

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ**

УТВЕРЖДАЮ

Первый заместитель министра

_____ Д.Л. Пиневиц

12.06.2013

Регистрационный № 093-0612

**АЛГОРИТМЫ ДИАГНОСТИКИ, ЛЕЧЕНИЕ И МОНИТОРИНГ
НАСЛЕДСТВЕННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ПЕЧЕНИ**

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ-РАЗРАБОТЧИКИ: ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования», ГУ «Республиканский научно-практический центр “Мать и дитя”», ГНУ «Институт генетики и цитологии» НАН Беларуси, УО «Белорусский государственный медицинский университет»

АВТОРЫ: д-р мед. наук, проф. Н.Н. Силивончик, канд. биол. наук Н.Б. Гусина, канд. мед. наук Н.В. Румянцева, О.А. Жигальцова, канд. мед. наук, доц. Е.И. Адаменко, канд. биол. наук Н.Г. Даниленко, канд. биол. наук Е.И. Кушнеревич, канд. биол. наук Л.Н. Сивицкая, канд. мед. наук Е.Н. Яговдик-Тележная

Минск 2012

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

A1AT	— альфа ₁ -антитрипсин
АлАТ	— аланиновая аминотрансфераза
АсАТ	— аспарагиновая аминотрансфераза
ГСП	— гемосидероз печени
ГХ	— гемохроматоз
ККФ	— кольца Кайзера–Флейшера
МНО	— международное нормализованное отношение
НТЖ	— коэффициент насыщения трансферрина железом
ПЖ	— перегрузка железом
ПТИ	— протромбиновый индекс
ПЦР	— полимеразная цепная реакция
СФ	— сывороточный ферритин
УЗИ	— ультразвуковое исследование
ЩФ	— щелочная фосфатаза
<i>H63D</i>	— мутация <i>HFE</i> гена
<i>HFE</i>	— ген наследственного гемохроматоза
<i>C282Y</i>	— мутация <i>HFE</i> гена
<i>PI</i>	— protease inhibitor
<i>ATP7B</i>	— ген болезни Вильсона–Коновалова
<i>H1069Q</i>	— мутация <i>ATP7B</i> гена
НСV-инфекция	— hepatitis C virus инфекция
<i>PIS</i>	— мутация гена <i>PI</i>
<i>PIZ</i>	— мутация гена <i>PI</i>

В настоящей инструкции по применению (далее — инструкция) изложены алгоритмы диагностики, правила лечения и мониторинга наследственных заболеваний печени — гемохроматоза, болезни Вильсона–Коновалова, дефицита альфа₁-антитрипсина. Предназначена для врачей общей практики, врачей-терапевтов, врачей-гастроэнтерологов, врачей-генетиков.

ОПИСАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Задачи диагностики и лечения наследственных заболеваний печени

1. Ранняя диагностика (в идеале на досимптоматической стадии).
2. Раннее начало терапии, что предупреждает и минимизирует поражение органов, развитие осложнений и преждевременную смерть.
3. Пожизненное непрерывное лечение, мониторинг результатов и осложнений.

ГЕМОХРОМАТОЗ

Диагностические тесты:

Тесты и их характеристики	Нормальные значения
Параметры феррокинетики	
Увеличение сывороточного железа (клиническая значимость невысокая)	Мужчины — 10,6–28,3 мкмоль/л
	Женщины — 6,6–26,0 мкмоль/л
Увеличение коэффициента насыщения	20–40%

трансферрина железом (НТЖ)	
Увеличение сывороточного ферритина (СФ)	10–200 мкг/л
Биопсия печени	
Положительная качественная реакция (окраска по Перлсу)	
Молекулярно-генетические методы	
Выявление мутаций <i>HFE</i> - гена (ПЦР-диагностика)	

Поэтапная диагностика

I этап — обследование целевых групп

Стратегия направлена на раннее выявление групп высокого риска носительства мутаций гена *HFE*.

Пациенты с наличием патологических симптомов:

- заболевание печени неуточненной этиологии или предположительно известной причины с установленными изменениями сывороточных маркеров железа;

- сахарный диабет особенно в сочетании с гепатомегалией, изменением печеночных ферментов, атипичным заболеванием сердца, атипичной артропатией или преждевременной сексуальной дисфункцией;

Пациенты без жалоб и симптомов заболевания:

- сибсы (родные братья и сестры) пациентов с установленным гемохроматозом (ГХ);

- пациенты с изменениями сывороточных маркеров железа;

- пациенты с необъяснимым подъемом активности печеночных ферментов, бессимптомной гепатомегалии или изменений в печени, обнаруженные при компьютерной томографии.

Диагностические мероприятия:

- определение непрямых серологических маркеров перегрузки железом (ПЖ) — НТЖ и СФ;

- определение прямого морфологического маркера ПЖ — гемосидерин печени (ГСП).

Оценка, комментарии и действия:

Вариант 1: НТЖ <45% и СФ <250 мкг/л у мужчин или СФ <200 мкг/л у женщин — ПЖ отсутствует

Вариант 2: НТЖ >45% при СФ >250 мкг/л у мужчин или СФ >200 мкг/л у женщин — косвенный признак ПЖ; тесты следует повторить по крайней мере 1 раз. Направление пациента на медико-генетическое консультирование

Вариант 3: при положительной реакции на гемосидерин по методу Перлса — направление пациента на медико-генетическое консультирование

II этап — генотипирование на носительство мутаций *HFE* гена

Диагностические мероприятия:

- ПЦР-диагностика мутаций *HFE* гена

Вариант 1: при выявлении генотипа *C282Y/C282Y* и наличии ПЖ выставляется диагноз ГХ

Вариант 2: выявление генотипов *D63H/D63H* или *C282Y/D63H* требует 1) выяснения наличия ПЖ и 2) исключения вторичной ПЖ

Семейный скрининг

Мероприятия:

- оценка наличия и характера клинической симптоматики;
- общий анализ крови;
- биохимические тесты: АсАТ, АлАТ, ЩФ, билирубин, альбумин;
- ПТИ или МНО;
- основные показатели обмена железа: НТЖ и СФ;
- молекулярно-генетическое исследование: поиск мутаций гена *HFE*.

Лечение, наблюдение

Общие рекомендации по ведению пациентов:

- лечение необходимо проводить и на стадии бессимптомного течения на фоне высоких значений маркеров железа, и на стадии клинических проявлений, что позволяет максимально, на сколько это возможно, уменьшить повреждение органов;
- главным методом лечения являются флеботомии (пациенты с установленным ГХ должны быть строго ориентированы на проведение терапевтических флеботомий до полной ликвидации избыточного содержания железа в организме);
- диетические рекомендации: сбалансированная диета, низкое потребление алкоголя, ограничение избыточного введения витамина С, по возможности употребление чая; избегать продуктов питания, богатых железом, однако диета со строгим ограничением железа трудно реализуема и мало эффективна (одна дополнительная флеботомия в год позволяет освободить пациента от необходимости диетических ограничений железа);
- регулярный скрининг на предмет гепатоцеллюлярного рака.

Показания к началу флеботомий: установление генотипа *C282Y/C282Y* и наличие ПЖ.

Цели флеботомий: удаление избытка железа.

Правила выполнения флеботомий:

- частота — 1 раз в 1–2 недели; объем удаляемой крови — 500 мл; контролировать значение СФ каждые 10–12 флеботомий;
- когда значение СФ опускается ниже 50 нг/мл, частые флеботомии следует прекратить (начать поддерживающие флеботомии с интервалом, позволяющем сохранять значение СФ между 25–50 нг/мл).

Прогноз: развитие клинических симптомов не происходит, если лечение начато на досимптомной стадии; продолжительность жизни на фоне лечения по достижении нормализации функции печени приближается к среднепопуляционной; без лечения заболевание прогрессирует и может приводить к смерти.

БОЛЕЗНЬ ВИЛЬСОНА-КОНОВАЛОВА

Диагностические тесты:

Тесты и их характеристики	Нормальные значения
Сниженный уровень церулоплазмينا сыворотки крови (характерен, но не патогномоничен); крайне низкие цифры (<50 мг/л) строго указывают на болезнь Вильсона–Коновалова; нормальные цифры не исключают болезнь Вильсона–Коновалова	200–400 мг/л 170–270 Ед/л
Увеличение суточной экскреции меди с мочой (уровень >100 мг/сут или >1,6 мкмоль/сут при наличии симптомов указывает на болезнь Вильсона–Коновалова)	20–50 мкг/сут.
Увеличение свободной (несвязанной с церулоплазмином) меди сыворотки крови (>1,6 мкмоль/л)	
Кольца Кайзера–Флейшнера (выявляются при осмотре в щелевой лампе). Отсутствие не исключает болезнь Вильсона–Коновалова	Отсутствуют
Молекулярно-генетическое тестирование: выявление мутаций гена <i>ATP7B</i>	

Поэтапная диагностика

I этап — скрининг целевых групп

Стратегия диагностического скрининга направлена на раннее выявление групп высокого риска носительства мутаций гена *ATP7B*.

Пациенты с наличием патологических симптомов:

- заболевание печени неясной этиологии, необъяснимое повышение печеночных ферментов, гепатомегалия в возрасте от 3 до 45 лет;
- клинические признаки аутоиммунного гепатита при неэффективности стандартной терапии кортикостероидами;
- фульминантная печеночная недостаточность, сопровождающаяся гемолитической анемией.

Пациенты без жалоб и симптомов заболевания:

- сибсы (родные братья и сестры) пациентов с болезнью Вильсона–Коновалова.

Диагностические мероприятия:

- определение церулоплазмينا сыворотки крови, офтальмологическое исследование при помощи щелевой лампы.

Оценка, комментарии и действия:

Вариант 1: церулоплазмин снижен, ККФ присутствуют — диагноз подтвержден. Направление пациента на медико-генетическое консультирование
Вариант 2: церулоплазмин в норме, ККФ присутствуют — продолжение поиска. Направление пациента на медико-генетическое консультирование
Вариант 3: церулоплазмин снижен, ККФ отсутствуют — продолжение поиска Направление пациента на медико-генетическое консультирование
Вариант 4: церулоплазмин в норме, ККФ отсутствуют — продолжение поиска Направление пациента на медико-генетическое консультирование

При субнормальных значениях тестов исследование следует повторить.

II этап — определение перегрузки медью

Диагностические мероприятия:

- суточная экскреция меди с мочой.

Вариант 1: церулоплазмин в норме, ККФ присутствуют, суточная экскреция меди с мочой более 100 мкг — диагноз подтвержден, начало специфического лечения
Вариант 2: церулоплазмин в норме, ККФ отсутствуют, суточная экскреция меди с мочой более 100 мкг — диагноз подтвержден, начало специфического лечения
Вариант 3: церулоплазмин снижен, ККФ отсутствуют, суточная экскреция меди с мочой более 100 мкг — диагноз подтвержден, начало специфического лечения
Вариант 4: церулоплазмин в норме, ККФ присутствуют, суточная экскреция меди с мочой менее 100 мкг — переход к следующему этапу
Вариант 5: церулоплазмин снижен, ККФ отсутствуют, суточная экскреция меди с мочой менее 100 мкг — переход к следующему этапу
Вариант 6: церулоплазмин в норме, ККФ отсутствуют, суточная экскреция меди с мочой повышена, но менее 100 мкг — переход к следующему этапу
Вариант 7: церулоплазмин в норме, ККФ отсутствуют, суточная экскреция меди с мочой в норме — поиск иной причины заболевания печени

III этап — генотипирование на носительство мутаций *ATP7B* гена

Диагностические мероприятия:

- ПЦР-диагностика мутаций *ATP7B*-гена.

Вариант 1: при обнаружении генотипа <i>H1069G/H1069G</i> или <i>H1069G/?</i> выставляется диагноз болезни Вильсона–Коновалова
Вариант 2: при отсутствии мутаций — дальнейшее наблюдение

Семейный скрининг

Мероприятия:

- оценка наличия и характера клинической симптоматики;
- общий анализ крови;
- биохимические тесты: АсАТ, АлАТ, ЩФ, билирубин, альбумин;
- ПТИ или МНО;
- церулоплазмин сыворотки крови, суточная экскреция меди с мочой;
- офтальмологическое исследование при помощи щелевой лампы — выявление ККФ;
- молекулярно-генетическое исследование: определение мутаций гена *ATP7B*.

Балльная система диагностики болезни Вильсона-Коновалова (the 8th International Meeting on Wilson's disease, Leipzig, 2001)

Типичные клинические симптомы и признаки	Баллы
1. Кольца Кайзера–Флейшера	
имеются	2
отсутствуют	0
2. Неврологические симптомы	

тяжелые	2
легкие	1
отсутствуют	0
3. Сывороточный церулоплазмин	
нормальный (>200 мг/л)	0
100–200 мг/л	1
<100 мг/л	2
4. Кумбс-негативная гемолитическая анемия	
имеется	1
отсутствует	0
5. Содержание меди в печени (в отсутствие холестаза)	
>5 норм (>4 мкмоль/г)	2
0,8–4 мкмоль/г	1
нормальное (<0,8 мкмоль/г)	-1
роданин-позитивные гранулы	1
6. Экскреция меди с мочой (в отсутствие острого гепатита)	
нормальная	0
1–2 нормы	1
>2 норма	2
нормальная, но повышается >5 норм после пенициллина	2
7. Мутации	
в 2 хромосомах	4
в 1 хромосоме	1
мутации не выявлены	0
<i>Суммарная оценка:</i>	
4 и более — диагноз подтвержден	
3 — диагноз возможен, но нуждается в большем количестве тестов	
2 и менее – диагноз маловероятен	

Лечение, наблюдение

Общие рекомендации по ведению пациентов:

- прогнозирование течения острой печеночной недостаточности и определение показаний к трансплантации печени;

- диета: ограничение пищевых продуктов с высоким содержанием меди (печень, другие субпродукты, ракообразные, орехи, шоколад, грибы и др.), комплексы витаминов и минеральных добавок не должны содержать медь; контроль потребления меди из других источников: содержание меди в препаратах для энтерального питания не выше 1,5 мг/сут, в питьевой воде — не более 0,1% в 90% измерений;

- при осложнениях цирроза печени — тактика, как и при поражении печени другой этиологии; симптоматическая коррекция нервно-психических проявлений — медикаментозная коррекция, своевременное распознавание депрессивных расстройств, суицидальных мыслей; дисфагия без аспирации — жидкая, полужидкая пища, с аспирацией — гастростомия, энтеральное питание;

- профилактика дополнительного повреждения печени: вакцинация против

вирусных гепатитов А и В, исключение употребление алкоголя, гепатотоксичных лекарственных средств;

- базисное лечение.

Прогнозирование течения острой печеночной недостаточности и определение показаний к трансплантации печени (прогностический индекс болезни Вильсона–Коновалова, проявляющейся острой печеночной недостаточностью, модифицированный А. Dhawan и соавт., 2005)

Тесты	1	2	3	4
Билирубин сыворотки крови, мкмоль/л	100–150	151–200	201–300	>300
АсАТ, Е/Л	100–150	151–300	301–400	>400
МНО	1,3–1,6	1,7–1,9	2,0–2,4	>2,4
Лейкоциты, $\times 10^9$ /л	6,8–8,3	8,4–10,3	10,4–15,3	>15,3
Альбумин, г/л	34–44	25–33	21–24	<21

Базисное лечение

Общие принципы:

- возможности базисного лечения болезни включают выведение меди из организма с использованием лекарственных средств — пеницилламина (хелатора меди) и солей цинка (подавление абсорбции меди в кишечнике);

- своевременно начатая медьэлиминирующая терапия эффективно предотвращает прогрессирование поражения печени, ведет к уменьшению выраженности клинических признаков заболевания, а терапия, начатая на доклинической стадии, снижает вероятность появления симптомов;

- лечение проводится пожизненно; перерывы в лечении увеличивают риск декомпенсации заболевания;

- в случаях прогрессирующего поражения печени, выраженной печеночной недостаточности единственным методом лечения остается ортотопическая трансплантация печени.

Цели:

а) начальная фаза терапии — достижение отрицательного баланса меди (в начале лечения экскреция меди значительно повышается и достигает уровня 2000–5000 мкг/сут; используется как дополнительный диагностический тест);

б) поддерживающая фаза — поддержание достигнутого баланса меди.

Критерии эффективности: суточная экскреция меди с мочой менее 150 мкг при терапии пеницилламином или менее 75 мкг при терапии цинка сульфатом, уровень несвязанной с церулоплазмином меди менее 250 мкг/л, улучшение показателей функциональных печеночных тестов.

Лекарственные средства и режимы лечения

Лекарственные средства	Дозы	Способ и кратность применения	Критерии эффективности
Пеницилламин	Начальная терапия: 250–500 мг/сут, увеличивая дозу на 250 мг каждые 4–7 дней до максимальной 1000–1500 мг/сут Поддерживающая терапия: 750–1000 мг/сут	За 1 ч до еды или спустя 2 ч после еды в 2–4 приема	Суточная экскреция меди с мочой менее 500 мкг, уровень несвязанной с церулоплазмином меди менее 250 мкг/л Стабильное улучшение клинических проявлений заболевания
Цинка (в 124 мг цинка сульфата содержится 45 мг элементарного цинка)	150 мг/сут элементарного цинка	В 3 приема	Суточная экскреция меди с мочой менее 75 мкг, уровень несвязанной с церулоплазмином меди менее 250 мкг/л Стабильное улучшение клинических проявлений заболевания

Мониторинг эффективности и безопасности лекарственной терапии

Контроль эффективности			Контроль безопасности	
Тесты	Частота	Критерии	Критерии	Частота
Церулоплазмин сыворотки крови Медь сыворотки крови	Регулярно, но не реже 2 раз в год	Уровень несвязанной с церулоплазмином (свободной) меди менее 250 мкг/л	Общий анализ крови Биохимические печеночные тесты Креатинин, мочевина ПТИ или МНО Анализ мочи общий	Регулярно, но не реже 2 раз в год
Суточная экскреция меди с мочой	1 раз в год	На фоне лечения пеницилламином: менее 500 мг/сут, цинка сульфатом: менее 75 мг/сут		
Клинические проявления	Регулярно, но не реже 2 раз в год	Стабильное улучшение		

Особенности медикаментозной терапии у беременных женщин:

- обмена меди должен быть оптимизирован до беременности;
- препараты цинка являются оптимальным выбором;
- пеницилламин обладает тератогенными свойствами, особенно в I триместре, но его отмена сопряжена с риском для пациентки; дозу пеницилламина снижают до

минимально необходимой, т. е. 300–600 мг/сут;

- грудное вскармливание не рекомендуется.

Прогноз:

- развитие клинических симптомов не происходит, если лечение начато на досимптомной стадии;

- на фоне лечения печеночные тесты (альбумин, сывороточный билирубин, активность АсАТ) могут нормализоваться через год от начала лечения; стабилизация активности патологического процесса на фоне лечения;

- продолжительность жизни на фоне лечения при достижении стабилизации и улучшения функции печени приближается к среднепопуляционной, без лечения заболевание прогрессирует и приводит к смерти.

ДЕФИЦИТ АЛЬФА₁-АНТИТРИПСИНА

Диагностические тесты:

Характеристики и их характеристики	Нормальные значения
Снижение концентрации альфа ₁ -антитрипсина (А1АТ) в сыворотке крови	Иммунотурбидиметрический метод — 0,9–2,0 г/л Метод иммуноэлектрофореза или радиальной иммунодиффузии — 1,5–3,5 г/л (20–50 мкмоль/л) Нефелометрический метод — 1,2–3,5 г/л
Молекулярно-генетическое исследование: определение Z и S аллелей гена <i>PI</i> (гомо- и гетерозиготное состояние/носительство)	
Биопсия печени: выявление ШИК-положительных включений, устойчивых к воздействию диастазы	

Поэтапная диагностика

I этап — скрининг целевых групп

Стратегия диагностического скрининга направлена на раннее выявление групп высокого риска носительства мутаций гена *PI*.

Пациенты с наличием патологических симптомов:

- заболевания печени неясной этиологии, необъяснимое повышение печеночных ферментов, гепатомегалия; хроническая HCV-инфекция;

- снижение фракции альфа₁-глобулинов протеинограммы.

Пациенты без жалоб и симптомов заболевания:

- родственники первой линии родства больных с дефицитом А1АТ, дети или родители которых имеют гомо- или гетерозиготное носительство патологических аллелей *PI*;

- пациенты, родственники которых имеют в анамнезе заболевания печени неясной этиологии, пациенты с желтухой новорожденных и/или повышением

активности трансаминаз в анамнезе.

Диагностические мероприятия:

- определение А1АТ в крови.

Оценка, комментарии и действия:

Вариант 1: А1АТ в норме. Направление пациента на медико-генетическое консультирование
Вариант 2: А1АТ снижен, но выше 35% нижней границы нормы. Направление пациента на медико-генетическое консультирование
Вариант 3: А1АТ менее 35% нижней границы нормы — тяжелый дефицит А1АТ. Направление пациента на медико-генетическое консультирование

II этап: выявление мутации *PI* гена

Диагностические мероприятия:

- молекулярно-генетическое исследование, имеющее целью поиск наиболее распространенного патологического аллеля *PIZ* (носительство мутаций гена *PI*, приводящих к полимеризации А1АТ).

Оценка, комментарии и действия:

Вариант 1: А1АТ в норме + <i>PIZ</i> не обнаружен. Возможно носительство других редких аллелей, кроме варианта <i>PIZ/N</i> (переход к этапу III)
Вариант 2: А1АТ в норме + гомозиготное/гетерозиготное носительство <i>PIZ</i> — дефицит А1АТ
Вариант 3: А1АТ снижен + <i>PIZ</i> не обнаружен. Возможно носительство других редких аллелей кроме варианта <i>PIZ/N</i> (переход к этапу III)
Вариант 4: А1АТ снижен + гомозиготное или гетерозиготное носительство <i>PIZ</i> — выносится заключение о дефиците А1АТ

Гомозиготное или гетерозиготное носительство *PIZ* независимо от уровня А1АТ в сыворотке крови является причиной повреждения печени. Отсутствие *PIZ* не может исключить генетический дефект. Носительство других более редких аллелей *PI*, способствующих полимеризации А1АТ, может обуславливать как нормальный уровень А1АТ в сыворотке крови, так и сниженный

III этап: определение включения полимеров А1АТ в гепатоцитах

Диагностические мероприятия:

- биопсия печени с гистохимическим исследованием.

Оценка, комментарии и действия:

Вариант I: Специфические включения обнаружены — повреждение печени обусловлено носительством патологических аллелей <i>PI</i>
Вариант II: Специфические включения не обнаружены — диагноз дефицита А1АТ не может быть исключен (возможно носительство редких аллелей <i>PI</i> , продукты которых не вызывают повреждение печени) — продолжается поиск другой причины поражения печени

Лечение, мониторинг

Мониторинг параметров поражения печени: физикальное исследование, функциональные печеночные тесты (АсАТ, АлАТ, ЩФ, билирубин, альбумин), ПТИ или МНО, общий анализ крови, УЗИ органов брюшной полости, компьютерная томография — при циррозе печени (для лиц старше 50 лет).

Профилактика дополнительного повреждения печени: вакцинация против вирусных гепатитов А и В, исключение употребления алкоголя, избегать назначения гепатотоксичных препаратов, ранний прием жаропонижающих лекарственных средств (при субнормальных значениях температуры тела).

Лечение: специфической терапии не существует, проводится коррекция клинических проявлений и осложнений как при заболеваниях печени другой этиологии; в терминальной стадии — трансплантация печени.