

**Е.Г. Казанец**

Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии, иммунологии, Москва

**Метгемоглобинемии**

**М**етгемоглобинемии (МКБ-10: D74) – гетерогенная группа заболеваний, обусловленных различными этиологическими и патогенетическими факторами, при которых содержание метгемоглобина (мет-Нб) в крови превышает физиологическую норму (> 1–2% общего количества Нб).

Классификация:

I. Первичные (наследственные) метгемоглобинемии:

- наследственные энзимопенические метгемоглобинемии:
  - ▶ доброкачественные (типы I, III, IV);
  - ▶ генерализованные (тип II);
- гемоглинопатии, обусловленные присутствием аномальных гемоглобинов группы М (М-гемоглинопатия, гемоглиноз М).

II. Вторичные (приобретенные, токсические) метгемоглобинемии:

- токсические экзогенного происхождения;
- токсические эндогенного происхождения.

**I. Первичные (наследственные) метгемоглобинемии (МКБ-10: D74.0)**

*Наследственная энзимопеническая метгемоглобинемия* (НЭМ) характерна снижением или полным отсутствием активности ферментных систем, участвующих в восстановлении мет-Нб. В зависимости от механизма повреждения фермента NADH-зависимой цитохром- $b_5$ -редуктазы ( $Cb_5R$ ) выделяют четыре типа заболевания.

НЭМ относится к довольно редким заболеваниям с обширной географией обнаружения и длительной историей. Первый случай был зафиксирован более века назад, а первая публикация появилась в 1932 году. На сегодня в мире описано около 600 случаев НЭМ. Наибольшее их число выявлено в Европе, однако описаны случаи НЭМ в Китае, Индии и Африке. Обнаружено три эндемических очага НЭМ среди индейцев и эскимосов на Аляске и в Якутии.

*Патогенез.* Мет-Нб – продукт окисления железа в молекуле гемоглобина. Нормальная оксигенация гемоглобина предполагает высвобождение электрона из атома железа для связи с кислородом. Железо при этом приобретает ферроформу ( $Fe^{3+}$ ), а кислород преобразуется в супероксид ( $O_2^-$ ). При деоксигенации электрон возвращается к атому железа (железо переходит в ферроформу –  $Fe^{2+}$ ) и высвобождается молекула кислорода ( $O_2$ ). Основная ферментная система, участвующая в этом процессе, –  $Cb_5R$  (или NADH-феррицианидредуктаза, NADH-дегидрогеназа, диафораза I, NADH-метгемоглобинредуктаза, NADH-дегидрогеназа) / эритроцитарный цитохром  $b_5$ . При блокаде этой системы вследствие генетических дефектов стимулируются минорные пути прямого восстановления мет-Нб эндогенными восстановителями (аскорбиновой кислотой, восстановленным глутатионом, флавином, тетрагидроптерином, цистеином, метаболитами триптофана) или другими системами.

Если железо гема не переходит обратно в ферроформу, то образуется мет-Нб, что в свою очередь приводит к нарушению транспорта кислорода.

При высоком содержании мет-Нб присутствуют как полностью окисленные молекулы Нб, так и частично окисленные – так называемые «валентные гибриды» с измененными функциональными параметрами. Они вызывают нарушение процессов оксигенации органов и тканей с развитием гипоксии и цианоза. Появление неврологической симптоматики связано с нарушением десатурации и элонгации жирных кислот в нейронах, что подтверждено снижением содержания ненасыщенных жирных кислот в аутопгате мозга больных.

*Генетика.* Тип наследования НЭМ – аутосомно-рецессивный. Ген  $Cb_5R$  картирован на хромосоме 22, ген цитохрома  $b_5$  – на хромосоме 18. В литературе описан лишь один случай гомозитного состояния по сплайсинг-мутации, приводящей к преждевременному появлению стоп-кодона и синтезу укороченного белка.

ченной полипептидной цепи эритроцитарного цитохрома  $b_5$ .

Ген  $Cb_5R$  имеет два промотора, что обеспечивает синтез двух форм этого фермента: растворимого эритроцитарного  $Cb_5R$  и мембраносвязанного, обнаруженного в гепатоцитах и других клетках, участвующего в десатурации и элонгации жирных кислот. Мутации, нарушающие стабильность фермента, но не затрагивающие его каталитические свойства, вызывают метаболические изменения только в безъядерных эритроцитах. Мутации, затрагивающие каталитический центр, нарушают метаболизм всех клеток, экспрессирующих  $Cb_5R$ .

Тип I – точечные мутации в гене  $Cb_5R$ , приводящие к потере активности цитоплазматического фермента в эритроцитах.

Тип II – точечные мутации, влияющие на каталитическую активность или значительно изменяющие структуру  $Cb_5R$ , приводящие к дефекту ее активности в клетках крови, миоцитах, гепатоцитах, клетках нервной системы и фибробластах.

Тип III – точечные мутации, приводящие к потере активности растворимой  $Cb_5R$  во всех гемопоэтических клетках.

Тип IV – мутации в гене цитохрома  $b_5$ , приводящие к снижению содержания кофермента в эритроцитах.

Гетерозиготы не имеют спонтанных клинических проявлений, однако у них повышен риск развития токсической метгемоглобинемии при соприкосновении с некоторыми химическими веществами или при приеме некоторых лекарственных средств (см. ниже).

#### *Клинические формы НЭМ*

*Доброкачественная форма* (типы I, III, IV) – наиболее распространенная. Активность  $Cb_5R$  в эритроцитах отсутствует или значительно снижена. Степень выраженности клинических проявлений зависит от количества мет-Нб, скорости развития метгемоглобинемии, компенсаторных особенностей сердечно-сосудистой, дыхательной и кровяной систем в процессе адаптации к гипоксии. Повышение мет-Нб до 10% чаще всего не дает клинически выраженных проявлений. При повышении мет-Нб в пределах 10–20% появляется цианоз слизистых и кожных покровов, возникают общая слабость, недомогание, ослабление памяти, раздражительность, головные боли. При содержании мет-Нб в пределах 30–50% к вышеперечисленным симптомам присоединяются боли в сердце различного характера, одышка, головокружение, резко выраженный цианоз, повышенная вязкость крови. Содержание мет-Нб более 70% несовместимо с жизнью.

В основном пациенты больше «синие», нежели «больные». Цианоз кожи и видимых слизистых обо-

лочек, особенно заметный в области носогубного треугольника, мочек ушей, ногтевого ложа, полости рта, проявляется с рождения. Окраска кожных покровов варьирует от серо-землистой до темно-фиолетовой.

У новорожденных могут наблюдаться изменения частоты сердечных сокращений, систолический шум в сердце, признаки гипоксии миокарда на ЭКГ, тахили или брадикардия, снижение двигательной активности, частые срыгивания. Эти состояния необходимо дифференцировать с врожденными пороками сердца «синего» типа.

Продолжительность жизни пациентов не страдает.

Беременность у больных НЭМ протекает нормально.

*Генерализованная форма* НЭМ (тип II) менее распространена, характеризуется дефицитом цитохром- $b_5$ -редуктазы во всех клетках и тканях. Течение заболевания прогрессирующее. Начало клинических проявлений – в неонатальном периоде. Заболевание манифестирует разлитым цианозом и грубой задержкой психомоторного развития, микроцефалией. Прогрессируют задержка роста, психомоторные расстройства, опистотонус, атетоидные движения, несогласие, генерализованный мышечный гипертонус, умственная отсталость. Смерть наступает в первые годы жизни.

*Лабораторная диагностика.* Венозная кровь имеет шоколадно-коричневый оттенок и не алеет при соприкосновении с воздухом. Общий и биохимический анализы крови – без отклонений от нормы. Кислородно-диссоционные кривые крови при НЭМ сдвинуты влево ( $P_{50}$  повышено, коэффициент Хилла (n) снижен, то есть уменьшена кооперативность гемов в процессе присоединения к ним молекул кислорода). Для определения содержания мет-Нб и активности  $Cb_5R$  используют гемолизат, лейкоциты периферической крови, культуру фибробластов, биоптат печени. Мет-Нб определяют несколькими методами: на СО-оксиметре, методом Evelyn-Malloy. Активность  $Cb_5R$  в эритроцитах определяется по методу *Hegesh*. Значения 0–0,5 ед. активности характерны для гомозигот; 0,6–1,6 ед. – для гетерозигот; 2–4,5 ед. – для здоровых людей старше одного года. Диагностика гетерозиготной формы у детей раннего возраста затруднена, так как становление активности фермента начинается с 6 мес и завершается к первому году жизни. В *таблице 1* приведены нормальные значения активности  $Cb_5R$  у детей первого года жизни.

*Лечение* направлено на восстановление мет-Нб, купирование цианоза и осуществляется двумя группами веществ – непосредственно химически восстанавливающими мет-Нб (аскорбиновая кислота) и активирующими ферментативные восстановительные

системы эритроцита (метиленовый синий). Аскорбиновая кислота (АК) назначается внутрь в разовой дозе 300 мг три раза в сутки в течение 3–4 дней (за этот период уровень мет-Нб снижается до 9–10%), затем – в поддерживающей дозе 50–100 мг три раза в сутки в течение 2–3 мес. Прием АК в дозах, превышающих физиологические, может укорачивать протромбиновое время, разрушать витамин В12, способствовать образованию оксалатных камней в мочевыводящих путях, оказывать угнетающее влияние на инсулярный аппарат поджелудочной железы, стимулировать образование кортикостероидных гормонов, что при известных условиях может привести к повреждению клубочков почек и развитию артериальной гипертензии. В связи с этим необходимо делать перерывы на 2–4 недели между курсами АК и тщательно контролировать состояние пациента. Лечение пожизненное. Эффективных методов коррекции неврологических нарушений при типе II нет.

**Профилактика** – медико-генетическая консультация и пренатальная диагностика (только для типа II) для предотвращения рождения больных детей. При типе II возможно определение активности мутантного фермента в биоптате хориона и культуре амниоцитов.

**Гемоглобинопатии, обусловленные присутствием аномальных гемоглобинов группы М** (М-гемоглобинопатия, гемоглобиноз М)

Гемоглобиноз М характерен наличием аномального гемоглобина группы М (НбМ). К этой группе принадлежат 2  $\alpha$ -глобиновых варианта, 3  $\beta$ -глобиновых варианта и 2  $\gamma$ -глобиновых варианта аномальных Нб.

Гемоглобиноз М – еще более редкая аномалия, чем НЭМ (на 20 случаев НЭМ приходится один случай гемоглобиноза М). Первый случай НбМ был описан в 1948 году *Horlein* и *Weber*. Спорадические случаи гемоглобиноза М диагностировали среди различных этнических групп в разных странах – Великобритании, Германии, Франции, Норвегии, Польше, Канаде, США, Иране, ЮАР, Новой Зеландии, Японии, Литве, Украине, Армении, Белоруссии, Грузии, разных регионах России.

Гемоглобиноз М наследуется только аутосомно-доминантно. Гомозиготных больных до настоящего времени не выявлено.

**Патогенез.** Характеристика гемоглобинов группы М представлена в *таблице 2*. Все они имеют замени аминокислот в области гемового кармана в непосредственной близости от атома железа, что влияет на процесс оксигенации. Основное значение для этого процесса имеют F-8 гистидины, называемые проксимальными, обеспечивающие непосредственную связь гема с глобином. E-7 гистидины – дистальные, предохраняющие железо в геме от окисления. E-11 валины – регуляторы скорости присоединения кислорода. Замена проксимальных (F-8) или дистальных (E-7) гистидинов на тирозин или валина (E-11) на глицин приводит к тому, что железо в геме находится в окисленной форме и не способно обратимо присоединять кислород.

По функциональным свойствам  $\alpha$ - и  $\beta$ -варианты существенно отличаются друг от друга: для  $\alpha$ -вариантов характерно низкое сродство к кислороду и значительное снижение эффекта Бора, для  $\beta$ -вариантов – нормальное или повышенное сродство к кислороду и нормальный эффект Бора.

Содержание НбМ в эритроцитах больных при наличии мутации в  $\alpha$ -глобиновой цепи составляет 15–30% общего количества Нб, при мутации в  $\beta$ -глобиновой цепи – 40–50%.

**Клинические проявления.** Цианоз проявляется в раннем возрасте (с рождения у носителей  $\alpha$ - и  $\gamma$ -вариантов; с 3–4 мес жизни – у носителей  $\beta$ -вариантов), когда происходит смена НбF ( $\alpha_2\gamma_2$ ) на НбA ( $\alpha_2\beta_2$ ). По этой же причине у новорожденных с мутацией в  $\gamma$ -глобиновой цепи цианоз исчезает к 3–4 мес жизни.

Степень выраженности цианоза различна: более выражен цианоз слизистой губ, носо-губного треугольника, в меньшей степени – ногтевого ложа. При физической нагрузке и переохлаждении цианоз усиливается. При наличии  $\beta$ -глобинового варианта НбМ может присутствовать легкий гемолитический синдром, что, по-видимому, связано с некоторой нестабильностью аномального Нб.

Продолжительность жизни больных не страдает, имеется лишь косметический дефект.

Таблица 1

Активность NADH-зависимой цитохром- $b_5$ -редуктазы в пуповинной крови и у детей первого года жизни в норме

Активность $Cb_5R$ , ед.	Пуповинная кровь	Возраст												
		3–6 дней	1 мес	2 мес	3 мес	4 мес	5 мес	6 мес	7 мес	8 мес	9 мес	10 мес	11 мес	12 мес
Среднее значение	1,14	1,15	1,14	1,7	1,65	1,60	1,80	2,20	1,92	2,30	2,10	2,00	2,11	2,00
Стандартное отклонение	0,14	0,9	0,04	0,14	0,13	0,16	0,14	0,08	0,06	0,16	0,13	0,07	0,09	0,15

*Лабораторная и дифференциальная диагностика.* Венозная кровь имеет коричневый оттенок, при соприкосновении с воздухом не алеет. Парциальное давление  $O_2$  ( $pO_2$ ) в венозной крови в пределах нормальных значений. Количество мет-Нб определяют традиционным спектральным методом: в случае  $\alpha$ -вариантов – в пределах нормы; в случае  $\beta$ -вариантов иногда достигает 10% и не соответствует степени цианоза, поэтому необходимо проводить спектральный анализ Нб при длине волны 631, 502 и 600 нм с расчетом коэффициентов Бетке, то есть отношений оптических плотностей при длинах волн 630/600 нм и 500/600 нм (в норме  $D_{\lambda 630}/D_{\lambda 600} \geq 1,25$ ;  $D_{\lambda 500}/D_{\lambda 600} \geq 2,8$ ). Присутствие структурно аномальных гемоглобинов НбМ можно выявить при электрофорезе гемоглобинов (НбМ имеют различную электрофоретическую подвижность, функциональные свойства) при исследовании спектров электронного парамагнитного резонанса. В настоящее время диагностику проводят в основном молекулярно-генетическими методами.

Для дифференциальной диагностики наследственных метгемоглобинемий используют: анализ спектральных характеристик, измерение активности  $Cb_3R$  (при гемоглобинозе М ее активность не изменена), инкубацию венозной крови с метиленовым синим (не восстанавливает окисленное железо в гемах аномальных НбМ, цвет крови не изменяется), анализ и интерпретацию семейных родословных (тип наследования).

*Лечение:* не требуется. Косметический дефект (цианоз) не купируется никакими известными средствами. Качество и продолжительность жизни пациентов не страдает.

## II. Вторичные (приобретенные, токсические) метгемоглобинемии

(МКБ-10: D74.8 другие метгемоглобинемии)

*Токсические метгемоглобинемии эндогенного происхождения* развиваются вследствие нарушения продукции и всасывания нитратов при энтероколитах (так называемый энтерогенный цианоз). Точный механизм развития метгемоглобинемии неизвестен, но может включать повышенную эндогенную продукцию нитритов.

*Токсические метгемоглобинемии экзогенного происхождения* возникают:

- ▶ при воздействии химических агентов: нитроэтан (жидкость для снятия лака с ногтей), анилин (некоторые средства дезинфекции, маркеры, фурацилин), нафталин, окись азота, нитриты (феррил-, амил-, К-, Na-, изобутил), нитраты (превращаемые бактериями в нитриты);
- ▶ при приеме внутрь некоторых лекарственных средств (как в рекомендованных, так и в повышенных дозах): производное нитробензола (ацетаминофен), анальгетики (ацетанилид, фенацетин), нитробензолы/нитробензоаты, нитроглицерин, нитрофурагин, тринитротолуол, гидроксилламин, диметиламин, местные анестетики (лидокаин, прилокаин, бензокаин), дапсон, флютамид, метоклопрамид (Церукал), сульфаметоксазол, сульфаниламиды, менадион (витамин  $K_3$ ), нафтохинон, феназопуридин (Пуридиум), антибиотики (ампициллин, амикацин, гентамицин, карбенициллин).

Таблица 2

### Свойства НбМ

(The Molecular Basis of Blood Diseases (second edition), eds: G. Stamatoyannopoulos, A.W. Nienhuis, Ph.W. Majerus, H. Varmus, W.B. Saunders Company, 1987)

Гемоглобин	Структура	Геликс	Сродство к кислороду (P50)	Эффект Бора
M-Boston	$\alpha 58 \text{ His} \rightarrow \text{Tyr}$	E7	Снижено	Снижен
M-Iwate	$\alpha 86 \text{ His} \rightarrow \text{Tyr}$	F8	Снижено	Снижен
M-Saskatoon	$\beta 63 \text{ His} \rightarrow \text{Tyr}$	E7	Не изменено	Нормальный
M-Hyde Park	$\beta 92 \text{ His} \rightarrow \text{Tyr}$	F8	Не изменено	Нормальный
M-Milwaukee-1	$\beta 67 \text{ Val} \rightarrow \text{Glu}$	E11	Снижено	Нормальный
FM-Osaka	$\gamma 63 \text{ His} \rightarrow \text{Tyr}$	E7		
FM-Fort Ripley	$\gamma 92 \text{ His} \rightarrow \text{Tyr}$	F8		



Некоторые из них непосредственно окисляют Hb, другие, образуя промежуточные агрессивные формы кислорода, способствуют образованию мет-Hb.

К группе риска возникновения токсической метгемоглобинемии относятся: гетерозиготы по НЭМ за счет повышенной склонности к образованию мет-Hb (активность  $Cb_5R$  снижена на 50%), новорожденные, особенно недоношенные (дефицит ферментов  $Cb_5R$ , глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы, увеличенная скорость аутоокисления HbF по сравнению с HbA и часто наличие в ЖКТ условно патогенной флоры).

Известны случаи возникновения токсической метгемоглобинемии при употреблении колодезной воды (присутствие нитратов, преобразующихся в ЖКТ в нитриты), неправильно приготовленных овощей (например, шпината), имеющих в своем составе нитрат-редуктазу.

При токсической метгемоглобинемии очень важно выявить агент, действие которого привело к заболеванию.

Острые отравления представляют угрозу для жизни, поэтому тем, у кого проявляется атипичный цианоз или цианоз, сочетающийся с нормальным содержанием газов крови, требуется измерение содержания мет-Hb.

**Диагностика.** Диагностические критерии токсических форм метгемоглобинемии у детей раннего возраста: отчетливый цианоз с фиолетовым оттенком, мышечная гипотония, снижение двигательной активности, срыгивания. У детей старшего возраста и взрослых клинические проявления сходны с таковыми при НЭМ и зависят от содержания мет-Hb в крови, то есть от степени насыщения кислородом тканей, повышения уровня мет-Hb при отсутствии наследственных метгемоглобинемий и патологии со стороны легких и сердечно-сосудистой системы.

**Лечение.** Легкие случаи не требуют лечения, показано динамическое наблюдение в течение 1–3 дней, пока уровень мет-Hb не снизится до нормальных значений. В среднетяжелых случаях рекомендуется внутривенно вводить аскорбиновую кислоту в дозе 200–300 мг/кг/сут. В тяжелых случаях токсической метгемоглобинемии лечение начинается с внутривенного введения (в течение 3–5 мин) метиленового синего в дозе 1–2 мг/кг массы тела в физиологическом растворе. При необходимости введение можно повторить через 30 мин в дозе 1 мг/кг массы тела. Для лиц с дефицитом глюкозо-6-фосфат дегидрогеназы введение МС категорически запрещено в связи с высоким риском развития массивного внутрисосудистого гемолиза. Для них, а также в случаях крайне тяжелого поражения показано проведение обменного переливания крови. При необходимости проводят оксигенотерапию.

Поддерживающую терапию АК или МС *per os* можно назначать после преодоления критической ситуации.

Быстрый поиск и удаление токсического агента – наиболее важный фактор, сопровождающий терапию.

#### Литература

1. Краснопольская К.Д. Наследственные болезни обмена веществ. Справочное пособие для врачей. – М., 2005, 290 с.
2. Нисан Л.Г., Гуревич С.П., Казанец Е.Г., Фролова М.И., Токарев Ю.Н., Салмова Т.С., Бутина М.В. Наследственная энзимопеническая метгемоглобинемия у новорожденных // Вопросы материнства и детства, 1987, №1, с. 74–75.
3. Казанец Е.Г., Андреева А.П., Хангулов С.В., Токарев Ю.Н. Наследственные цианозы, обусловленные присутствием в крови аномальных гемоглобинов группы М: выявление, идентификация, свойства // Гематология и трансфузиология, 1990, №3, с. 9–13.
4. Andreeva A.P., Kazanetz E.G., Tokarev Yu.N. Hereditary methemoglobinemias. Sov Med Rev C Hematology 1990; 2B: 79–102.
5. Jaffe E.R., Hultquist D.E. Cytochrome b5 reductase deficiency and enzymopenic hereditary methemoglobinemia. In: Scriver C.R., Beaudet A.L., et al. edition. The metabolic basis of inherited disease. 6th ed. New York: Mc Graw-Hill; 1987.
6. Jaffe E.R. Enzymopenic hereditary methemoglobinemia: a clinical/biochemical classification. Blood Cells 1986; 12: 81–90.
7. Stomatoyannopoulos G., Nienhuis A.W., Majerus Ph.W., Varmus H., editors. The molecular basis of blood diseases. 2nd ed. W.B. Saunders Company; 1987.
8. Nathan D.G., Orkin S.H., Ginsburg D.G., Look A.T. editors. Hematology of infancy and childhood. 6th ed. W.B. Saunders Company; 2003.
9. Andreeva A.P., Dmitriyeva M.G., Levina A.A., Tsibulskaya L.M., Kazanetz Ye.G., Ilynskaya I.I., Derviz G.V., Tokarev Yu.N. Valency hybrids of hemoglobin in red cells of patients with hereditary enzymopenic methemoglobinemia. Acta Boil Med Germ 1977; 36: 743–8.
10. Gregg X.T., Prchal J. Red blood enzymopathies. In: Hoffman R., Benz E.J., Shatti S.J., Fuzie B., Cohen J., Silberstein L.E., McGlove Ph., editors. Hematology basis principles and practice. 4th ed. Philadelphia: Elsevier, Churchill, Livingstone; 2005. p. 653–67.
11. Benz E.J. Hemoglobin variants associated with hemolytic anemia, altered oxygen affinity and methemoglobinemias. In: Hoffman R., Benz E.J., Shatti S.J., Fuzie B., Cohen J., Silberstein L.E., McGlove Ph., editors. Hematology basis principles and practice. 4th ed. Philadelphia: Elsevier, Churchill, Livingstone; 2005. p. 645–52.