

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

**НАРУШЕНИЯ ОБМЕНА МИКРОЭЛЕМЕНТОВ У ПАЦИЕНТОВ  
С ДИАГНОЗОМ ВИЛЬСОНА-КОНОВАЛОВА**

**METABOLIC MINERAL DISORDERS IN PATIENTS  
WITH WILSON-KONOVALOV DISEASE**

**И.Н. Андрусихина<sup>1</sup>\*, И.А. Голуб<sup>1</sup>, Е.Г. Лампека<sup>1</sup>, С.М. Дондэ<sup>2</sup>, О.В. Страуб<sup>1</sup>  
I.N. Andrusishina<sup>1</sup>\*, I.A. Golub<sup>1</sup>, E.G. Lampeka<sup>1</sup>, S.M. Donde<sup>2</sup>, O.V. Straub<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> Институт медицины труда АМН Украины, Киев

<sup>2</sup> Институт педиатрии, акушерства и гинекологии АМН Украины, Киев

<sup>1</sup> Institute for Occupational Health of AMS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

<sup>2</sup> Institute of Pediatrics, Obstetrics and Gynecology of AMS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** макроэлементы, микроэлементы, медь, волосы, сыворотка крови, моча, атомно-эмиссионная спектрометрия, болезнь Вильсона—Коновалова

**KEY WORDS:** macro elements, trace elements, copper, hair, blood serum, urine, atomic-emission spectrometry, Wilson—Konovalov disease

**РЕЗЮМЕ:** В статье представлены данные о макро- и микроэлементном составе волос, сыворотки крови и мочи пациентов с диагнозом Вильсона—Коновалова. Определение макро- и микроэлементов проводили с помощью метода АЭС-ИСП. Обнаружены: разнонаправленные изменения уровня меди в сыворотке крови и моче, которые свидетельствуют о токсическом воздействии на организм свободной меди. Выявленный дисбаланс цинка, селена, магния и кальция в биосубстратах может говорить о неврологических расстройствах, изменениях минерального обмена, нарушении формирования соединительной ткани.

**ABSTRACT:** The levels of macro and trace elements in biosubstrates are important markers in diagnostics of genetic diseases associated with metabolic mineral disorders. For example, Cu<sup>2+</sup> levels in serum and urine have high diagnostic potential in detecting the Wilson—Konovalov disease (WK) in patients. In WK patients, the measurement showed opposite-direction changes in Cu and Zn levels (decreased Cu and increased Zn in serum; increased Cu and decreased Zn in urine) which indicates that Cu and Zn excretion mechanism was broken. However at the same time Se, Mg and Mn in hair, Se, Mg in serum and Zn, Ca and K in urine exceeded «normal» levels

for this age group and also the control group levels thus indicating the imbalance of these elements. In addition, the difference in Mn, Fe and K concentrations in serum and urine did not reach the confidence level which indicates that the role of these elements in WK progress is insignificant. The results of this study confirm that genetic Cu metabolic disorder is accompanied by mineral imbalance. Moreover, when correcting the mineral status of WK patients, one should take into account antagonism and synergy of elements.

**ВВЕДЕНИЕ**

Интенсивное техногенное загрязнение окружающей среды: токсичными соединениями, в том числе и тяжелыми металлами, ведет к ухудшению состояния здоровья населения (Авцын и др. 1991; Кудрин, Громова, 2006). Особую обеспокоенность в последние годы вызывает влияние микроэлементов, и в частности тяжелых металлов на генетический аппарат человека. Медь, хром, железо, цинк и другие металлы: могут включаться в состав ДНК. Первым генетическим дефектом обмена микроэлементов, выявленным у человека, является нарушение обмена меди (болезнь Вильсона—Коновалова — цирроз печени и размягчение мозга, синдром Менкеса — курчавые волосы, синдром Марфана — аномалия скелета, аневризма аорты и сосудов, синдром Эйлерса—Данло — мезенхимная дисплазия) (Мжельская и др, 1989; Авицгн и др., 1991; Сухарева, 2003; Lech, Sadlik, 2005; Ionescu et al., 2005).

\* Адрес для переписки: Андрусихина Ирина Николаевна, к.б.н.; лаборатория аналитической химии и мониторинга токсических веществ ГУ «Институт медицины труда АМН Украины»; Украина, 01033, Киев, ул. Саксаганского, 75; e-mail: irina\_andrei@voliacable.com

В диагностике заболеваний, связанных с генетическими нарушениями обмена химических элементов, маркерным является определение элементов в биосубстратах. Так, при болезни Вильсона—Коновалова (ВК) диагностическое значение имеет определение  $Cu^{2+}$  в сыворотке крови и в моче. Мутации гена АТР7В приводят к появлению свободной меди, которая накапливается в печени, мозге, роговой оболочке глаз, почках и других органах. Динамика течения заболевания характеризуется дисфункцией печени (гепатит, цирроз печени), неврологическими расстройствами, изменениями минерального обмена (способствует деминерализации костей, деформирующему артрозу, некрозу хрящей) и пр. (Мжельская и др., 1989; Сухарева, 2003). О важности исследования других биоэлементов при болезни Вильсона—Коновалова свидетельствуют положительные результаты лечения больных препаратами цинка и молибдена (Сухарева, 2003; Кудрин, Громова, 2006).

Известно, что избыток меди приводит к дефициту цинка и молибдена. Последние же способствуют развитию иммунологических сдвигов и нарушению функций соединительной ткани, нервной и гепатобилиарной систем. При этом цинк может выступать антагонистом железа в процессах ПОЛ. Снижение уровня меди в сыворотке крови отрицательно сказывается на всасывании железа и кальция. Обмен магния тесно связан с гомеостазом кальция, калия и натрия. В последние годы: селен, кальций, магний, а также их химические формы (ионизированные, белковосвязанные) стали важными маркерами сосудистых и клеточных повреждений ЦНС (Lech, Sadlik, 2005; Ionescu et al., 2005; Кудрин, Громова, 2006; Fujimara et al., 2007; Bost et al., 2007).

Однако особенности элиминации других жизненно важных элементов исследованы недостаточно. Поэтому целью работы: было изучить изменения минерального обмена в волосах, сыворотке крови и моче пациентов с диагнозом гепатоцеребральная дистрофия (ГЦД).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании принимали участие 66 пациентов с диагнозом Вильсона—Коновалова. Контрольную группу составили здоровые испытуемые (20 пациентов). Возраст всех обследованных составил 9—16 лет. Пробы волос, сыворотки крови и мочи отбирали согласно общепринятым методам отбора и хранения данных субстратов (Кудрин, Громова, 2006; Методические указания, 2003). Содержание химических элементов: К, Mg, Са, Cu, Fe, Zn, Mn и Se в биосубстратах определяли методом атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (АЭС-ИСП) на приборе Орита 2100 DV фирмы Perkin-Elmer (США) согласно известным способам подготовки проб (Mulligan et al., 1988; Vanhoe et al., 1989; Pietrashek et al., 1998; Методические указания, 2003). Матема-

тическая обработка полученных результатов проводилась с использованием методов вариационной статистики с использованием программы «Statistica-6». Статистическая значимость межгрупповых отличий оценивалась по t-критерию Стьюдента (Антомонов, 2006).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В период 2007—2010 гг. было проведено анкетирование обследованных, которое позволило выявить наиболее высокую частоту обращаемости населения, проживающего в центральных регионах Украины: (Киевская, Житомирская, Черниговская области) и на юге страны (Крым, Херсонская и Николаевская области). Все пациенты: были первичными и не имели отягощенной генетическими и онкологическими заболеваниями наследственности. В анамнезе пациенты: имели подозрение на гепатит и цирроз печени, нарушение эритропоэза и другие симптомы, характерные для заболевания Вильсона—Коновалова.

Результаты: проведенных исследований по оценке баланса макро- и микроэлементов в биологических субстратах реципиентов представлены в таблицах 1—3. Было установлено достоверное снижение Se, Mg и Mn в волосах пациентов с диагнозом гепатобилиарная дистрофия (соответственно Se в 4,28 раз, Mg в 3,45 и Mn в 1,93 раза). В то же время наблюдали рост уровня Zn в волосах пациентов с диагнозом ВК на 18%, а К — на 95% соответственно. При этом уровни Са, Fe в волосах пациентов с ВК не отличались от выявленных значений обследуемых контрольной группы и уровнем «условной нормы» для этих элементов. При этом был установлен более низкий уровень содержания Cu в волосах пациентов с диагнозом ВК по сравнению со здоровыми реципиентами и принятой в литературе «условной нормой».

Выявлена значительная разница между содержанием макро- и микроэлементов в сыворотке крови контрольной и опытной групп. Так, уровни содержания меди и марганца у пациентов с ВК были ниже уровней, выявленных в контроле (соответственно на 48,5% и 44,8%). В то же время наблюдали рост уровней содержания Zn и Se в сыворотке крови у пациентов с диагнозом ВК по сравнению с обследуемыми пациентами контрольной группы! (соответственно на 32,2% и 38,6%).

В моче выявлены разнонаправленные изменения уровней меди и цинка (повышен уровень Cu в 13,75 раза и снижен для Zn в 2,36 раза). При этом наблюдалось увеличение экскреции кальция почками в 2,95 раза, тогда как уровни железа, селена и калия в моче у пациентов с ВК достоверно снижались (в 2,39 раза, 2,21 раза, 1,21 раза соответственно).

Сравнивая полученные результаты: с «условной нормой», можно заключить, что у пациентов с ВК наблюдаются низкие уровни содержания селена, магния и марганца в волосах, меди и марганца в сыворотке крови и усиленная экскреция меди,

Таблица 1. Содержание химических элементов в волосах пациентов с диагнозом Вильсона—Коновалова (мкг/г)

Химический элемент	Содержание в волосах		Условная норма
	Контроль	Опыт	
Медь	8,17 ± 0,64	4,47 ± 0,98*	7,5-20
Цинк	80,52 ± 15,98	95,41 ± 21,26*	50-250
Железо	23,31 ± 3,61	22,83 ± 2,39	5-25
Селен	0,30 ± 0,04	0,071 ± 0,04*	0,2-2,5
Магний	106,55 ± 17,04	30,92 ± 4,94*	19-163
Марганец	0,60 ± 0,13	0,31 ± 0,09*	0,5-2,93
Кальций	1435,92 ± 19,68	1224,23 ± 30,06	200-2000
Калий	222,11 ± 13,94	432,57 ± 18,27*	150-663

\* Достоверное различие между опытом и контролем,  $p < 0,05$ .

Таблица 2. Содержание химических элементов в сыворотке крови пациентов с диагнозом Вильсона—Коновалова (мг/л)

Химический элемент	Содержание в сыворотке		Условная норма
	Контроль	Опыт	
Медь	1,03 ± 0,10	0,50 ± 0,11*	0,83-1,52
Цинк	0,90 ± 0,21	1,19 ± 0,04*	0,65-1,18
Железо	0,95 ± 0,05	1,10 ± 0,04	0,43-0,60
Селен	0,07 ± 0,006	0,097 ± 0,001*	0,045-0,083
Магний	20,71 ± 0,70	34,74 ± 1,77	16-23
Марганец	0,029 ± 0,006	0,013 ± 0,0002*	0,004-0,014
Кальций	120,9 ± 3,91	89,9 ± 5,91	90-120
Калий	148,86 ± 9,07	134,19 ± 2,93	144-195

\* Достоверное различие между опытом и контролем,  $p < 0,05$ .

Таблица 3. Содержание химических элементов в моче пациентов с диагнозом Вильсона—Коновалова (мг/л)

Химический элемент	Содержание в моче		Условная норма
	Контроль	Опыт	
Медь	0,032 ± 0,008	0,44 ± 0,17*	0,018-0,12
Цинк	0,45 ± 0,15	0,19 ± 0,04*	0,48-0,72
Железо	0,43 ± 0,11	0,18 ± 0,04*	0,22-0,30
Селен	0,17 ± 0,054	0,077 ± 0,021*	0,007-0,16
Магний	139,81 ± 80,99	125,46 ± 67,48	53-133
Марганец	0,012 ± 0,005	0,017 ± 0,003	0,016-0,032
Кальций	235,38 ± 78,05	713,21 ± 37,12*	66,7-167
Калий	918,33 ± 71,24	757,8 ± 20,79*	533,3-1600

\* Достоверное различие между опытом и контролем,  $p < 0,05$ .

кальция и калия почками, что свидетельствует о нарушении их элиминации в организме. Содержание цинка изменяется разнонаправленно в данных биологических средах, что подтверждает известный факт антагонизма его с медью. Однако выявленное превышение уровней содержания Se, Mg в волосах и сыворотке крови, а также Ca и K в моче по сравнению с принятой «условной нормой» для данной возрастной группы доказывает наличие дисбаланса макро- и микроэлементов, связанного с генетическим нарушением обмена меди.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты собственных исследований и данных литературы: (Ави.ын, 1991; Pietrashek, 1998; Кудрин, Громова, 2006; Сухарева, 2003) свидетельствуют о том, что генетическое нарушение обмена меди сопровождается дисбалансом макро- и микроэлементов (участвующих в клеточной дифференциации, апоптозе, оксидативной защите тканей клеток, работе нервной системы, формировании костной и хрящевой тканей и др.). При этом проблема коррекции микроэлементного статуса при данном заболевании невозможна без учета взаимоотношений между самими макро- и микроэлементами.

### ЛИТЕРАТУРА

- Авицын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека. М.: Медицина, 1991. 496 с.
- Кудрин А.В., Громова О.А. Микроэлементы в неврологии. М.: ГЕОТАР-Медиа, 2006. 204 с.
- Сухарева Г.В. Гепатоцеребральная дистрофия диагностика и лечение // Гастроэнтерология. 2003. Т. 5, № 3. С. 1-8.
- Можельская Т.И., Ларский Э.Г., Палценко Л.А., Гладких С.П., Иванова-Смоленская И.А., Маркова Е.Д. Микроэлементный анализ тканей мозга и печени при бо-

лезни Вильсона-Коновалова // Журнал невропатологии и психиатрии. 1989. № 7. С. 69-73.

Методические указания 4.1.1482-03 «Определение химических элементов в биологических средах и препаратах методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой и масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой». М.: Минздрав России, 2003. 16 с.

Антомонов М.Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных. Киев, 2006. 558 с.

Lech T., Sadlik J.K. Copper concentration in body tissues and fluids in normal subjects of southern Poland and in patients with Wilson's disease // Proc. 5<sup>th</sup> Int. Symp. of Trace Elements in Human: New Perspectives, Part II. Athens, 2005. P. 296—298.

Ionescu I., Popesky M., Popesky S., Dancerscu M., Boueri F., Pop A.M. Biochemical relating to Wilson's disease // Proc. 5<sup>th</sup> Int. Symp. of Trace Elements in Human: New Perspectives, Part II. Athens, 2005. P. 433—436.

Vanhoë H., Vandecasteele C., Dams R., Versieck J. Determination of trace elements in human serum // ICP Inf Newslett. 1989, 14(11):726.

Mulligan K.J., Davidson T.E., Caruso J. The direct coupled argon plasma-mass spectrometry: advantages and limitations // ICP Inf Newslett. 1998, 14(1):23.

Pietrashek E., Kolodziejaska A., Kmiotek W., Kalika E. Rapid and reliable method for determination of copper in urine samples by graphite furnace atomic absorption spectrometry GTA-AAS in the diagnosis and treatment of Wilson disease (WD) // Metal ions in biology and medicine. Vol. 5 / Ed. by Ph. Collery. Paris, 1998. P. 641—645.

Fujimara J., Shimizu N., Hemmi H., Tsugutoshi A. Molecular diagnosis for atypical patients and carriers with Wilson disease // Proc. 6<sup>th</sup> Int. Symp. on Trace Elements in Human. Kriti, 2007. P.81.

Bost M., Piquet-Lacroix G., Pelosse M., Gincul R., Broussolle E., Xie-Brustolin J., Dumortier J., Lachaux A. Mutation analysis in French Wilson disease patients: identification of prevalent substitution and eleven novel mutations in the ATP7B gene / Proc. 6<sup>th</sup> Int. Symp. on Trace Elements in Human. Kriti, 2007. P. 82.