

# БОЛЕЗНЬ ВИЛЬСОНА-КОНОВАЛОВА: ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА И МОНИТОРИНГ, ПЕРСОНАЛИЗИРОВАННЫЙ ПОДХОД

А. А. Соколов<sup>1</sup>, С. Н. Бардаков<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «СЗГМУ им. И. И. Мечникова» МЗ РФ, г. Санкт-Петербург

<sup>2</sup>ФГВВОУ ВО «Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова» МО РФ, г. Санкт-Петербург

## Резюме

Болезнь Вильсона-Коновалова — это тяжелое прогрессирующее жизнеугрожающее наследственное аутосомно-рецессивное заболевание из группы нарушений обмена веществ с мультисистемными проявлениями. Лабораторная диагностика лежит в основе его раннего выявления и своевременного начала лечения, мониторинга течения заболевания, подбора и оценки эффективности терапии, минимизации ее побочных эффектов. В статье представлены современные подходы к диагностике и мониторингу болезни Вильсона с использованием лабораторных исследований. Демонстрируются примеры фенотипической диагностики и мониторинга. При правильном использовании лабораторных тестов возможно приблизиться к персонализированному лечению пациентов, увеличить продолжительность и улучшить качество их жизни.

**Ключевые слова:** болезнь Вильсона, медь, церулоплазмин, лабораторная диагностика, мониторинг, персонализированный подход.

DOI: 10.58953/15621790\_2024\_15\_1-2\_45

# WILSON-KONOVALOV DISEASE: LABORATORY DIAGNOSIS AND MONITORING, PERSONALIZED APPROACH

A. A. Sokolov<sup>1</sup>, S. N. Bardakov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint-Petersburg

<sup>2</sup>Medical-Military Academy named after S. M. Kirov, Saint-Petersburg

## Summary

Wilson-Konovalov disease is a severe progressive life-threatening hereditary autosomal recessive disease from the group of metabolic disorders with multisystem manifestations. Laboratory diagnostics is the basis for early diagnosis and timely initiation of treatment, monitoring the course of the disease, selecting and evaluating the effectiveness of therapy, minimizing its side effects. Modern approaches to the diagnosis and monitoring of Wilson's disease using laboratory research are presented in the article. Examples of phenotypic diagnosis and monitoring are demonstrated. When laboratory tests are used correctly, it is possible to approach personalized treatment of patients, increase the duration and improve their quality of life.

**Keywords:** Wilson's disease, copper, ceruloplasmin, laboratory diagnostics, monitoring, personalized approach

Болезнь Вильсона-Коновалова (БВК, гепатолен-тикулярная дегенерация, гепатocereбральная дистрофия) — тяжелое прогрессирующее наследственное заболевание, передающееся по аутосомно-рецессивному типу, в основе которого лежит нарушение экскреции меди из организма, приводящее к избыточному накоплению этого микроэлемента в тканях и сочетанному поражению паренхиматозных органов (прежде всего печени) и головного мозга (преимущественно подкорковых ядер).

Причиной возникновения БВК являются мутации гена АТР7В, который локализован на 13 хромосоме в локусе 13q14.3 и кодирует медь-транспортирующую АТФ-азу Р-типа — АТР7В [1,2]. К настоящему времени

идентифицировано более 600 различных мутаций, для 380 из них доказана роль в патогенезе заболевания [3].

Основными ферментами, обеспечивающими транспорт меди в организме, являются АТФ-аза 7А и АТФ-аза 7В. мРНК АТФ-азы 7А обнаружена в энтероцитах и сосудистом сплетении головного мозга, фермент участвует в процессах всасывания меди в кишечнике и проникновении её в головной мозг. Недостаток АТФ-азы 7А вызывает болезнь Менкеса. мРНК АТФ-азы 7В обнаружена в гепатоцитах и капиллярах мозга. Этот фермент участвует в выведении меди из организма (из крови в желчь) и из головного мозга в кровь [4,5]. Недостаток АТФ-азы 7В вызывает болезнь Вильсона-Коновалова.

Таблица 1.

Значения лабораторных показателей, характеризующие обмен меди у здоровых лиц [6–8]

| Лабораторный показатель, биоматериал        | Единицы измерения | Среднее значение | Диапазон значений |            |
|---|-------------------|------------------|-------------------|------------|
|   |                   |                  | ± 1SD             | ± 2SD      |
| Церулоплазмин, сыворотка крови              | мг/л              | 394              | 382–406           | 370–418    |
| Медь, эритроциты                            | мкг/л             | 915              | 826–1004          | 737–1093   |
|   | мкмоль/л          | 14,4             | 13,0–15,8         | 11,6–17,2  |
| Медь общая, сыворотка крови                 | мкг/л             | 1194             | 859–1529          | 524–1864   |
|   | мкмоль/л          | 18,8             | 13,5–24,0         | 8,2–29,3   |
| Медь свободная, сыворотка крови             | мкг/л             | 78,5             | 65,6–91,4         | 52,7–104,3 |
|   | мкмоль/л          | 1,20             | 1,03–1,44         | 0,83–1,64  |
| Медь, суточная моча                         | мкг/сут           | 48,3             | 38,1–58,5         | 28,0–68,6  |
|   | мкмоль/сут        | 0,76             | 0,60–0,92         | 0,44–1,08  |
| Медь, кал суточный                          | мкг/сут           | 3900             | 3350–4350         | 2900–4800  |
|   | мкмоль/сут        | 61,4             | 52,7–68,5         | 45,6–75,5  |
| Медь, ликвор                                | мкг/л             | 14,2             | 8,2–20,2          | 2,2–26,2   |
|   | мкмоль/л          | 0,22             | 0,13–0,32         | 0,03–0,41  |
| Медь свободная/медь общая, сыворотка крови  | %                 | 5–10             | -                 | -          |
| Медь ликвора/общая медь сыворотки крови     | %                 | 1,2              | -                 | -          |
| Медь ликвора/медь свободная сыворотки крови | %                 | 18,3             | -                 | -          |

Значения лабораторных показателей, характеризующие обмен меди, представлены в таблице 1.

АТФ-аза 7В имеет 6 медь-связывающих доменов. Она осуществляет транспорт ионов меди из клетки за счет энергии расщепления АТФ, а также участвует в образовании из апо-церулоплазмينا функционально активного церулоплазмينا, который затем выделяется в кровь. Отсутствие АТФ-азы 7В нарушает выделение меди из головного мозга в кровь, из крови в желчь и далее с калом из организма.

Ведущим звеном патогенеза БВК является хроническая интоксикация медью. Медь накапливается в печени, селезенке, почках, головном мозге, роговице, хрусталике глаза и других органах. Накопление меди в печени приводит к некрозу гепатоцитов, воспалению, фиброзу, пролиферации желчных протоков и циррозу; в головном мозге — к некрозу нейронов с образованием полостей (кист). Изменения других органов и тканей, как правило, незначительны [6,9,10].

Массивный выброс меди из гепатоцитов в кровь при их разрушении под воздействием какой-либо внешней причины (инфекция, интоксикация, ятрогенная реакция на тиоловые хелаты и др.) может привести к многократному повышению её концентрации в плазме крови, причём за счёт наиболее токсичной, несвязанной с церуло-

плазмином фракции, и к медь-индуцированному (на фоне гипоцерулоплазминемии) массивному гемолизу и далее к фульминантной печеночной недостаточности.

БВК относится к редким заболеваниям. Распространенность её по данным международной базы данных Orphanet составляет 1–9 случаев на 100 000 населения (в среднем 1 на 25 000), ежегодная частота выявления новых случаев — от 1 на 30 000 до 1 на 100 000 населения. Носителем дефектного гена по ориентировочным оценкам является каждый 90–100-й человек (1%) [3,11]. Информация о встречаемости БВК в РФ в настоящее время отсутствует. Однако, на основе ранее полученных по территориям СССР эпидемиологических данных, встречаемость ее может колебаться от 0,29 до 2,6 на 100 000 населения [12].

Первые клинические симптомы заболевания чаще всего проявляются в возрасте от 5 до 45 лет. Однако описано развитие заболевания у ребенка 2,5 лет, а также диагностирована неврологическая форма у больного старше 60 лет. Наиболее ранние клинические проявления заболевания у индивидов с патологическими мутациями могут быть индуцированы воздействием неблагоприятных факторов внешней среды, таких как инфекции (преимущественно гепатотропные), черепно-мозговая травма, токсические воздействия, в том числе антропогенной природы или при проживании в местностях, с повышен-

ным содержанием меди в окружающей среде (например, в Кемеровской области) [11,13]. Заболевание носит прогрессирующий характер, сопровождается снижением качества и продолжительности жизни.

Клинические симптомы заболевания наиболее выражены у пациентов-гомозигот, имеющих 2 идентичные мутации. Однако наибольшее число пациентов являются компаунд-гетерозиготами, т.е. имеют различные мутации в гомологичных хромосомах, каждая из которых унаследована от одного из родителей. Индивидуумы, имеющие одну мутацию, как правило, не имеют клинических симптомов заболевания, но могут передать ее половине своего потомства. Так как БВК наследуется по аутосомно-рецессивному типу, вероятность рождения больного ребенка у родителей-гетерозигот составляет 25%.

Клиническая картина БВК характеризуется большим полиморфизмом в отношении как неврологических, так и соматических проявлений. Основными формами БВК являются абдоминальная и церебральная. Абдоминальная форма может проявляться гепатопатией, вильсоновским гепатитом и циррозом печени, фульминантной печеноч-

ной недостаточностью. Вариантами церебральной формы являются: ригидно-аритмо-гиперкинетическая, дрожатель-но-ригидная, дрожательная и экстрапирамидно-корковая. У некоторых пациентов заболевание манифестирует гемолитической анемией (с кризами и без), нефропатией по типу тубулярного нефрита, психическими нарушениями.

Течение заболевания можно разделить на 2 стадии: латентную и стадию клинических проявлений. При латентной стадии клинические симптомы отсутствуют и признаки заболевания (признаки накопления меди в организме) выявляются только при лабораторном исследовании. При эффективном лечении дополнительно выделяют стадию отрицательного баланса меди. В этом случае в результате достижения и длительного поддержания отрицательного баланса меди наблюдается регресс клинических и лабораторных проявлений заболевания [14].

Основными тестами, используемыми для диагностики заболевания, являются показатели обмена меди: концентрация церулоплазмينا, общей и свободной меди в сыворотке крови, суточная экскреция меди с мочой, содержание меди в ткани печени [10], (табл. 2).

Таблица 2.

**Основные лабораторные тесты для диагностики гепатоцеребральной дистрофии (болезни Вильсона-Коновалова) [10]**

| Тест   | Результаты исследования  |  |   |
|--|--|--|---|
|  | Типичные   | Ложноотрицательные   | Ложноположительные  |
| Концентрация церулоплазмينا (ЦП) в сыворотке крови | Снижение на 50% и более от нижней границы референсных значений                 | Возможны «нормальные»* значения у пациентов с системной воспалительной реакцией при воспалительных процессах в печени или другой локализации. Превышение границ референсных значений возможно при беременности и терапии эстрогенами, при определении концентрации ЦП иммунологическими методами | Низкий уровень ЦП возможен при синдроме мальабсорбции, аутоиммунном гепатите, тяжелой печеночной недостаточности, семейной ацерулоплазминемии, у гетерозиготных носителей мутаций БВК |
| Суточная экскреция меди с мочой                    | >1,6 мкМ/сут. или >100 мкг/сут.**<br>> 0,64 мкМ/сут. или > 40 мкг/сут. у детей | Возможны «нормальные»* значения у детей без поражения печени, также при неправильном сборе мочи  | Возможно повышение при некрозе гепатоцитов, холестазах, контаминации при неправильном сборе мочи  |
| Концентрация свободной меди в сыворотке крови      | > 1,6 мкМ/л  | Значения могут быть «нормальными»* при определении иммунологическими методами повышенного уровня ЦП  | -   |
| Концентрации меди в ткани печени                   | > 4 мкМ/г или > 250 мкг/г сухого веса ткани                                    | Возможны локальные различия у пациентов с острым поражением печени и при наличии регенеративных узлов  | Возможно повышение при синдроме холестаза   |

\*«нормальные» значения – значения показателя в пределах референсного диапазона

\*\* для повышения диагностической ценности показателя необходимо пересчитывать суточную экскрецию меди с мочой на стандартную поверхность тела 1,73 м<sup>2</sup>. Для этого величину суточной экскреции меди с мочой нужно разделить на рассчитанное значение поверхности тела пациента (рассчитывается по номограммам или формулам) и умножить на стандартное значение поверхности тела (1,73 м<sup>2</sup> – поверхность тела человека с ростом 170 см и весом 70 кг). В этом случае диагностически значимый уровень суточной экскреции меди > 1,6 мкМ/сут. x 1,73 м<sup>2</sup> или >100 мкг/сут. x 1,73 м<sup>2</sup>. Различий у детей и взрослых нет.

### Церулоплазмин сыворотки крови

Церулоплазмин (ЦП) является главным транспортным белком — переносчиком меди в плазме крови. Он относится к белкам острой фазы с ферроксидазной активностью. Одна молекула ЦП способна связывать 6 атомов меди. Уровень церулоплазмينا может быть измерен ферментативным методом (определение медь-зависимой оксидазной активности), а также иммунологическими методами (радиоиммунный анализ, радиальная иммунодиффузия, иммунотурбодиметрия). При использовании ферментативного метода определяется только голоцерулоплазмин — ЦП, связанный с атомами меди, а при иммунологических методах — голоцерулоплазмин и апоцерулоплазмин — ЦП, не содержащий меди. Референсный диапазон концентрации церулоплазмينا при определении ферментативным методом составляет 150–480 мг/л. При БВК концентрация ЦП обычно ниже 100 мг/л (при церебральной форме ниже, чем при абдоминальной). Она может быть повышена при системной воспалительной реакции, при беременности и гиперэстрогемии; может быть снижена при состояниях, сопровождающихся потерей белка с мочой или кишечным содержанием заболевания печени любой этиологии, при семейной ацерулоплазминемии, примерно у 20% гетерозиготных носителей мутации болезни Вильсона.

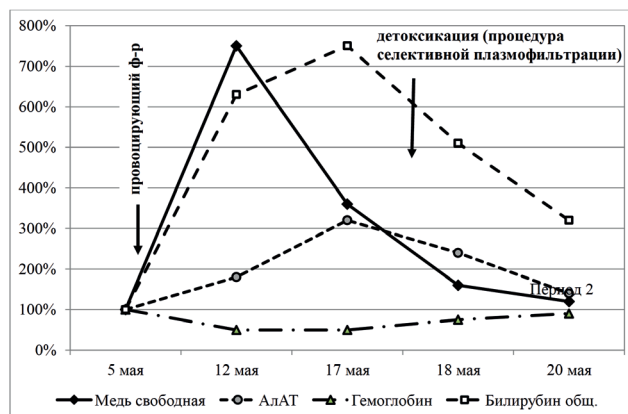
Таким образом, концентрация церулоплазмينا в сыворотке крови не может быть надежным маркером для подтверждения или исключения БВК, но оптимальна в качестве скринингового показателя для выделения пациентов, которым показано углубленное исследование обмена меди.

### Концентрация меди в сыворотке крови

Показатель «общая медь» сыворотки включает и концентрацию меди, связанной с церулоплазмином (в норме 90–95% от общей меди). Поэтому, хотя при БВК наблюдается избыток меди в организме, концентрация общей меди сыворотки крови снижена пропорционально снижению концентрации церулоплазмينا. При этом концентрация «нецерулоплазминовой» свободной меди повышается выше 2 мкмоль/л (референсный диапазон 0,8–1,6 мкмоль/л) и составляет от 40 до 80% общей меди сыворотки. Исключение составляет фульминантная печеночная недостаточность или «вильсоновский криз». При этом патологическом состоянии происходит массивный выброс меди из разрушенных гепатоцитов (рис.1). Концентрация свободной меди может возрастать в десятки раз (до 40 мкмоль/л и выше). Соответственно увеличивается и концентрация общей меди.

Рисунок 1.

*Динамика лабораторных показателей при развитии и лечении «Вильсоновского» криза у пациента с болезнью Вильсона (100 % — уровень показателей до развития криза: свободная медь — 5 мкмоль/л, АлАТ — 78 МЕ/л, гемоглобин — 113 г/л, билирубин общий — 73 мкмоль/л)*



Концентрация свободной меди определяется расчетным способом по формуле [15]:

$$CCu(d) = CCu(t) - CCu(ЦП) = CCu(t) - 49,4 \times CЦП$$

где  $CCu(d)$  — концентрация свободной меди (мкмоль/л),  $CCu(t)$  — концентрация общей меди (мкмоль/л),  $CCu(ЦП)$  — концентрация церулоплазминовой меди (мкмоль/л),  $CЦП$  — концентрация церулоплазмينا (г/л), 49,4 — коэффициент пересчёта (зависит от молекулярной массы церулоплазмينا и количества молекул меди, связываемых церулоплазмином, в разных источниках значение колеблется от 49,26 до 49,6).

Концентрация свободной меди является важным диагностическим тестом при БВК и коррелирует с тяжестью состояния больных и эффективностью проводимой терапии [16]. У нелеченых пациентов её уровень обычно превышает 3 мкмоль/л (200 мкг/л). Уровень свободной меди в сыворотке крови может также увеличиваться при острой печеночной недостаточности любой этиологии, хроническом холестазае, а также в случаях отравления медью.

Основная проблема концентрации свободной «нецерулоплазминовой» меди как диагностического теста — зависимость от адекватности определения общей меди (колориметрический метод определения) и церулоплазмينا сыворотки (ферментативный метод определения). Это показатель чаще используют для мониторинга фармакотерапии чем для диагностики заболевания.

### Суточная экскреция меди с мочой

Определение концентрации меди в суточной моче может быть полезно как для диагностики заболевания, так и для мониторинга лечения. У нелеченых пациентов суточная экскреция меди с мочой отражает количество свободной «нецерулоплазминовой» меди в циркулирующей крови. Для точного определения суточной экскреции меди с мочой необходимо аккуратное измерение объема суточной мочи и суточной экскреции креатинина. При почечной недостаточности тест не применим.

У нелеченых пациентов, имеющих симптомы заболевания, диагностическое значение имеет уровень суточной экскреции меди выше 1,6 мкмоль/сут или 100 мкг/сут. Суточная экскреция меди с мочой может быть меньше 1,6 мкмоль/сут у 16–23% пациентов, особенно в латентной стадии заболевания и у детей. В этом случае диагностически значимым считается уровень суточной экскреции меди > 0,64 мкМ/сут или > 40 мкг/сут.

Для повышения диагностической ценности показателя необходимо пересчитывать суточную экскрецию меди с мочой на стандартную поверхность тела 1,73 м<sup>2</sup>. Для этого величину суточной экскреции меди с мочой нужно разделить на значение, соответствующее поверхности тела пациента (рассчитывается по номограммам или формулам) и умножить на значение стандартной поверхности тела 1,73 м<sup>2</sup> – поверхность тела человека с ростом 170 см и весом 70 кг. В этом случае диагностически значимый уровень суточной экскреции меди > 1,6 мкМ/сут. x 1,73 м<sup>2</sup> или >100 мкг/сут. x 1,73 м<sup>2</sup>. Различий у детей и взрослых нет.

Проблемы при измерении суточной экскреции меди с мочой связаны с ошибками при сборе мочи (неполный сбор мочи, попадание меди со стенок сосуда, в который собирается моча). Для уменьшения ошибок необходимо собирать мочу в специальные контейнеры, а если такие отсутствуют, в пластиковые емкости из под питьевой воды.

Увеличение суточной экскреции меди с мочой возможно также при других заболеваниях печени (аутоиммунный гепатит, хронические активные заболевания печени, холестаза, острая печеночная недостаточность другого генеза), у некоторых гетерозиготных носителей мутаций болезни Вильсона, а также при использовании препаратов тиоктовой кислоты.

Очень полезным тестом для фенотипической диагностики заболевания является проба с D-пеницилламином – суточная экскреция меди с мочой на фоне приема тестовой дозы (500 мг ~ 7 мг/кг массы тела)

D-пеницилламина. При отклонении веса пациента более чем на 10% от стандартного (70 кг) тестовая доза должна быть скорректирована или на массу тела или на площадь поверхности тела (см. выше). Рассчитанная доза D-пеницилламина делится на 2 приема: 1/2 – в начале сбора мочи и 1/2 – через 12 часов после начала сбора.

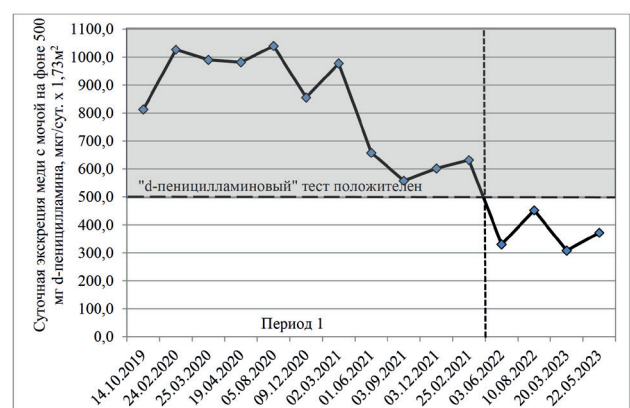
Диагностически значимым уровнем для нелеченых пациентов с БВК является повышение экскреции меди с мочой на фоне приема тестовой дозы D-пеницилламина > 500 мкг/сут x 1,73 м<sup>2</sup> или >8 мкМ/сут x 1,73 м<sup>2</sup>. В этом случае проба с D-пеницилламином считается положительной (рис. 2).

Положительная проба с D-пеницилламином является отражением существования в организме запасов меди. Этот показатель может также использоваться для подбора дозы D-пеницилламина и мониторинга терапии (рис. 2).

Кроме болезни Вильсона, проба может быть положительной при хроническом отравлении медью. Но в этом случае будет нормальной концентрация церулоплазмينا и повышена концентрация общей меди сыворотки крови.

Рисунок 2.

*Динамика суточной экскреции меди с мочой на фоне 500 мг d-пеницилламина («d-пеницилламиновый тест») у пациента Б. (22–25 лет, рост 153–153 см, вес 47–52 кг). Тест считается положительным если суточная экскреция меди с мочой > 500 мкг/сут. x 1,73 м<sup>2</sup>. Период 1 – эффективной терапии (существуют тканевые запасы меди, терапия комплексами эффективна). Период 2 – снижения эффективности терапии (тканевые запасы меди истощены (за исключением ЦНС), показан перевод на поддерживающие дозы комплексонов, продолжение терапии комплексами в больших дозах повышает риски развития побочных эффектов и развития гипомикроэлементоза*



### Медь в ткани печени

Накопление меди в печени — один из основных признаков БВК. Однако, специфические красители, такие как родамин или орцеин, обнаруживают очаговые отложения меди меньше чем у 10% пациентов, вследствие того, что они выявляют только отложения меди в лизосомах. Таким образом, факт накопления меди в печени не может быть исключен только гистохимическим исследованием биоптата ткани печени.

Методом выбора для диагностики БВК является измерение концентрации меди в ткани печени. Биоптат для количественного определения меди должен быть помещен в сухой, не содержащий медь контейнер. Транспортировка образца не требует специальных условий, таких как замораживание. Точность измерения повышается при использовании адекватного количества материала: для анализа должен быть взят цилиндр биоптата печени длиной не менее 1 см. Парафинизированные образцы также могут быть исследованы на содержание меди, однако надежность измерения может быть снижена при малом размере образца. Содержание меди в ткани печени > 4 мкмоль/г (> 250 мкг/г) сухого веса является наилучшим доказательством наличия болезни Вильсона. Снижение диагностического порога с 4 мкмоль/г (250 мкг/г) сухого веса до 1,2 мкмоль/г (75 мкг/г) сухого веса повышает чувствительность метода с 83,3 до 96,5%, в то время как специфичность остается достаточно высокой (95,4% против 98,6%). У нелеченых пациентов нормальное содержание меди в печени (< 0,64–0,8 мкмоль/г сухого веса или < 40–50 мкг/г сухого веса) исключает диагноз БВК.

Главная проблема определения концентрации меди в ткани печени — неравномерное распределение меди в печени на поздних стадиях болезни Вильсона. То есть концентрация меди может быть занижена при ошибке в заборе образца. Результаты теста также не показательны у детей с циррозом печени. Концентрация меди в ткани печени может быть высокой при длительно существующем холестазае, а также при синдромах идиопатического медного токсикоза, таких как Индийский детский цирроз печени.

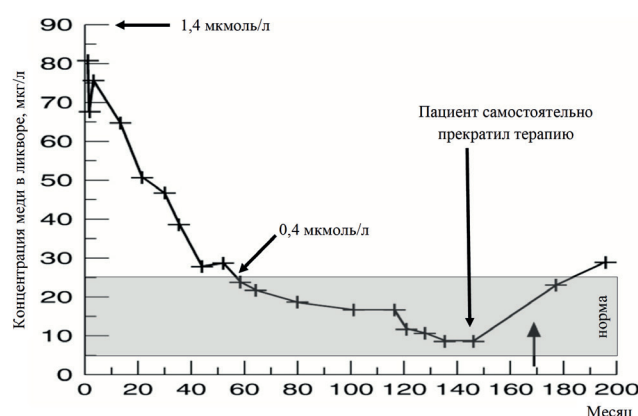
### Медь ликвора

Концентрация меди в ликворе не является пока широко используемым показателем, однако она хорошо отражает содержание меди в головном мозге и связана с активностью АТФ-азы 7В в капиллярах мозга. У здоровых лиц концентрация меди в ликворе < 0,4 мкмоль/л, т.е. существует градиент концентраций меди в ликворе и свободной меди сыворотки крови (0,4 мкмоль/л — 1,6 мкмоль/л). При церебральной форме БВК концентрация меди в ликворе обычно

> 1 мкмоль/л, а при быстро прогрессирующей аритмо-ригидно-гиперкинетической форме может превышать 10 мкмоль/л. Динамика концентрации меди в ликворе на фоне терапии комплексами демонстрирует более медленное удаление меди из ЦНС по сравнению с удалением меди из организма в целом (рис.3) [8,17–19]. Этот показатель целесообразно использовать для диф-

Рисунок 3.

*Изменение концентрации меди в ликворе в процессе успешной терапии комплексами неврологической формы ГЦД (Stuerenburg H.J. et al., 2000)*



ференциальной диагностики при быстром нарастании неврологической симптоматики, а также для мониторинга терапии при церебральных формах заболевания.

Все вышеперечисленные показатели, характеризующие обмен меди, по отдельности не имеют 100-процентной диагностической ценности, но все вместе формируют у нелеченых пациентов характерный биохимический фенотип болезни Вильсона-Коновалова.

### Особенности диагностики фульминантной печеночной недостаточности при БВК

При болезни Вильсона-Коновалова основным диагностическим показателем фульминантной печеночной недостаточности является многократное повышение концентрации свободной меди в сыворотке крови (рис.1). Об этом можно судить, рассчитав этот показатель, или косвенно на основе повышения концентрации общей меди при низком уровне церулоплазмينا. К большому сожалению, в настоящее время очень немногие лечебные учреждения РФ выполняют эти простые и дешевые тесты.

Другими диагностическими показателями являются: снижение концентрации гемоглобина крови, повышение концентрации свободного гемоглобина плазмы крови (часто можно определить визуально), отношение активности щелочной фосфатазы и концентрации общего билирубина ( $ME/л/мг/дл < 4$ ), отношение ак-

тивностей АсАТ/АлАТ > 2,2. Комбинация двух последних индексов имеет почти 100%-ую диагностическую чувствительность и специфичность при этом жизнеугрожающем патологическом состоянии.

Для оценки прогноза выживаемости при острой печеночной недостаточности, связанной с болезнью Вильсона-Коновалова, может быть использован прогностический индекс King в модификации Dhawan (табл. 3) [20]. Чувствительность этого показателя при уровне  $\geq 11$  баллов составляет 93%, а специфичность 96%.

**Расчёт прогностического индекса при острой печеночной недостаточности, связанной с болезнью Вильсона-Коновалова [20]**

| Показатель             | 1 балл  | 2 балла  | 3 балла   | 4 балла |
|------------------------|---------|----------|-----------|---------|
| Общий билирубин, мкм/л | 100-150 | 151-200  | 201-300   | >300    |
| АсАТ, МЕ/мл            | 100-150 | 151-300  | 301-400   | >400    |
| МНО                    | 1,3-1,6 | 1,7-1,9  | 2,0-2,4   | >2,4    |
| Лейкоциты $10^9/л$     | 6,8-8,3 | 8,4-10,3 | 10,4-15,3 | >15,3   |
| Альбумин, г/л          | 34-44   | 25-33    | 21-24     | <21     |

\* Сумма баллов  $\geq 11$  ассоциируется с высокой вероятностью смерти без пересадки печени.

### ДНК-диагностика болезни Вильсона-Коновалова

В настоящее время известно более 600 различных мутаций в гене АТР7В. Частота и характер мутаций в гене, способствующем болезни Вильсона-Коновалова, существенно варьируют в различных популяциях. Наиболее частой мутацией в европейских популяциях является точечная замена с.3207С>А в экзоне 14 гена АТР7В, приводящая к замене аминокислоты гистидина в положении 1069 на глутаминовую кислоту (р.His1069Gln). Доля мутации с.3207С>А в российской выборке больных по данным лаборатории ДНК-диагностики ФГБУ «МГНЦ» РАМН составляет 48%. Также частыми являются мутации с.3190G>А (р.Glu1064Lys), с.3402delС и с.2304insС, частота встречаемости которых среди российских больных составляет 3,9%, 2,4% и 4,6%, соответственно [3].

Для правильной интерпретации результатов анализа необходимо помнить, что обнаружение у больного распространенной мутации на одной из двух гомологичных хромосом само по себе не позволяет с достоверностью поставить диагноз, но при наличии характерных клинических и биохимических изменений является весомым аргументом в пользу диагноза «болезнь Вильсона-Коновалова». Если у больного обнаружены две разные мутации гена АТФ-азы 7В, или одна и та же мутация в гомозиготном состоянии, диагноз подтверждается.

Комплексная ДНК-диагностика в семьях включает поиск наиболее распространенных мутаций у больного и косвенную ДНК-диагностику для других детей той же

супружеской пары. В случае, если в клиническом диагнозе больного ребенка не возникает сомнений, однако причиной заболевания не являются частые мутации, косвенная ДНК-диагностика позволяет определить, унаследовали ли другие дети в семье мутации хромосомы 13, совпадающие с хромосомами больного ребенка.

8-я Международная конференция по болезни Вильсона (Лейпциг, 2001) рекомендует для диагностики данного заболевания балльную количественную шкалу, в которой доминируют лабораторные показатели (табл. 4) [21].

**Таблица 3.**

Ее диагностическая чувствительность 94%, специфичность 94%, положительная прогностическая ценность 91%, отрицательная прогностическая ценность 97%.

### Лечение: побочные эффекты и лабораторный контроль

В качестве основных биохимических тестов для оценки эффективности лечения необходимо использовать концентрацию свободной меди сыворотки крови (рис.4) и суточную экскрецию меди с мочой (рис.2), а при лечении препаратами цинка — также суточную экскрецию цинка с мочой.

**Рисунок 4.**

**Динамика концентрации свободной меди плазмы крови на фоне длительной терапии комплексами у пациента Л. (8–19 лет, рост 134–176 см, вес 25–68 кг)**

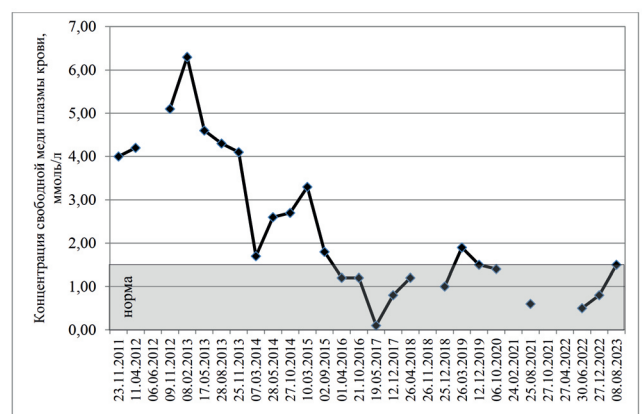


Таблица 4.

Лейпцигская количественная шкала для диагностики болезни Вильсона-Коновалова [21]

| Признак   | Выраженность   | Балл |
|---|--|------|
| <b>Типичные клинические симптомы и признаки</b>                             |  |      |
| Кольца Кайзера-Флейшера на роговице глаза                                   | Имеются  | 2    |
|   | Отсутствуют  | 0    |
| Неврологические симптомы или характерные проявления при МРТ головного мозга | Тяжелые  | 2    |
|   | Легкие   | 1    |
|   | Отсутствуют  | 0    |
| Концентрация церулоплазмينا сыворотки крови                                 | Нормальная* (> 0,2 г/л или (> 200 мг/л)  | 0    |
|   | 0,1–0,2 г/л или 100–200 мг/л   | 1    |
|   | < 0,1 г/л или < 100 мг/л   | 2    |
| Гемолитическая анемия с отрицательной пробой Кумбса                         | Имеются  | 1    |
|   | Отсутствуют  | 0    |
| <b>Другие методы исследования</b>   |  |      |
| Содержание меди в печени (при отсутствии холестаза)                         | В 5 раз выше верхней границы нормы* (> 4 мкмоль/г или > 250 мкг/г)                               | 2    |
|   | 0,8–4 мкмоль/г или 50–250 мкг/г  | 1    |
|   | Нормальное* (< 0,8 мкмоль/г или < 50 мкг/г)  | -1   |
|   | Наличие роданин- позитивных гранул (при отсутствии возможности количественного определения меди) | 1    |
| Экскреция меди с мочой (при отсутствии острого гепатита)                    | Нормальная* (< 0,9 мкмоль/сут x 1,73 м <sup>2</sup> или < 57 мкг/сут. x 1,73 м <sup>2</sup> )    | 0    |
|   | Выше верхней границы нормы* в 2 раза и меньше  | 1    |
|   | Более чем в 2 раза выше верхней границы нормы*   | 2    |
|   | Нормальная*, но повышается более чем в 5 раз выше верхней границы нормы при приеме D-пенициллина | 2    |
| Молекулярно-генетическая диагностика  | Мутации в 2-х хромосомах   | 4    |
|   | Мутации в 1 хромосоме  | 1    |
|   | Мутации не выявлены  | 0    |
| <b>Интерпретация результата</b>   |  |      |
| Диагноз установлен  |  | ≥ 4  |
| Диагноз сомнителен, необходимо исследование большего числа показателей      |  | 3    |
| Диагноз маловероятен  |  | ≤ 2  |

\*«нормальные» значения – значения показателя в пределах референсного диапазона

При абдоминальной форме дополнительно целесообразно исследовать активность трансаминаз в крови и МНО, при церебральной форме – уровень меди в ликворе.

Основным показателем адекватности терапии хелатами является суточная экскреция меди с мочой. Доза препарата адекватна, если суточная экскреция меди с мочой на фоне приема D-пенициллина находится в интервале от 500 до 1000 мкг/сут x 1,73 м<sup>2</sup> или 8–16 мкмоль/сут x 1,73 м<sup>2</sup>. Если суточная экскреция меди с мочой выше 1000 мкг/сут. x 1,73 м<sup>2</sup> (16 мкмоль/сут. x 1,73 м<sup>2</sup>), для профилактики поражения почек необходимо снижение дозы. Фактически речь идет о титровании дозы препарата. По мере выведения избытка меди из организма в ходе ле-

чения суточная экскреция меди снижается. В фазу поддерживающей терапии (рис.2) она должна колебаться от 200 до 500 мкг/сут. x 1,73 м<sup>2</sup>.

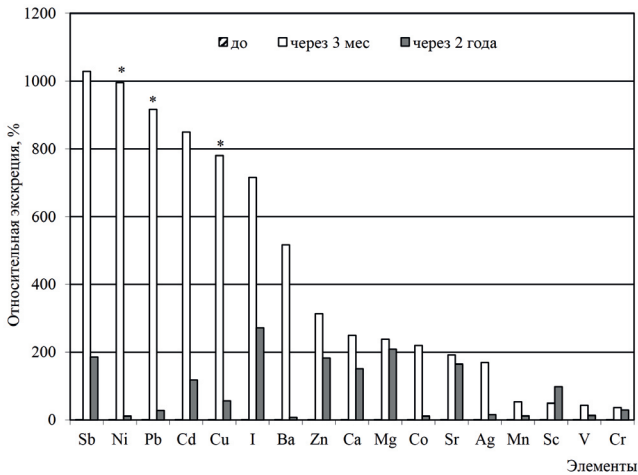
Еще одним критерием эффективности лечения является суточная экскреция меди с мочой после 2-х дней отмены D-пенициллина ≤ 100 мкг/сут. x 1,73 м<sup>2</sup> или ≤ 1,6 мкмоль/сут. x 1,73 м<sup>2</sup> и нормализация концентрации свободной меди сыворотки.

Основным недостатком D-пенициллина являются его многочисленные побочные эффекты (табл. 5), которые наблюдаются в 20–30% случаев. Полагают, что большинство из них связаны с неселективностью удаления меди. Кроме меди D-пеницилламин способен связывать и выво-



Рисунок 5.

Изменение экскреции элементов с мочой на фоне приема d-пенициллина (за 100 % взят уровень до начала лечения у пациента П., 13–15 лет, метод измерения – масс-спектрометрия с ионизацией в индуктивно связанной плазме)



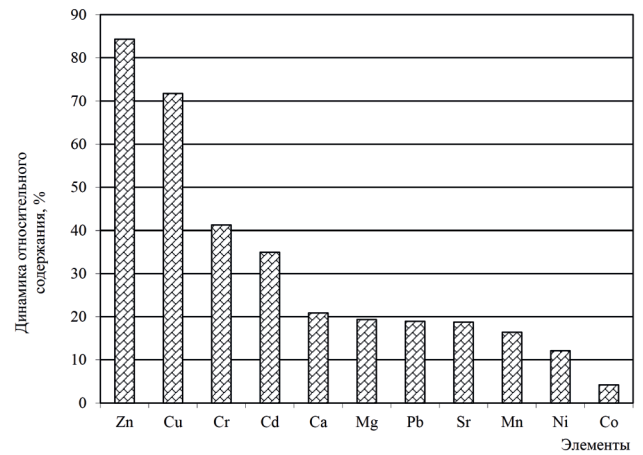
дить из организма многие другие микроэлементы, и прежде всего цинк. Симптомы гипомикроэлементозов и побочные эффекты D-пенициллина во многом совпадают (табл. 5).

Исходя из этого, для уменьшения побочных эффектов D-пенициллина необходимо мониторировать ход терапии и использовать минимально эффективную дозу препарата, комбинировать его использование с препаратами цинка (это нужно не только для уменьшения всасывания меди в кишечнике, но и для компенсации потерь цинка при терапии хелатами).

Важным моментом для уменьшения количества побочных эффектов терапии является своевременный переход к поддерживающей фазе лечения (снижение дозы

Рисунок 6.

Изменение содержания элементов в волосах на фоне длительной (>3 лет) терапии d-пенициллина (среднее из 8 измерений, 100% – уровень до начала лечения, метод измерения – масс-спектрометрия с ионизацией в индуктивно связанной плазме)



D-пенициллина до 250–500 мг/сут. или переход на триентин, или переход на препараты цинка) (рис.2). Показанием к переходу является отрицательная проба с D-пенициллинами и нормализация концентрации свободной меди сыворотки в 2-х парных пробах с интервалом в 3 мес. исследованиях. Стойкое уменьшение суточной экскреции меди с мочой на фоне высокой дозы D-пенициллина свидетельствует об истощении тканевых запасов меди (за исключением ЦНС). Запоздывание со снижением дозы в этот период может способствовать повышению экскреции с мочой (рис.5) других элементов и повышать вероятность развития побочных эффектов, связанных с выраженным дисбалансом микроэлементного гомеостаза (рис.6).

Таблица 5.

Сопоставление побочных эффектов D-пенициллина с симптомами гипомикроэлементоза [15]

| Побочный эффект D-пенициллина        | Элементы с известными аналогичными симптомами гипомикроэлементоза |
|--------------------------------------|---|
| Анорексия                            | Mg, Zn  |
| Тошнота, рвота                       | Mg  |
| Диарея                               | Mg, Zn  |
| Афтозный стоматит, глоссит           | Zn  |
| Дерматит, экзема, кожная сыпь        | Zn, Mn, Se, Ni  |
| Искажение вкуса                      | Zn  |
| Невралгии, периферические невропатии | Cr  |
| Иммунодефицит                        | Mg, Zn, Se  |
| Анемия                               | Zn, Co, Ni  |
| Аллергические реакции                | Zn, Mn  |
| Артралгии                            | Ca, Mn, Se  |
| Миалгии, мышечные спазмы             | Ca, Mg, Mn  |
| Остеопороз                           | Ca, Mn  |

Своевременный переход на поддерживающую терапию особенно важен у детей. Запасы меди в организме у них существенно меньше, чем у взрослых и их истощение происходит быстрее, т.к. часть меди используется на рост организма.

Для своевременного выявления побочных эффектов хелатной терапии необходимо контролировать клинический анализ крови (включая уровень тромбоцитов) и общеклинический анализ мочи: в начале лечения каждые 3 дня, потом каждую неделю в течение месяца, затем 1 раз в 2 недели в течение первых 6 месяцев лечения, в дальнейшем — ежемесячно; биохимические показатели крови (концентрация общего билирубина, креатинина, мочевины; активность АлАт, АсАт, щелочной фосфатазы): в фазу начала терапии — 1 раз в 3 мес., в последующем — 1 раз в полгода [22].

Адекватность терапии цинком оценивается на основе динамики клинических и лабораторных показателей (нормализация концентрации свободной меди, уменьшение суточной экскреции меди с мочой  $< 100 \text{ мкг/сут.} \times 1,73 \text{ м}^2$  или  $< 1,6 \text{ мкмоль/сут} \times 1,73 \text{ м}^2$  — при монотерапии препаратами цинка). На фоне лечения суточная экскреция цинка с мочой должна превышать  $2 \text{ мг/сут.} \times 1,73 \text{ м}^2$  ( $30 \text{ мкмоль/сут.} \times 1,73 \text{ м}^2$ ).

Таблица 6.

План лабораторного обследования и наблюдения пациентов с БВК [22]

| Показатель, метод исследования   | Исходно (и до начала терапии) | Каждый мес <sup>1</sup> | Каждые 3 мес <sup>2</sup> | Каждые 6 мес <sup>3</sup> | Каждые 12 мес |
|--|-------------------------------|-------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------|
| Общий анализ крови + тромбоциты  | +                             | +                       | +                         | +                         |               |
| Общеклинический анализ мочи  | +                             | +                       | +                         | +                         |               |
| Лабораторные показатели, характеризующие функцию печени (концентрация альбумина, общего и прямого билирубина, активность щелочной фосфатазы, АлАТ, АсАТ) | +                             |                         | +                         | +                         |               |
| Альфафетопротеин   | +                             |                         |                           |                           | +             |
| Показатели свертывающей системы крови (протромбин, МНО, фибриноген)  | +                             |                         | +                         | +                         |               |
| Общая медь сыворотки   | +                             |                         | +                         | +                         |               |
| Церулоплазмин сыворотки  | +                             |                         | +                         | +                         |               |
| Свободная медь сыворотки   | +                             |                         | +                         | +                         |               |
| Суточная экскреция меди с мочой  | +                             |                         | +                         | +                         |               |
| Проба с d-пеницилламином   | +                             |                         | +                         | +                         |               |
| Суточная экскреция цинка с мочой <sup>4</sup>  | + <sup>4</sup>                |                         | + <sup>4</sup>            | + <sup>4</sup>            |               |
| Концентрация меди в ликворе <sup>5</sup>   | +                             |                         |                           |                           | +             |
| Лабораторные показатели, характеризующие функцию почек (креатинин, мочевина)   | +                             |                         | +                         | +                         |               |
| Микроальбуминурия / протеинурия (суточная потеря белка)  | +                             |                         | +                         | +                         |               |
| Активность амилазы, липазы <sup>4</sup>  | + <sup>4</sup>                |                         | + <sup>4</sup>            | + <sup>4</sup>            |               |
| ДНК диагностика  | +                             |                         |                           |                           |               |

1 — в первые 6 месяцев терапии,

2 — в начальную фазу терапии,

3 — в фазу поддерживающей терапии,

4 — при терапии препаратами цинка,

5 — при церебральных формах.

В каждой последующей беременности братья и сестры родившегося больного с вероятностью 25% могут также быть больными, в 50% быть асимптоматическими носителями (гетерозиготами) и в 25% родиться непораженными и не носителями. Потомки больного являются облигатными гетерозиготами.

Поскольку частота гетерозигот в общей популяции примерно равна 1:90–100 человек, вероятность того, что больной с БВК будет иметь больного ребенка, составляет около 1:180 новорожденных.

Так как риск родить больного ребенка минимальный, в качестве адекватного скринингового теста может рассматриваться определение концентрации церулоплазмينا сыворотки крови после достижения ребенком возраста одного года (исключая популяции с высокой частотой родственных браков). В возрасте после трех лет настоятельно рекомендуется повторное лабораторное исследование (включая определение концентрации церулоплазмينا сыворотки крови и экскреции меди с мочой). Если в семье были идентифицированы причинные мутации гена АТР7В, диагностика носительства может быть проведена молекулярно-генетическими методами [5,13,23].

## Заключение

Лабораторная диагностика лежит в основе раннего выявления и своевременного начала лечения болезни Вильсона-Коновалова, мониторинга течения заболевания, подбора и оценки эффективности терапии, минимизации ее побочных эффектов. Только с ее правильным использованием возможны современные персонализированные подходы к лечению пациентов, увеличение продолжительности и улучшение качества их жизни.

## Список литературы

1. Harada M., Sakisada S., Terada K. et al. Role of АТР7В in biliary copper excretion in a human hepatoma cell line and normal rat hepatocytes // *Gastroenterology*. – 2000. – Vol.18. – P. 921 – 928.
2. Lockhart P., Mercer J. Identification of the copper chaperone SAH in *Ovis aries*: expression analysis and in vitro interaction of SAH with АТР7В // *Biochim. Biophys. Acta*. – 2000. – Vol. 1490. – P. 11-20.
3. Баязутдинова Г.М., Шагина О.А., Карунас А.С. и соавт. Спектр мутаций в гене АТР7В у российских больных с болезнью Вильсона-Коновалова // *Генетика*. – 2019. – №12. – С. 1431-1439.
4. Choi B.-S., Zheng W. Copper transport to the brain by the blood-brain barrier and blood-CSF barrier // *Brain Res*. – 2009. – Vol.1248. – P.14-21.
5. Yuan X.-Zh., Yang R.-M. Wang X.-P. Management Perspective of Wilson's Disease: Early Diagnosis and Individualized Therapy // *Curr.Neuropharmacol*. – 2021. – Vol.19. – P.465-485.

6. Лекарь П.Г., Макарова В.А. Гепатоцеребральная дистрофия // *Л.: Мед.*, 1984. – 208 с.
7. Geigy Scientific Tables. Vol.3 / *Physical Chemistry Composition of Blood Hematology Somatometric Date*. – Edit. C. Lentner. – Basle: CIBA-GEIGY, 1984. – 360 p.
8. Stuerenburg H., Oechsner M., Schroeder S., Kunze K. Determinants of the copper concentration in cerebrospinal fluid // *Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. – 1999. – Vol. 67. – P. 252 – 253.
9. Bandmann O., Weiss K., Kaler S. Wilson's disease and other neurological copper disorders // *Lancet Neurol*. – 2015. – Vol.14, №1. – P. 103-113.
10. EASL Clinical Practice Guidelines: Wilson's disease // *J.Hepatol*. – 2012. – Vol.56. – P.671-685.
11. Wilson disease. – Orphanet. URL: <http://www.orpha.net>. (дата обращения 1.06.2024)
12. Надирова К.Г., Аринова А.А. Болезнь Вильсона. Современные аспекты. Анализ клинического опыта/Санкт-Петербургское медицинское издательство, 2001. – 128 с.
13. Chanpong A., Dhawan A. Wilson disease in children and young adults - State of the art // *Saudi J. Gastroenterol*. – 2022. – Vol.28. – P.21-31.
14. Соколов А.А., Волгина С.Я., Поляков А.В. Болезнь Вильсона-Коновалова // *Редкие болезни у детей: монография*. Казань: Медицина, 2017. – С.131-140.
15. Соколов А.А., Копишинская С.В., Поляков А.В. Болезни накопления: гепатоцеребральная дистрофия (болезнь Вильсона-Коновалова)/СПб.:ВМЕДА, 2017. – 64 с.
16. Широкова Т.А. Иммуногенетические и иммунопатологические аспекты гепато-церебральной дистрофии (болезни Вильсона-Коновалова): Автореф. дис. ... канд. мед. наук. –СПб., 1998. –23 с.
17. Hartard C., Weisner B., Dieu C., Kunze K. Wilson's disease with cerebral manifestation: monitoring therapy by CSF copper concentration // *J. Neurol*. – 1993. – Vol. 241. – P. 101 – 107.
18. Stuerenburg H. CSF copper concentration, blood-brain barrier function, and caeruloplasmin synthesis during the treatment of Wilson's disease // *J. Neural. Transm*. – 2000. – Vol. 107. – P. 321 – 329.
19. Stuerenburg H., Eggert C. Early detection of non-compliance in Wilson's disease by consecutive copper determination in cerebrospinal fluid // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. – 2000. – Vol. 69. – P. 701 – 702.
20. Dhawan A., Taylor R., Cheeseman P. et al. Wilson's disease in children: 37 year experience and revised King's -score for liver transplantation // *Liver Transpl*. – 2005. – Vol.11. – P.441-448.
21. Ferenci P., Caca K., Loudianos G. et al. Diagnosis and phenotypic classification of Wilson disease // *Liver Int*. – 2003. – Vol.23. – P.139-142.
22. Wilson disease maintaining a successful treatment plan ./ *Patient Handbook Authored by Graper M.L. - Wilson's Disease Association International*. – 2008. – 30с.
23. Wungjiranirun M., Sharzehi K. Wilson's Disease // *Seminars Neurology*. – 2023. – Vol. 43. – P.626-633.