплиСенс Гемохроматоз-С282У» и «АмплиСенс Гемохроматоз- H63D» методом аллель-специфической полимеразной цепной реакции с электрофоретической детекцией продуктов амплификации в агарозном геле (производство ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). Выделение ДНК из образцов крови проводилось с помощью комплекта реагентов «РИБО-преп» (производство ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). Определение мутантного аллеля и аллеля дикого типа происходит в одной пробирке отдельно для каждой мутации. Образец считается гомозиготным по аллелю дикого типа, если он содержит специфический ампликон на уровне полосы контроля аллеля дикого типа и не содержит полосы мутантного аллеля. Образец считается гомозиготным по аллелю, содержащему

мутацию, если он содержит специфический ампликон на уровне полосы контроля мутантного аллеля и не содержит полосы аллеля дикого типа. Образец считается гетерозиготным, если он содержит 2 специфических ампликона на уровне полос контроля мутантного аллеля и аллеля дикого типа.

Исследовано 207 образцов цельной крови: группа №1 - 93 образца от пациентов с подозрением на НГХ (пациенты с лабораторными признаками нарушения метаболизма железа, пациенты с хроническим поражением печени неуточненной этиологии, родственники пациентов с подтвержденным диагнозом НГХ); группа №2 - 74 образца от пациентов инфекционного стационара без клинико-лабораторных признаков НГХ (46 детей и 28 взрослых с инфекцией, вызванной вирусом Эпштейна-Барр); группа №3 - 40 образцов от пациентов с гепатитом различной этиологии без признаков НГХ.

**Результаты.** Генотипирование пациентов в группе №1 с подозрением на НГХ с гетерогенным возрастным и половым составом показало, что гомозиготы и компаундные гетерозиготы по мутантным аллелям составляют 9% (компаунд 1%, гомозиготы С282У 4,3%, Н63D 3,7%), гетерозиготы 40% (преобладают гетерозиготы по Н63D 31%), нормальный генотип 51%. Частоты мутантных аллелей составили У 9,1%, D 19%, что несколько выше популяционных частот. В половине случаев обнаружен нормальный генотип в позициях С282У и Н63D. Группа №2 была подразделена для анализа на две подгруппы - дети (А) и взрослые (В). Группа №2А была представлена 24 мальчиками и 22 девочками в возрасте от 1 года до 14 лет с подтвержденной инфекцией, вызванной вирусом Эпштейна-Барр (ЭБВ) и признаками гепатомегалии. Генотипирование пациентов №2А показало, что гомозиготы составляют 2% (один случай мутации Н63D), компаундные гетерозиготы по мутантным аллелям не обнаружены, гетерозиготы составляют 33% (преобладают гетерозиготы по Н63D 26%), в то же время существенна доля лиц с нормальным генотипом (65%). Группа №2В была представлена 21 мужчиной и 7 женщинами в возрасте от 15 до 62 лет с подтвержденной инфекцией, вызванной ЭБВ. Генотипирование пациентов №2В показало, что компаунды составляют 4% (один случай), гомозиготы по мутантным аллелям не обнаружены, гетерозиготы составляют 32% (преобладают гетерозиготы по Н63D 21%), нормальный генотип 64%.

Полученные данные позволяют объединить подгруппы. Таким образом гомозиготы и компаунды составляют 3%, гетерозиготы 32%, нормальный генотип 65%. Частоты мутантных аллелей составили У 4,7%, D 14%, что сопоставимо с популяционными частотами.

Генотипирование пациентов в группе №3 с гепатитом различной (в основном вирусной) этиологии с гетерогенным возрастным и половым составом показало, что гомозиготы и компаундные гетерозиготы по мутантным аллелям не обнаружены, гетерозиготы составляют 17,5% (гетерозиготы по H63D 15%), нормальный генотип существенно преобладает 82,5%. Частоты мутантных аллелей в данной выборке составили Y 1,2%, D 7,5%, что меньше популяционных частот.

**Выводы.** В изучаемой группе пациентов с подозрением на НГХ гомозиготы и компаундные гетерозиготы по изучаемым мутантным аллелям немногочисленны, а доля нормального генотипа составляет 51% случаев, что может свидетельствовать о целесообразности исследования на другие генетические маркер нарушений метаболизма железа. Во всех группах пациентов большинство гетерозиготных мутаций встречается в позиции H63D. Распределение частот мутантных аллелей колеблется в пределах популяционных. Рекомендовать молекулярно-генетическое исследование на наличие мутаций C282H и H63D следует при наличии комплекса клинических и биохимических признаков НГХ, а также в исследовании семейных случаев НГХ.

## РАЗРАБОТКА АЛГОРИТМА АНАЛИЗА ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОЙ СВЯЗИ СЛУЧАЕВ ВИРУСНОГО ГЕПАТИТА В (ВГВ) С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МОЛЕКУЛЯРНО- БИОЛОГИЧЕСКИХ МЕТОДОВ

Неверов А.Д.<sup>1</sup>, Карандашова И.В.<sup>1</sup>, Лебедева Е.Б.<sup>1</sup>, Браславская С.И.<sup>1</sup>,  
Якупова Ф.М.<sup>2</sup>, Чуланов В.П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Москва

<sup>2</sup> Республиканская инфекционная клиническая больница, Казань

**Введение:** Вирусный гепатит В (ВГВ) – широко распространенная инфекция человека, вызываемая ДНК-содержащим вирусом гепатита В (HBV), относящимся к семейству *Hepadnaviridae*. Гепатит В строго антропонозная инфекция. Поддержание возбудителя в природе обусловлено его стабильной циркулирующей в человеческой популяции. Этот вирус передается как естественным, так и искусственным путями, реализация которых может приводить к возникновению связанных случаев инфицирования ВГВ. Для анализа эпидемиологической связи случаев ВГВ в мировой практике используют молекулярно-биологические методы, позволяющие отличать один штамм возбудителя от