

УДК 616.36-002:578.891-06

Диагностика болезни Вильсона*

Diagnostics of Wilson disease

Цель обзора. Ознакомить с современными методами диагностики, лечения и наблюдения за пациентами с болезнью Вильсона (БВ).

Основные положения. Диагноз болезни Вильсона должен быть исключен у каждого больного с патологией печени неуточненной этиологии в возрасте от 3 до 55 лет. Резкое снижение уровня церулоплазмина (ЦПН) в сыворотке крови (менее 50 мг/л или менее 5 мг/дл) должно расцениваться как убедительное доказательство в пользу диагноза БВ. При умеренных или субнормальных значениях этого показателя необходимо проводить дальнейшие обследования. Нормальный уровень ЦПН не может исключать диагноз БВ.

С целью уточнения диагноза требуется исследование обмена меди.

Оценка неврологического статуса и радиологическое исследование головного мозга (предпочтительно магнитно-резонансное) должны проводиться до начала лечения всех пациентов с неврологической формой БВ, лучевые методы служат также средством дифференциальной диагностики. Проведение генетического анализа целесообразно при возникновении диагностических трудностей. У каждого пациента с острой печеночной недостаточностью и отрицательной реакцией Кумбса на внутрисосудистый гемолиз, умеренным повышением активности сывороточных аминотрансфераз или пониженным уровнем щелочной фосфатазы требуется исключать БВ.

Первичная терапия больных с клинической симптоматикой должна включать хелатирующий препарат (D-пеницилламин или триентин). Необходимо избегать употребления пищевых продуктов и воды с высоким содержанием меди, особенно в первый год лечения. Лечение пресимптомных больных или пациентов на поддерживающей терапии можно проводить с помощью хелатора или цинка. Острая печеночная недостаточность, вызванная БВ, служит показанием для немедленной трансплантации печени. Пациенты с декомпенсированным циррозом, не чувствительные к терапии хелаторами, должны расцениваться как кандидаты на проведение трансплантации. Во время беременности лечение БВ продолжается, но более низкими дозами хелаторов меди.

The aim of review. To present modern methods of diagnostics, treatment and monitoring of patients with Wilson disease (WD).

Original positions. Diagnosis of Wilson disease should be excluded at each patient with liver disease of non-specified etiology at the age of 3 to 55 years. Dramatic decrease of ceruloplasmin level (CP) in blood serum (less than 50 mg /l or less 5 mg/dl) should be regarded as the convincing proof for the benefit of WD diagnosis. At moderate or subnormal values of this parameter it is necessary to carry out further tests. Normal CP level cannot exclude WD diagnosis.

To specify the diagnosis investigation of copper metabolism is required.

Evaluation of neurologic status and radiological study of the brain (preferably – magnetic-resonance) should be done prior to onset of treatment in all patients with neurologic form of WD, radiological methods serve for differential diagnostics purpose. Genetic analysis is expedient at diagnostic difficulties. At each patient with acute liver failure and negative Coombs test for intravascular hemolysis, moderate elevation of serum aminotransferases activity or decreased level of alkaline phosphatase WD should be excluded.

Primary treatment of patients with clinical symptomatology should include chelating agent (D-Penicillaminum or trientine). It is necessary to avoid the use of food products and water with high contents of copper, especially in the first year of treatment. Treatment of presymptomatic patients or patients at maintenance therapy can be carried out with the help of chelator or Zinc. The acute liver failure caused by WD, serves as the indication for immediate liver transplantation. Patients with decompensated cirrhosis, tolerant to chelator therapy, should be regarded as candidates for transplantation. During pregnancy WD treatment proceeds, but by the lower doses of copper chelators.

Conclusion. Wilson disease – is one of the first diseases of liver for which effective method of treatment has been found. WD was a fatal disease before methods of its treatment have been developed 50 years ago. Discovering and introduction of D-Penicillamine in clinical practice revolutionized WD treatment. The most effective method, allowing to keep life to the patient, is orthotopic transplantation of the liver.

*Окончание статьи планируется опубликовать в очередном номере журнала.

Заключение. Болезнь Вильсона – одно из первых заболеваний печени, для которого был найден эффективный метод лечения. До того как 50 лет назад еще не были разработаны методы ее терапии, БВ представляла собой фатальное заболевание. Открытие и внедрение в практику D-пенициллина революционизировало лечение БВ. Наиболее эффективным способом, позволяющим сохранить жизнь пациенту, служит ортотопическая трансплантация печени.

Ключевые слова: болезнь Вильсона, диагностика, генетические исследования, D-пеницилламин, ортотопическая трансплантация печени.

Key words: Wilson disease, diagnostics, genetical studies, D-Penicillaminum, orthotopic transplantation of the liver.

Настоящие рекомендации разработанные AASLD (Американская ассоциация по изучению болезней печени) представляют собой доказательный подход к диагностике и лечению пациентов с *болезнью Вильсона* (БВ). Существенной проблемой, связанной с публикациями по БВ, является то, что пациенты относительно редко попадают в крупные когортные или рандомизированные контролируемые исследования. Более того, большинство вариантов лечения были разработаны в то время, когда доступность лекарственных препаратов была значительно ниже, чем на сегодняшний день.

Изложенные в статье положения предназначены для применения в практической врачебной деятельности и позволяют выбрать способы диагностики, профилактики и лечения заболевания. Специфические рекомендации основаны на имеющейся в данный период информации.

Установлено, что медь представляет собой важный микроэлемент, который является кофактором многих белков. Ее среднее диетическое потребление – 2–5 мг/сут. Рекомендуемый уровень – 0,9 мг/сут. Большая часть поглощаемой меди выводится из организма. Медь всасывается из кишечника в основном в двенадцатиперстной кишке и в проксимальных отделах тощей кишки с помощью энтероцитов. Далее она транспортируется в систему портального кровообращения и печень, связываясь с альбумином и аминокислотным гистидином. В печени медь активно выводится из циркуляции. Некоторое ее количество утилизируется для метаболических процессов. В печени синтезируется и секретируется также медьсодержащий белок *церулоплазмин* (ЦПН). Остальная медь выводится через желчевыводящие пути. Процессы, препятствующие выводу меди через желчь, могут привести к ее повышенному накоплению в печени.

БВ (известная также под названием гепатоленкулярная дегенерация) впервые была описана в 1912 г. Кинниром Вильсоном (Kinnear Wilson) как «прогрессирующая лентукулярная дегенерация» – семейное летальное неврологическое

заболевание, сопровождающееся хроническим поражением печени, приводящим к циррозу. В течение нескольких последующих десятилетий роль меди в патогенезе БВ была точно определена аутомно – рецессивной модели наследования БВ. В 1993 г. был выявлен патологический ген, ответственный за развитие БВ. Этот ген (*ATP7B*) кодирует металлопереносящую аденозинтрифосфатазу Р-типа, которая в основном экспрессируется в гепатоцитах и действует как трансмембральный переносчик меди. Отсутствие или ослабление функции белка *ATP7B* приводит к уменьшению выведения меди из печени. Это вызывает накопление ее в органе и соответственно его повреждение. В конце концов, медь выходит в кровеносную систему и откладывается в других органах, преимущественно в головном мозге, почках и радужной оболочке глаза. Невозможность внедрения меди в церулоплазмин является дополнительным последствием потери функционального белка *ATP7B*. Продукция и секреция в печени церулоплазмينا без меди – апоцерулоплазмينا – приводит к снижению уровня ЦПН у большинства пациентов с БВ. Это объясняется коротким периодом полураспада апоцерулоплазмينا.

Распространенность БВ в мире в среднем составляет приблизительно 30 человек на миллион. Клинически она может проявляться как заболевание печени, как прогрессирующее неврологическое заболевание (когда дисфункция печени не столь очевидна или иногда вообще отсутствует) или как психиатрическое заболевание. Как заболевание печени БВ чаще всего встречается у детей и молодых людей. Симптомы ее в любой возрастной группе нередко бывают неспецифичны.

До того как 50 лет назад еще не были разработаны методы лечения БВ, она представляла собой фатальную патологию. БВ считается одним из первых заболеваний печени, для которого был найден эффективный метод терапии. Первым хелатирующим препаратом стал представленный в 1951 г. *british anti-lewisite* – *британский антилюизит* (БАЛ, или димеркаптопропанол).

Идентификация и тестирование в 1956 г. Джоном Уолшем (John Walsh) орального препарата D-пенициллина революционизировало лечение БВ. Другими вариантами терапии стало применение солей цинка для блокирования кишечного всасывания меди, *тетратиомолибдата* (ТМ) для хелатирования меди и блокирования ее кишечного всасывания, а также ортотопической трансплантации печени. Последний метод является жизнесберегающим и наиболее эффективным в лечении данного заболевания.

Клинические проявления

Улучшающееся за многие годы качество диагностики позволило проводить более систематизированную оценку пациентов с подозрением на БВ до развития неврологической симптоматики. Эти методы включают в себя обнаружение *колец Кайзера–Флейшера* (кольца КФ) на радужной оболочке глаза, выявление у большинства больных пониженной концентрации церулоплазмينا в крови и возможность установления содержания меди в печени с помощью чрескожной биопсии органа. В последнее время молекулярная диагностика позволяет определять схемы гаплотипов или полиморфизм ДНК, окружающей *АТР7В*, что может использоваться для идентификации заболевания у ближайших родственников впер-

вые выявленного пациента или для определения мутаций специфического *АТР7В* на обоих аллелях хромосомы 13.

У больных *циррозом печени* (ЦП), с неврологической симптоматикой и кольцами Кайзера–Флейшера БВ диагностируется легко, так как это классическая картина заболевания. Пациенты с заболеванием печени в возрасте от 5 до 40 лет с повышенным уровнем ЦПН в сыворотке крови и кольцами КФ также в основном представляют собой классический случай. Тем не менее, около половины больных с поражением печени, не имеющих двух из трех патологических критериев, представляют определенную сложность в постановке диагноза. Более того, как и в случаях других заболеваний печени, пациенты обращаются за медицинской помощью только тогда, когда появляются клинические признаки болезни.

Трудности связаны и с тем, что в настоящее время генетическая диагностика *de novo* дорога и не всегда доступна (а иногда мало достоверна). Для точного распознавания БВ необходима комбинация клинических симптомов и изменений в биохимических анализах (рис. 1). Балльная система, направленная на раннее выявление БВ у детей и призванная облегчить диагностику, основана на оценке ключевых параметров. В идентификации заболевания у детей больного БВ может быть применено также молекулярное

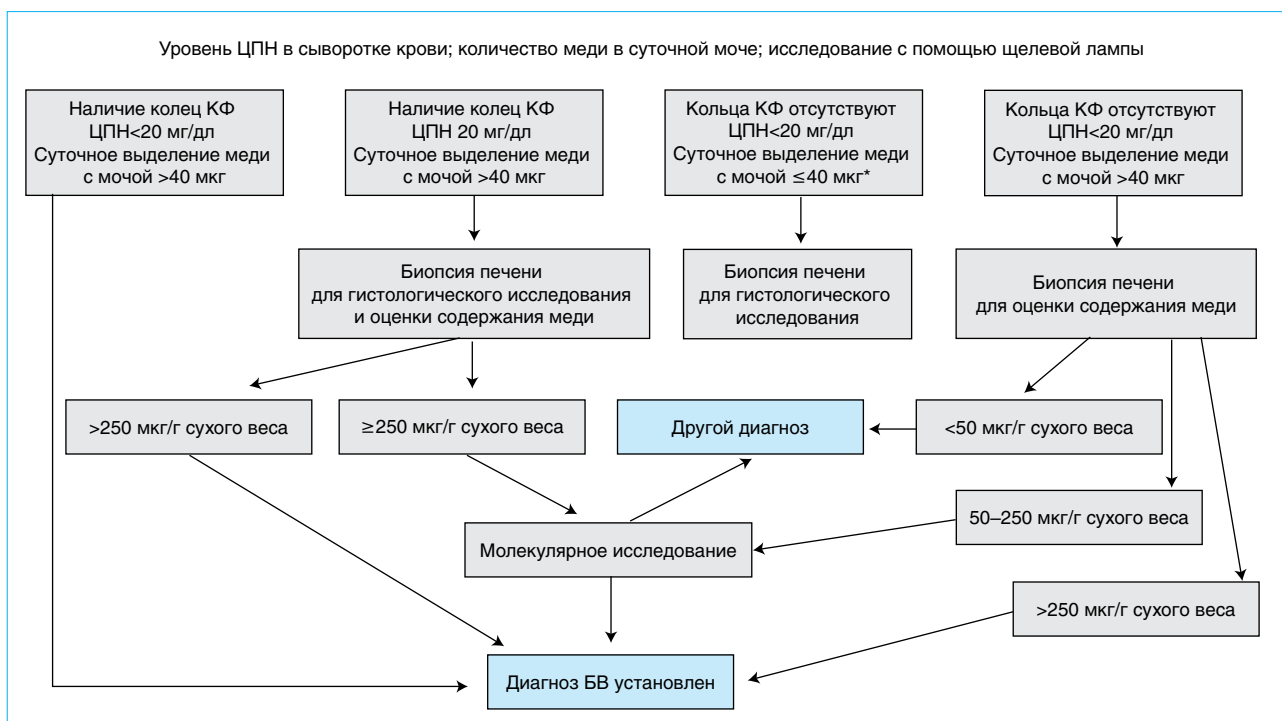


Рис. 1. Алгоритм диагностики болезни Вильсона

Молекулярное исследование означает подтверждение гомозиготности по одной мутации или определение двух мутаций, составляющих смешанную гетерозиготность.

*Необходимо убедиться в адекватности сбора суточной мочи. Перевод на международную систему единиц: ЦПН 20 мг/дл или 0,2 г/л; суточное выделение меди с мочой > 40 мкг или 0,6 ммоль. Нормальный уровень ЦПН в различных лабораториях может варьировать.

Клинические признаки у пациентов с болезнью Вильсона

Проявления БВ	Симптомы
Печеночная форма	Бессимптомная гепатомегалия Изолированная спленомегалия Постоянно повышенный уровень активности аминотрансфераз в сыворотке крови Жировая печень Острый гепатит Аутоиммуноподобный гепатит Цирроз: компенсированный или декомпенсированный Острая печеночная недостаточность
Неврологическая форма	Двигательные нарушения (тремор, непроизвольные движения) Слюнотечение, дизартрия Ригидная дистония Псевдобульбарный паралич Вегетативная дистония Мигреноподобные головные боли Бессонница Припадки
Психиатрическая форма	Депрессия Невротическое поведение Изменения личности Психоз
Другие системы	Офтальмология: кольца Кайзера—Флейшера Дерматологические изменения: язвы Патология почек: аминоацидурия и нефролитиаз Патология скелета: ранний остеопороз и артрит Кардиомиопатия, нарушения ритма Панкреатит Гипопаратиреоидизм Менструальные нарушения; бесплодие; повторные выкидыши

генетическое исследование с использованием гаплотипирования или прямого анализа мутаций.

Разнообразие клинических проявлений.

Спектр поражений печени, встречающихся при БВ, показан в таблице. Они могут быть очень разнообразны — начиная от бессимптомных биохимических отклонений и заканчивая острой печеночной недостаточностью. У детей симптоматика может полностью отсутствовать. Гепатомегалия или повышение активности сывороточных аминотрансфераз могут выявляться случайно.

Некоторые пациенты переносят кратковременное заболевание, сходное с острым вирусным гепатитом, у других симптомы не отличимы от таковых при аутоиммунном гепатите. В определенном проценте случаев регистрируются только изменения в биохимических показателях или гистологические признаки стеатоза при биопсии печени. У многих пациентов отмечаются симптомы хронического заболевания печени и имеются доказательства компенсированного или декомпенсированного цирроза. Иногда может наблюдаться изолированная спленомегалия, вызванная умеренным ЦП с портальной гипертензией. БВ может проявиться также острой печеночной недостаточностью с гемолитической анемией и отрицательной пробой Кумбса, острой почечной недостаточностью. У некоторых больных возможны преходящие эпизоды желтухи, вызван-

ной гемолизом. На БВ может указывать слабо выраженный гемолиз при отсутствии клинических признаков заболевания печени. В одном из исследований такой тип гемолиза был выявлен у 25 из 220 пациентов и проявлялся как единичный острый эпизод с последующим рецидивированием или представлял собой хронический процесс. В Японии в исследовании 283 больных, страдавших БВ, только у 3 был выявлен изолированный острый гемолиз, но он отмечался и у четверти пациентов с жалобами на желтуху. Пациенты с подтвержденной БВ и жалобами на желтуху в прошлом также могли переносить эпизоды гемолиза.

Больные с выраженным аутоиммунным гепатитом, выявленным в детстве, или взрослые с подозрением на аутоиммунный гепатит, которые плохо поддаются терапии, должны быть тщательно обследованы на предмет БВ, поскольку повышенный уровень сывороточных иммуноглобулинов и неспецифических аутоантител обнаруживается при обоих заболеваниях.

Неврологические симптомы при БВ обычно проявляются позже, чем поражение печени. Чаще всего это происходит на третьем десятилетии жизни, но может возникнуть и в детстве (рис. 2). У детей встречаются ранние умеренные признаки БВ — изменения поведения, отставание в учебе или неспособность выполнять координационные

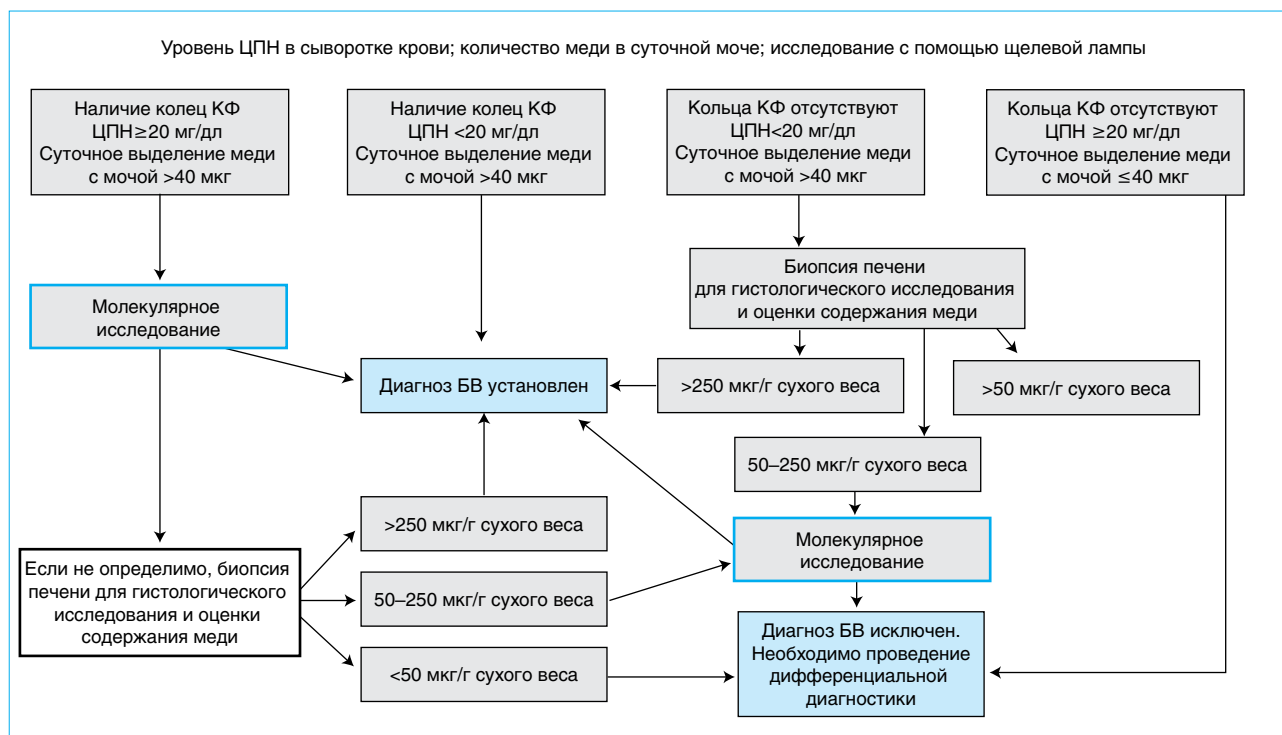


Рис. 2. Алгоритм диагностики болезни Вильсона у пациентов с неврологическими или психическими расстройствами с поражением печени или без него
Молекулярное исследование означает подтверждение гомозиготности по одной мутации или определение двух мутаций, составляющих смешанную гетерозиготность.

*Необходимо убедиться в адекватности сбора суточной мочи. Перевод на международную систему единиц: ЦПН < 20 мг/дл или 0,2 г/л; суточное выделение меди с мочой > 40 мкг или 0,6 ммоль. Нормальный уровень ЦПН в различных лабораториях может варьировать

действия. Может изменяться почерк — напоминает мелкий и неразборчивый почерк при болезни Паркинсона (микрография). Другими частыми симптомами при неврологическом поражении являются тремор, отсутствие моторной координации, слюнотечение, дизартрия, дистония и спастичность. В связи с псевдобульбарным параличом может отмечаться преходящая дисфагия, в тяжелых случаях с риском развития аспирации. Иногда наблюдается вегетативная дистония. В редких случаях — мигрень и бессонница. Психиатрические симптомы кроме поведенческих изменений включают в себя депрессию, тревожность и даже психоз. У многих пациентов с неврологической или психиатрической симптоматикой может присутствовать ЦП, но чаще всего проявлений поражения печени нет.

Помимо неврологических и психиатрических симптомов у пациентов с БВ возможна другая серьезная внепеченочная патология: поражение почек (аминоацидурия и нефролитиаз), аномалии двигательной системы (ранний остеопороз, артриты), кардиомиопатия, панкреатит, гипопаратиреоидизм, бесплодие и повторные выкидыши.

Возрастные особенности. Исключая случаи отсутствия симптомов у детей больного БВ, возраст, при котором болезнь может проявиться

и быть диагностирована, может быть меньше или больше того, что принято считать. Обычно он варьирует от 5 до 35 лет. Все чаще БВ с атипичной симптоматикой наблюдается у детей моложе 2 лет. Имеется сообщение о развитии ЦП у 3-летних и об острой печеночной недостаточности у 5-летних детей. Наиболее пожилым больным, у которых диагноз БВ подтвержден обнаружением мутаций *ATP7B* с помощью молекулярных исследований, было 70 и более лет. В основном диагноз БВ рассматривается у пациентов моложе 40 лет, при конкурентных неврологических или психиатрических симптомах, гистологических и биохимических изменениях, позволяющих предположить наличие данного заболевания; у лиц старшего возраста требуется проведение дальнейших исследований.

Кольцо Кайзера–Флейшера. Этот симптом свидетельствует о накоплении меди в десцеметовой оболочке радужки глаза. При прямом исследовании кольцо КФ представляет собой полосу золотисто-коричневого пигмента около лимба роговицы. С помощью щелевой лампы опытный офтальмолог может выявить его у большинства рассматриваемой категории больных. Этот симптом не полностью специфичен для БВ, так как может наблюдаться при хронических

холестатических заболеваниях (редко), а также у детей с неонатальным холестазом. Статистика свидетельствует, что кольца КФ присутствуют только у 44–62% больных с поражением печени в момент установления диагноза БВ. У детей с признаками заболевания печени они, как правило, не обнаруживаются. Указанный симптом практически всегда встречается у пациентов с неврологической симптоматикой, но даже в этом случае у 5% больных он отсутствует.

При БВ может быть выявлена и другая офтальмологическая патология, в частности катаракта, определяемая с помощью щелевой лампы и представляющая собой признак отложения меди в хрусталике. Такая катаракта не вредит зрению. При успешном медикаментозном лечении или трансплантации печени кольца КФ и катаракты постепенно исчезают, хотя этот эффект не коррелирует с разрешением клинической симптоматики. Рецидив офтальмологических проявлений БВ у пролеченного пациента предполагает неэффективность терапии.

Диагностические исследования

Биохимические анализы. При БВ в основном наблюдается *патологическая активность аминотрансфераз* в сыворотке крови — *аланинаминотрансферазы* (АлАТ) и *аспартатаминотрансферазы* (АсАТ). У многих пациентов степень ее повышения невысока и не отражает тяжесть поражения печени.

Церулоплазмин. Этот белок, 132-kDa, синтезируется преимущественно в печени и представляет собой реагент острой фазы заболевания. Большая часть вещества секретируется в циркуляцию из гепатоцитов в виде переносящего медь белка, содержащего 6 атомов меди на одну молекулу церулоплазмينا (холоцерулоплазмин). В остающейся части белка меди нет (апоцерулоплазмин).

ЦПН, представляющий собой феррооксидазу, является главным переносчиком меди в системе кровообращения, отвечающим за 90% транспорта данного микроэлемента у здорового человека. Церулоплазмин — это оксидоза оксида азотной кислоты, влияющая на гомеостаз оксида. Он действует в роли оксидазы на такие вещества, как *p*-фениламин диамид и *o*-дианизидин, что обосновывает необходимость ферментативного исследования белка. Уровень ЦПН в сыворотке крови можно определять также ферментативным методом, оценивая медьзависимую активность оксидазы по отношению к вышеперечисленным веществам. Его можно измерять и с помощью антителозависимых методов, таких как радиоиммунный метод, радиальная иммунодиффузия или нефелометрия. Результаты этих анализов в основном расцениваются как эквивалентные, но

при применении радиоиммунных методов в клинической практике содержание ЦПН часто бывает завышенным, так как эти методы не различают холоцерулоплазмин и апоцерулоплазмин.

Таким образом, концентрацию ЦПН в качестве диагностического критерия трудно интерпретировать. Данный показатель повышается за счет острого воспаления и в состояниях, связанных с гиперэстрогемией (например, при беременности, применении эстрогенов в терапевтических целях и при использовании некоторых оральных контрацептивов).

Уровень церулоплазмينا очень низок в младенческом возрасте (до 6 месяцев), затем в раннем детстве он начинает превышать нормальные значения у взрослых (приблизительно 300–500 мг/л), а затем снижается. При БВ содержание ЦПН обычно понижено, но такие же значения можно наблюдать и при некоторых других патологических процессах с выраженной кишечной или почечной потерей белка, при тяжелых терминальных стадиях заболевания печени любой этиологии или при некоторых редких неврологических болезнях. О низком уровне ЦПН и/или панцитопении у больных с дефицитом меди сообщалось в случаях, когда в состав парентерального питания не были добавлены микроэлементы, а также при болезни Менкеса (генетического заболевания, связанного с X-хромосомой и выражающегося в нарушении транспорта меди за счет мутаций *ATP7A*). У пациентов с редким состоянием ацерулоплазминемии отсутствие белка всецело обусловлено мутациями в гене церулоплазмينا на хромосоме 3, но у них определяется гемосидероз, а не накопление меди.

Концентрация ЦПН менее 200 мг/л (менее 20 мг/дл) — хотя в различных лабораториях могут применяться разные нормы — считается соответствующей диагнозу БВ, особенно при наличии колец КФ. Проспективные исследования с определением только этого параметра в качестве скринингового теста при заболеваниях печени показали, что его субнормальные величины имеют очень низкую позитивную прогностическую значимость. Из 2867 пациентов лишь у 17 определялись субнормальные показатели ЦПН и только у одного была диагностирована БВ.

Другие недавно опубликованные сообщения также указывают на ограниченные возможности данного теста для постановки диагноза. В одной из работ описываются 12 из 55 пациентов с БВ, у которых отмечался нормальный уровень ЦПН при отсутствии колец КФ. Еще в одном исследовании у 6 из 22 больных содержание этого белка было выше 170 мг/л (выше 17 мг/дл) и у 4 из них отсутствовали кольца КФ. В одном из педиатрических исследований у 3 из 26 детей уровень ЦПН превышал 150 мг/л (15 мг/дл), а в другом, проведенном ранее, у 10 из 28 детей с БВ

данный показатель был ≥ 200 мг/л (20 мг/дл). Тем не менее, большинство авторов, основываясь на сообщениях по БВ за несколько десятилетий, начиная с середины 1950-х годов, указывают, что у 90–100% таких больных концентрация ЦПН находится в субнормальном диапазоне. Более того, использование рассматриваемого показателя для диагностики БВ осложняется перехлестом с некоторыми гетерозиготами. Приблизительно у 20% гетерозиготов отмечается снижение сывороточного уровня ЦПН.

Мочевая кислота. При ранних клинических проявлениях поражения печени или нервной системы содержание мочевой кислоты в сыворотке крови может быть снижено за счет ассоциированной дисфункции почечных канальцев (синдром Фанкони). Доказательств для определения прогностической значимости этого факта в настоящее время недостаточно.

Уровень меди в сыворотке крови. Хотя БВ представляет собой заболевание, связанное с перегрузкой медью (что включает в себя внедрение ее в церулоплазмин) уровень микроэлемента в сыворотке крови обычно снижен пропорционально снижению уровня церулоплазмينا. У пациентов с тяжелым поражением печени концентрация меди может оставаться в нормальных пределах, несмотря на снижение содержания ЦПН. В условиях острой печеночной недостаточности, вызванной БВ, количество меди в сыворотке крови может быть значительно повышено вследствие резкого высвобождения металла из тканей.

Нормальный или повышенный сывороточный уровень меди при сниженном уровне церулоплазмينا указывает на увеличение содержания меди, не связанной в крови с ЦПН. Определение данного показателя было предложено как диагностический тест на БВ. У большинства нелеченных пациентов он выше 25 мкг/дл (250 мкг/л) при норме менее 15 мкг/дл (или 150 мкг/л). Уровень меди, не связанной с ЦПН, обычно оценивается по значениям обоих показателей. Количество связанной меди составляет приблизительно 3,15 мкг на миллиграмм церулоплазмينا.

Таким образом, количество несвязанной меди представляет собой разницу между ее концентрацией в микрограммах на децилитр и содержанием церулоплазмينا в миллиграммах на децилитр, умноженную на 3 (в Международной системе единиц медь и церулоплазмин измеряются «на литр»; фактор конверсии не изменяется, но нормальное референтное значение составляет менее 150 мкг/л). Уровень меди, не связанной с ЦПН, может повышаться при острой печеночной недостаточности любой этиологии (не только при БВ). Он может быть повышен также при хроническом холестазах и в случаях отравления медью.

Главной проблемой при определении концен-

трации не связанной с церулоплазмином меди в качестве диагностического теста является то, что достоверность получаемых при этом результатов зависит от адекватности применяемых для расчетов методов. Если измерение уровня меди в сыворотке крови выполнено неточно или (в более частой ситуации) при измерении содержания церулоплазмينا переоценивается количество холоцерулоплазмينا, тогда показатель меди, не связанной с ЦПН, не может быть интерпретирован, поскольку может иметь негативное значение. Большую роль он может играть при мониторинге пациентов в фармакологических исследованиях, чем при диагностике БВ. Падение уровня меди, не связанной с ЦПН, ниже 5 мкг/дл (50 мкг/л) свидетельствует о системной ее недостаточности, которая может развиваться у лиц, получающих длительное лечение.

Выделение меди с мочой. Для диагностики БВ и проведения мониторингирования может оказаться полезным определение количества меди, выделяемой с мочой за сутки. Суточная мочевая экскреция отражает количество меди, не связанной с церулоплазмином, в системе кровообращения. Исходные исследования мочи могут предоставить полезную диагностическую информацию, поскольку медь не откладывается в выделительной системе и выводится полностью. В однократных анализах мочи по сравнению с суточными отмечается высокая степень вариабельности, что не дает возможности использовать эти данные. Объем суточной мочи и общее количество в ней креатинина позволяют оценить полноту выделения меди. Традиционно нормой, принятой в диагностике БВ, считается показатель более 100 мкг/сут (более 1,6 ммоль/сут) у пациентов с наличием симптоматики заболевания. В недавно проведенных исследованиях установлено, что исходные суточные величины могут быть ниже 100 мкг/сут у 16–23% первичных пациентов с БВ. Референтные значения для нормального суточного выведения меди с мочой варьируют в различных лабораториях. Во многих из них уровень 40 мкг/сут (0,6 ммоль/сут) расценивается как верхний лимит нормы. Вероятно, это является пороговым значением для постановки диагноза.

Интерпретация показателя суточного выведения меди с мочой может оказаться сложной из-за перехлеста клинических проявлений при других поражениях печени и у гетерозиготов, у которых также могут отмечаться изменения данного критерия. Больные с подтвержденным хроническим поражением печени (включая аутоиммунный гепатит) могут иметь исходный уровень суточного выделения меди с мочой порядка 100–200 мкг/сут (1,6–3,2 ммоль/сут). В одном из исследований у 5 из 54 пациентов с хроническим заболеванием печени экскреция меди с мочой превышала

100 мкг/сут. О наличии перехлеста сообщалось также у детей с аутоиммунным гепатитом.

Определение выведения меди с мочой при применении D-пенициллина может быть полезным дополнительным диагностическим тестом. Такое исследование было стандартизировано только в педиатрии: 500 мг D-пенициллина вводилось орально в начале исследования и повторно через 12 ч во время сбора суточной мочи вне зависимости от массы тела. По сравнению с другими заболеваниями печени (аутоиммунный гепатит, первичный склерозирующий холангит, острая печеночная недостаточность) при выделении с мочой меди более 1600 мкг/сут четко дифференцируется наличие БВ. Недавнее исследование, посвященное эффективности этого теста у детей, показало его полезность при остром заболевании печени у пациентов с БВ (чувствительность 92%). Однако этот тест малоэффективен для исключения диагноза БВ у асимптомных детей больного (чувствительность составила только 46%). В других работах предсказательное значение величины 25 ммоль/сут расценено как менее 100%. Этот тест использовался также у взрослых, но в различных работах применялись разные дозы D-пенициллина и режим его введения.

Определение исходного уровня выделения меди с мочой представляет собой важную, но не единственную часть процедуры скринирования детей пациентов с БВ.

Концентрация меди в паренхиме печени.

Содержание меди в печени ≥ 250 мкг/г сухого веса остается лучшим биохимическим доказательством наличия БВ. Тем не менее, этот пороговый уровень часто критикуется как слишком завышенный и основанный на относительно небольшом количестве исследований. Работа, в которой рассматривалось 114 генетически подтвержденных случаев БВ, предполагает пороговый уровень 70 мкг/г сухого веса печени, что при выраженном повышении чувствительности метода сопровождается некоторой потерей его специфичности. В другом крупном исследовании у всех пациентов содержание меди в паренхиме определялось, как минимум, в 95 мкг/г сухого веса и за исключением 8% больных составляло ≥ 250 мкг/г. Нормальное содержание меди редко превышает показатель в 50 мкг/г. Концентрация меди у гетерозиготов, хотя и бывает часто повышена, но не выходит за пределы 250 мкг/г сухого веса. При длительно протекающих холестатических заболеваниях уровень меди также может превышать эти показатели. Существенное увеличение ее содержания в паренхиме может быть выявлено и при синдромах идиопатического медного токсикоза (например, при индийском детском циррозе).

Для количественной оценки содержания меди сухой биоптат ткани печени помещается в свободный от данного металла контейнер. Биоптат

(или часть его) должен быть высушен за ночь в вакуумной печи или, что предпочтительнее, немедленно заморожен для передачи в соответствующую лабораторию. Для проведения исследования могут быть применены также образцы, хранящиеся в парафине.

Главной проблемой установления диагностической ценности определения концентрации меди в паренхиме печени является то, что в терминальных стадиях БВ распределение металла в органе часто негетерогенно. В тяжелых случаях заболевания узлы, в которых гистохимически медь отсутствует, располагаются рядом с цирротическими узлами, изобилующими медью. Таким образом, уровень меди может быть недооценен по причине взятия неудачного образца паренхимы. В педиатрических исследованиях было показано, что такая ошибка достаточно часто делает данный метод недостоверным у пациентов с циррозом и клинически подтвержденной БВ. В целом точность метода повышается при адекватном размере биоптата (рекомендуемая длина 1–2 см). Технических проблем получения биопсийного материала у пациента с декомпенсированным ЦП или тяжелой коагулопатией можно избежать при использовании трансъюгулярной биопсии. Тем не менее, определение содержания меди в паренхиме очень важно у больных молодого возраста, поскольку у них гепатоцеллюлярная медь располагается цитоплазматически и, следовательно, не может быть обнаружена с помощью рутинных гистохимических методов.

Радиологическое исследование меди. У пациентов с БВ и нормальным содержанием церулоплазмينا уровень включения радиоактивной меди в этот белок значительно снижен по сравнению со здоровыми людьми и гетерозиготами. Неспособность включения меди в плазменный белок внутри гепатоцита отмечается у всех гомозиготных пациентов с БВ. Данное исследование в настоящее время используется редко из-за трудностей с получением изотопа. Альтернативой служит применение ^{65}Cu — нерадиоактивного изотопа, который определяется методом спектроскопии. Этот метод также не считается рутинным и малодоступен.

Результаты биопсии печени. При БВ наиболее ранними гистологическими изменениями в печени служат умеренный стеатоз (микро- и макроваскулярный), наличие гликогенированных ядер гепатоцитов и фокальный гепатоцеллюлярный некроз. Биопсия печени также может выявить классические гистологические признаки аутоиммунного гепатита. При прогрессировании поражения паренхимы может развиваться фиброз печени с переходом в ЦП. Последний обнаруживается у большинства пациентов с БВ в возрасте 10–20 лет. Обычно это макронодулярный цирроз, хотя иногда сообщается о микронодулярном

поражении печени. У лиц более старшего возраста при наличии неврологической симптоматики цирроз иногда не диагностируется. Однако гистологическая картина печени у них также изменена. В условиях острой печеночной недостаточности у пациентов с БВ при исследовании биоптата выявляются гепатоцеллюлярная дегенерация и резкое уменьшение функционирующей паренхимы, чаще всего на фоне цирроза. Апоптоз гепатоцитов — наиболее выраженный симптом при острой печеночной недостаточности, вызванной БВ.

Определение содержания меди в гепатоцитах с помощью рутинных гистохимических методов дает разнообразные результаты. На ранних стадиях заболевания медь располагается в основном в цитоплазме, связана с металлотioneином и не определяется гистохимически, на более поздних практически всегда обнаруживается в лизосомах. Ее содержание различно в цирротических узлах, а также в клетках печени на прецирротической стадии. Отсутствие гистохимически определяемой меди не отвергает диагноз БВ, и это исследование не имеет большого практического значения для диагностики. Связанный с медью белок может быть окрашен разными методами, включая роданин или орсеин. Более чувствительная окраска методом Тиммса с серой не является стандартной.

Ультраструктурный анализ образцов печеночной ткани на стадии стеатоза в настоящее время позволяет выявить специфические изменения в митохондриях. Особые схемы митохондриальной патологии могут обнаруживаться среди членов семьи, страдающей БВ. Типичными находками являются разнообразие размера и формы матричного материала, его повышенная плотность и многочисленные включения (в частности, жира и хрупкого гранулярного материала, который может быть медью). Наиболее выраженным изменением считается увеличение внутриампулярного пространства с расширением устья ампул, что создает впечатление наличия кист. В случае отсутствия холестаза эти изменения можно расценивать как патогномоничные для БВ. При адекватной хелатирующей терапии они могут исчезнуть. На поздних стадиях болезни присутствуют плотные депозиты меди в лизосомах. Ультраструктурный анализ может оказаться полезным дополнительным методом для дифференциальной диагностики между гетерозиготным носительством и наличием заболевания. Однако этот метод, не будучи стандартным, требует адекватной подготовки, поскольку часть биоптата должна быть сохранена для выполнения исследования.

Гепатоцеллюлярная карцинома (ГЦК) при БВ встречается редко, но недавно опубликованные работы показывают, что частота ее возникновения выше, чем предполагалось ранее. Сообщалось о клиническом случае, когда течение БВ осложнилось развитием холангиокарцино-

мы. Скрининг ГЦК при БВ не рекомендуется, поскольку коэффициент «стоимость — эффективность» такой процедуры в данной популяции еще необходимо оценить проспективно, по крайней мере для пациентов с ЦП.

Неврологические проявления БВ и радиологическое исследование головного мозга. Неврологически заболевание может манифестировать нарушением моторики с паркинсоническими признаками дистонии, гипертонией и ригидностью (хореальной или псевдосклеротической) с тремором и дизартрией. Иногда возникают мышечный спазм, который может привести к развитию контрактур, дисфония и дисфагия. Редко отмечается наличие полинейропатии или вегетативной дистонии. На данной стадии болезни применение *магнитно-резонансного исследования* (МРИ) или *компьютерной томографии* (КТ) головного мозга могут выявить структурную патологию в базальных ганглиях. При КТ чаще выявляется повышение их плотности, а при МРИ в режиме T2 — гиперчувствительность в области базальных ганглиев. У некоторых больных при использовании данных методов выраженная патология может обнаруживаться до появления клинических симптомов.

Неврологическое обследование должно проводиться у всех пациентов с БВ. В ряде случаев для оценки неврологического статуса у таких больных использовалась специфическая шкала Хантингтона.

Генетические исследования. В настоящее время молекулярные генетические исследования стали доступны для применения в клинической практике, например анализ родословной с использованием гаплотипов на основе полиморфизма гена БВ. Коммерчески это исследование доступно в некоторых специализированных лабораториях. Данный метод требует идентификации пациента (пробанда) в кругу семьи с помощью клинических и биохимических методов обследования. После выявления у пробанда мутации или гаплотипа в виде ди- и тринуклеотидных повторов вокруг *ATP7B* таким же способом исследуются специфические области ДНК всех ближайших родственников для исключения заболевания, его диагностики или определения гетерозиготного состояния. Может быть проведено также пренатальное тестирование, но клиническая значимость этой процедуры ограничена, так как после быстрого установленного уже после рождения ребенка диагноза есть время для назначения лечения.

Сегодня предпочтительно проведение прямого анализа мутаций. Однако интерпретация результатов этого исследования иногда затруднена в связи с тем, что большинство пациентов — гетерозиготы с различными мутациями в каждой аллели. На данный момент идентифицировано более 300 мутаций гена *ATP7B*, но не все они

вызывают заболевание. Уточнить сведения об этих мутациях можно в Интернете по адресу www.medgen.med.ualberta.ca/database.html. Указанный диагностический метод очень важен при обследовании определенных четко очерченных популяций, обладающих ограниченным спектром мутаций *АТР7В*. Они включают в себя жителей Сардинии, испанцев, исландцев, корейцев, японцев, жителей Тайваня и Канарских островов. Сходные с последней популяцией мутации выявлены в Бразилии. В Восточной Европе также отмечается преобладание мутаций Н1069Q. Корреляция «генотип — фенотип» при БВ затруднена из-за большого количества смешанных гетерозиготов и относительного малого количества гомозиготов.

Дифференциальная диагностика в целевых специфических популяциях

«Замаскированное» поражение печени. У пациентов с БВ, особенно молодых, клинические и гистологические изменения могут быть практически неотличимы от таковых при аутоиммунном гепатите. На предмет наличия БВ необходимо проведение тщательного обследования всех детей с доказанным диагнозом аутоиммунного гепатита, а также всех взрослых с предполагаемым указанным диагнозом, которые быстро и адекватно не ответили на терапию кортикостероидами. У некоторых больных БВ отмечается улучшение при применении короткого курса кортикостероидов в сочетании с соответствующей терапией основного заболевания. У части пациентов нельзя исключить конкурирующие диагнозы БВ и аутоиммунного гепатита. Стеатоз печени при БВ не так выражен, как при *неалкогольной жировой болезни печени* (НЖБП). Тем не менее, у части пациентов с БВ симптомы очень напоминают НЖБП или эти заболевания могут существовать независимо у одного и того же больного.

Острая печеночная недостаточность. У большинства пациентов с БВ и острой печеночной недостаточностью имеется характерная клиническая картина:

- гемолитическая анемия с отрицательной пробой Кумбса и признаками внутрисосудистого гемолиза;
- коагулопатия, не отвечающая на парентеральное введение витамина К;
- быстрое прогрессирование почечной недостаточности;
- относительно небольшое повышение активности сывороточных аминотрансфераз (обычно менее 2000 МЕ/л) с самого начала клинических проявлений;
- нормальное или субнормальное значение *щелочной фосфатазы* (ЩФ) — обычно менее 40 МЕ/л;
- соотношение «мужчины — женщины» 2 : 1.

Для постановки правильного диагноза необходимо проявлять высокую клиническую настороженность, поскольку стандартные лабораторные методы не всегда позволяют отличить острую печеночную недостаточность при БВ от того же состояния, вызванного вирусной инфекцией или лекарственной токсичностью. По сравнению с острой печеночной недостаточностью другой этиологии у большинства пациентов с БВ отмечается относительно умеренное повышение активности сывороточных аминотрансфераз, что часто приводит к недооценке тяжести состояния. Сывороточный уровень церулоплазмينا обычно понижен, однако прогностическая ценность этого исследования в условиях острой печеночной недостаточности незначительна. Уровень меди в сыворотке крови и ее суточное выделение с мочой существенно повышены. К сожалению, во многих лечебных заведениях невозможно быстрое получение данных показателей, поэтому диагностика должна быть основана на клинических проявлениях. Для подтверждения диагноза может быть использовано выявление колец Кайзера—Флейшера, но у 50% таких больных они могут отсутствовать. Быстрая постановка диагноза играет очень большую роль, так как этой категории пациентов для выживания требуется экстренная трансплантация печени.

У некоторых больных с острой печеночной недостаточностью, вызванной БВ, активность АсАТ в сыворотке крови может быть выше, чем активность АлАТ, что потенциально отражает повреждение митохондрий. Тем не менее, эти показатели достаточно часто и сильно варьируют, чтобы служить диагностическим критерием. Чаще в указанной ситуации отмечается низкая активность ЩФ, а соотношение ее уровня (в международных единицах на литр) и показателя общего билирубина (в миллиграммах на децилитр) составляет менее 2. Прогностический индекс, применяемый на момент постановки диагноза острой печеночной недостаточности у пациентов с БВ, который оценивает уровень выживаемости, основан на показателях общего билирубина, АсАТ в сыворотке крови и длительности протромбинового времени. Хотя данный индекс адекватно оценивает экстремальные случаи заболевания, он не слишком достоверен при более умеренной выраженности заболевания. Недавно этот индекс был переработан (теперь в него включены также показатели количества лейкоцитов и уровня альбумина в сыворотке крови) и, возможно, станет информативно более ценным.

Острая печеночная недостаточность часто служит первым клиническим проявлением повреждения печени у пациентов с БВ, однако при обследовании у них, как правило, выявляется прогрессирующий цирроз. Предполагается, что наличие интеркуррентных заболеваний, таких

как вирусная инфекция и лекарственная токсичность, может дать толчок быстрому прогрессированию печеночной патологии. Иногда у больных с острой печеночной недостаточностью, вызванной вирусным гепатитом, обнаруживается латентная БВ.

Пациенты с острой печеночной недостаточностью, вызванной БВ, включаются в высшую приоритетную группу листа ожидания для трансплантации печени по статусу 1A United Network for Organ Sharing независимо от наличия у них хронического заболевания печени.

Семейное скринирование. Родственники по прямой линии вновь выявленного больного с БВ должны проходить скрининг на наличие у них заболевания (рис. 3). При этом требуется выявление кратковременных эпизодов желтухи в анамнезе, заболевания печени и ранней симптоматики неврологических отклонений. В процедуру скринирования входят также физикальный осмотр, определение в сыворотке крови уровней меди, церулоплазмينا, проведение функциональных печеночных тестов, включающих опреде-

ление активности сывороточных аминотрансфераз, содержания альбумина, а также конъюгированного и неконъюгированного билирубина. Измеряется количество меди, выделяемой с мочой за сутки, а с помощью щелевой лампы — наличие колец Кайзера—Флейшера. Лицам, у которых последние не выявляются, но имеются субнормальные показатели ЦПН и изменения печеночных тестов, показано проведение биопсии печени для подтверждения диагноза. Если это возможно, в качестве первичного скринирования необходимо молекулярное исследование мутаций гена *ATP7B* или изучение гаплотипа. Всем лицам старше 3—4 лет с выявленными при семейном скрининге симптомами заболевания должно быть назначено лечение.

Скрининг новорожденных. Определение церулоплазмينا в образцах мочи новорожденных или в крови методом Гатри может помочь в распознавании БВ. Однако для более точной диагностики рекомендуется применение более тонких методов исследования, включающих иммунологические.