

## МЕД: ФИЗИОЛОГИЧНО И КЛИНИЧНО ЗНАЧЕНИЕ

И. Иванова<sup>1</sup>, Б. Атанасова<sup>2</sup> и К. Цачев<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Клинична лаборатория, УМБАЛ „Св. Иван Рилски“ – София

<sup>2</sup>Катедра по клинична лаборатория и клинична имунология, МФ, МУ – София, ЦКЛ, УМБАЛ „Александровска“

## COPPER: PHYSIOLOGICAL AND CLINICAL IMPORTANCE

I. Ivanova<sup>1</sup>, B. Atanasova<sup>2</sup> and K. Tzachev<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of clinical laboratory, University Hospital „St. Ivan Rilski“, Sofia

<sup>2</sup>Department of clinical laboratory and clinical immunology, University Hospital „Alexandrovska“, Medical University – Sofia

**Резюме.** Медта е есенциален микроелемент за човека и животните. Тя има ключово значение, тъй като е задължителен компонент в активния център на редица медни металоензими и участва активно в процесите на пигментация, еритропоеза, генна експресия, оксидативен стрес, поддържане на глюкозния баланс. Клиничните нарушения в обмяната на медта са свързани с дефицит или свръхнатрупване в организма. Фенотипно тези нарушения са много разнообразни. Оценката на медния статус изисква използването на надеждни лабораторни биомаркери, които са с голяма чувствителност да могат да отразяват дори и малки промени в съдържанието на медта. Настоящият обзор представя аспекти от физиологията на медта, заболявания с нарушена хомеостаза и съвременни биомаркери за охарактеризиране на медния статус.

**Ключови думи:** мед, меден дефицит, свръхнатрупване на мед, биомаркери за меден статус, синдром на Менке, болест на Уилсон, болест на Алцхаймер

**Адрес за кореспонденция:** Д-р Ирена Димитрова Иванова, МДЛ по клинична лаборатория и имунология, УМБАЛ „Св. Иван Рилски“, Бул. „Акад. И. Е. Гешов“ № 15, София, тел.: 02/8524883, +359 877721478, e-mail: irena.dimirtova@gmail.com

*Summary.* Copper is an essential trace element for humans and animals. It plays crucial role as an integrative component of many copper metalloenzymes and participates in various physiological processes: pigmentation, erythropoiesis, gene expression, oxidative stress, regulation of glucose balance. Clinical disorders of copper homeostasis are associated with deficiency or overload. Phenotypically these impairments have diverse expression. In recent medical practice the need for reliable laboratory markers that would allow effective evaluation of copper status in human body with high sensitivity to detect even small changes in body copper levels is boldly underlined. This review presents the main aspects in copper physiology, clinical disorders in copper metabolism and key laboratory biomarkers for assessment of copper status

*Key words:* copper metabolism, copper deficiency, copper overload, biomarkers of copper status, Menkes disease, Wilson's disease, Alzheimer's disease

*Address for correspondence:* I. Ivanova, Department of Clinical Laboratory, University Hospital „Sv. Ivan Rilski“, 15 Akad. I. E. Geshov, bvl., Bg– 1431 Sofia, tel.: 02/8524883, +359 877721478, e-mail: irena.dimirtova@gmail.com

### МЕД – РОЛЯ И ФИЗИОЛОГИЯ В ОРГАНИЗМА

Медта е есенциален микроелемент за човека и животните. Есенциален е елемент, за който може естествено да възникне или експеримен-

тално да се предизвика недоимък и възникнали-те при това прояви изчезват след прибавянето на елемента [1]. След цинка и желязото, медта е третият по представителност микроелемент в организма [3]. При възрастен човек съдържанието

е около 70-150 mg [2, 14]. Медното съдържание варира в зависимост от възрастта и пола като е по-високо в декадите между 20-30 години и при женския пол [2, 9, 17]. Женските полови хормони и по-специално естрогените влияят върху медното съдържание в организма [3]. По-високи нива на серумна мед са измерени по време на менструация, а по-ниски – по време на овулация [3]. Причината за това би могъл да е стимулираният синтез на церулоплазмин под действие на естрогените [3]. Съдържанието на мед в организма зависи от вида и състава на храната, водата, от приема на алкохолни напитки, лекарствени вещества и хранителни добавки [2]. Наблюдавана е тенденция към намаляване на съдържанието на мед при повишена алкохолна консумация [2, 17]. Не е установена статистически значима разлика между пушачи и непушачи [2]. Повишената физическа активност се свързва с по-ниски нива на мед в кръвта [17]. Установена е значима корелация между нивата на серумната мед и body mass index (BMI) ( $R = 0,85$ ,  $p < 0,001$ ) [2, 9].

Тъканната концентрация на медта е около 1.5 до 5  $\mu\text{g/g}$  суха тъкан [11]. Относително по-високо съдържание има в сърцето, мозъка и бъбреците. Съдържанието в мускулите и в костите е около 50% от общото съдържание в организма; по около 15% е в кожата и костния мозък; 8% – в мозък [1,2].

#### **Препоръчителен дневен прием на мед**

Съществува голямо разнообразие в препоръчителния дневен прием за медта, особено що се отнася до подразделянето в различни групи по пол и физиологични характеристики [7]. През 2004 г. The Agency for Toxic Substances and Diseases Registry (ATSDR) препоръчва прием от 0.01 mg/kg/d за минимално ниво на риск (minimal risk level – MRL) към натрупване или към недостиг на мед или при средно тегло около 70 kg това е около 0.7 mg [7]. Препоръчителният дневен прием (recommended dietary allowance) е около 0.9 mg/d. [3,5]. В различните европейски държави тези количества варират в границите на 0.7-5 mg/d мед, като за мъжете са по-високи, отколкото за жените [1, 3, 10, 11, 19]. Според Gibson [10] вегетарианците би трябвало да приемат по-високи дневни дози мед (2.1-3.9 mg/d), отколкото невегетарианците (1-1.5 mg/d). Препоръките на Световната здравна организация (World Health Organization) са 1.4 mg/d за около 70 kg тегло и около два пъти повече за подрастващи [10]. В САЩ препоръчителният дневен прием на мед е 19.10 mg/d за възрастни и 8 mg/d за бременни, кърмачки и юноши [2]. Широкият диапазон на вариация и недостатъчното характеризирание по групи за препоръчвания дневен прием на мед се дължи

донякъде и на факта, че няма достатъчно чувствителни показатели, които да оценяват достоверно медния статус в организма. Постъпването на мед в организма става чрез приема на водата, мед-съдържащите добавки, но основно е посредством храната [10]. Храни богати на мед са черен дроб, бъбреци, риба, стриди, бобови растения, ядки, какао. Обратно, млякото и млечните продукти, особено кравето мляко, са бедни на медно съдържание. С по-високо съдържание на мед са водите с леко кисело рН [7].

#### **Роля на медта в организма**

Есенциалната роля на медта е открита през 1928 г., когато Hart и сътр. [5] са установили ролята на елемента в образуването и функцията на еритроцитите [1]. Церулоплазминът, наричан още ферооксидаза I [2], заедно с ферооксидаза II участва в реакция на превръщане на феройоните ( $\text{Fe}^{2+}$ ) във ферийони ( $\text{Fe}^{3+}$ ), които се свързват с трансферина, за да бъдат транспортирани за нуждите на хемопоезата. Церулоплазминът е меден металоензим, а това определя и същественото значение на медта за ефективното използване на желязото и за хемоглобиновия синтез. Сега вече се знае, че износът на желязо от клетките се медира от транспортера феропортин, който е рецептор за действие на ключовия хормон на желязната хомеостаза хепсидин. Върху базолатералната мембрана на дуоденалните ентероцити освен феропортин е локализиран и още един протеин – хефастин – тъканен аналог на плазмения церулоплазмин. Хефастинът също притежава ферооксидазна активност. Той окислява желязото, което в кръвообращението се захваща от плазмения трансферин. Хефастинът също поддържа локализацията на експортера феропортин върху базолатералната мембрана на дуоденалните ентероцити и по този начин активно участва в контрола на системната хомеостаза на желязото [6].

Нормално при около 90-95% серумната мед е свързана с церулоплазмина – гликопротеин, отговорен за транспорта на елемента [1, 2, 3, 8, 20, 22]. Останалата част, означавана като „свободна мед“ (“free copper”), образува лабилни комплекси с албумин, аминокиселини, пурины, ДНК, РНК, протеини, нуклеотиди. Повишените нива „свободна мед“ са токсични [3], защото освободените от лабилния пул медни йони свободно преминават през клетъчните мембрани, кръвно-мозъчната бариера, гломерулната мембрана и плацентата [20, 22].

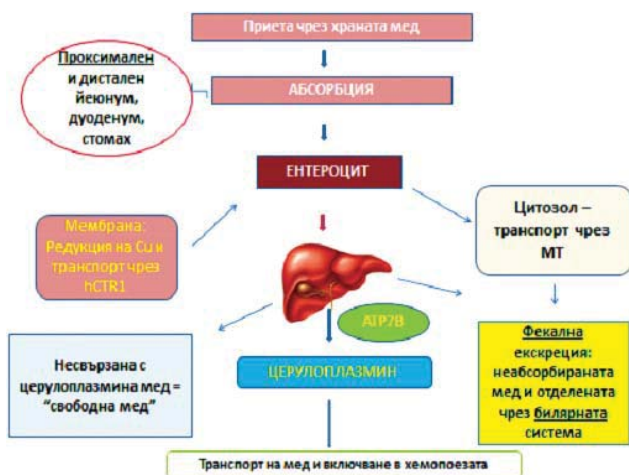
#### **Мед-съдържащи металоензими**

Медта с присъщата си способност да преминава между две форми – окислена ( $\text{Cu}^{2+}$  куприйони) и

редуцирана ( $\text{Cu}^{1+}$  купройони), е есенциален кофактор на редица важни ензими, известни като медни металоензими [18]. Такива (освен церулоплазмина), са още: супероксиддисмутаза (copper/zinc superoxide dismutase – Cu/Zn SOD), цитохромс-оксидаза (cytochrome-c-oxidase), лизилоксидаза (lysyl oxidase – LOX), уриказа (uricase), тирозиназа (tyrosinase), допамин-бета-хидроксилаза (dopamine- $\beta$ -hydroxylase – DBH), хефастин (Hephaestin), катехолоксидаза, бета-монооксидаза, D-галактозооксидаза, D-хексозо оксидоредуктаза, индол-2,3-диоксигеназа, L-аскорбатоксидаза, нитратредуктаза, пептидилглицин монооксидаза, флавонол-2,4-диоксигеназа, пептидилглицин монооксигеназа хидроксилаза (PHM) и др. [1, 2, 5].

### Физиология на медта в организма

Абсорбцията на мед се осъществява предимно в дуоденума и горната част на тънките черва, малка част – в стомаха [2, 7, 14], а според някои автори и в дисталната част на тънките черва [2, 7]. Около 50-80% от приетата чрез храната мед се абсорбира. Установено е влияние на редица фактори върху скоростта на абсорбция: пол, възраст, диета, химически състав на храната, наличие на заболявания, засягащи чревната лигавица, прием на някои медикаменти (оралните контрацептиви повишават съдържанието на мед в организма около 1.5 и 2 mg/L [3]). Многообразието на тези фактори е причина за широко вариране в степента на усвояване от 12 до 71% [7, 11]. Приемът на белтъци и някои пробиотици повишава абсорбцията на мед [7]. Медта, желязото и цинка взаимно се повлияват в процеса на усвояване в организма. Повишеният прием на желязо или цинк може да доведе до меден дефицит [2]. Обобщено физиологията на медта в организма е представен на фиг. 1.



Фиг. 1. Физиология на медта в организма: MT – металотенини; hCTR1 – human copper transporter [1]

Върху апикалната четковидна мембрана на дуоденалните ентероцити се извършва ензимна редукция на купри- до купройони, които се прехвърлят към вътрешността на ентероцита чрез меден транспортен протеин 1 (human copper transporter 1 – hCTR1) [7, 11, 14, 25]. Проучвания с култивирани клетки показват, че дуоденалната фериредуктаза тип цитохром Dc17b може да функционира не само като фери-, но и като куприредуктаза [24]. Тази втора редуктазна функция на Dc17b не е била известна доскоро. Куприредуктазната активност Dc17b би могла да стимулира навлизането на медта в клетките. Тези нови данни за Dc17b предлагат още едно молекулярно обяснение за взаимното повлияване на микроелементите при абсорбцията им в чревната лигавица.

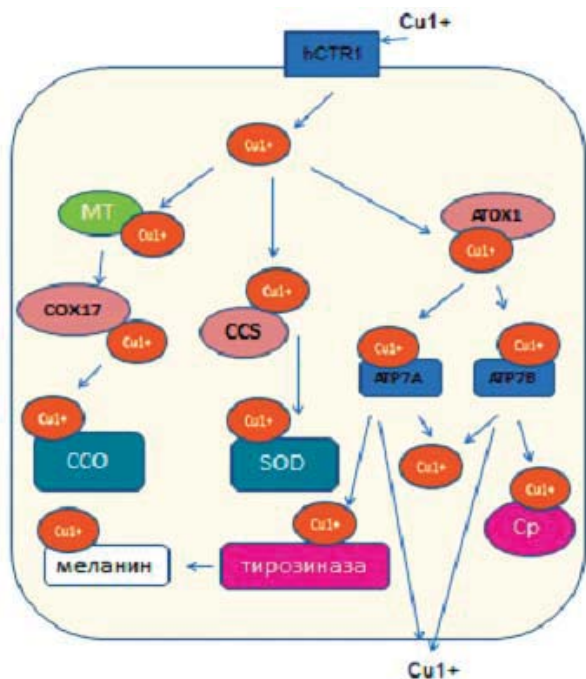
След като медните йони навлязат в цитоплазмата на ентероцита, те се транспортират от металотенини (MT) или от други пренасящи структури [7]. За местата на свързване в MT медта се конкурира с йоните на цинка и кадмия като MT имат по-висок афинитет за свързване към медните йони, отколкото към тези на цинка [2].

Абсорбираната мед се транспортира чрез порталната система до черния дроб, свързана с албумин, транскупреин, нискомолекулен мед-хистидин комплекс или в комбинация от всички изброени [2, 9]. Навлизането в хепатоцита става отново с участието на редуктази и на транспортера hCTR1. В цитоплазмата на хепатоцита се складира резервна мед чрез свързването с редуцирани глутатиони MT. Във вътреклетъчното транспортиране на медните йони роля имат т.нар. chaperones (придружители). Те свързват медните йони и ги доставят до таргетните протеини. В зависимост от вида на придружаващата молекула медните йони се пренасят до различни ензими и органели, за да изпълняват определена функция. Такива пренасящи структури са: CCS, Cox17 и ATOX1 (фиг. 2). CCS1 доставя медта до активния център на ензима Cu/Zn SOD [5, 7, 25]. Cox17 пренася медните йони до цитохром-с-оксидазата в митохондриалната мембрана [5, 25]. ATOX1 пренася елемента до ATP7A/ATP7B протеините [25]. ATP7B е трансмембранен протеин в апарата на Голджи (АГ) предимно в хепатоцитите, където става инкорпорирането на медните йони в церулоплазмина. ATP7B медира и екскрецията на мед чрез жлъчката [25].

Екскрецията на мед се осъществява основно чрез фецеса. Тази мед включва неабсорбираната от храната мед, медта, отделена през билиарната система и една част, която е секретирена в гастроинтестиналния път. Билиарната медна екскреция



(0.5 до 1.3 mg/ден) е основният път за ендегенно елиминиране на медта от организма [7]. Чрез урината и потта също се екскретират по-малко от 3% от приема. Минимални количества се отделят и чрез менструалното кръвотечение – 0.1-0.8 mg на цикъл [7].



**Фиг. 2. Клетъчен метаболизъм на медта:** медните йони  $Cu^{1+}$  навлизат в клетките посредством интегрален мембранен протеин – hCTR1 (human copper transporter 1). В клетката медните йони се свързват с MT – металотионени, и така се складираат или транспортират до специфични молекули преносители (chaperones) като COX17, CCS, ATOX1. Нормално в клетката няма свободни медни йони. Транспортите ATR7A и B имат ключови функции в клетъчната секреция на мед. ATR7B е трансмембранен протеин в апарата на Голджи, предимно в хепатоцитите, където става инкорпорирането на медните йони в структурата на церулоплазмина. – Cp. ATR7B има важно значение за билиарната екскреция на медта, който е основен ендегенен път за елиминиране на медта от организма

Физиологичните механизми на регулация за поддържане на хомеостазата на медта включват контрол на приема на мед, на транспорта на медните йони, на степента на дуоденална абсорбция и/или билиарна екскреция [7]. В случаи на намален внос на мед се намалява ендегенната екскреция чрез жлъчката и обратно – при повишен внос на мед, се потиска абсорбцията на медта и се увеличава екскрецията ѝ чрез жлъчката [7]. Хепатоцитите имат ключова роля в обмяната на медта, а на субклетъчно ниво съвременни проучвания показват нови данни за ролята на митохондриалната хомеостаза на микроелементите и особено тази на желязото и на медта като ключови при някои болестни състояния [25].

## НАРУШЕНИЯ В ОБМЯНАТА НА МЕДТА

### Състояния на свръхнатрупване на мед в организма

При състояния на свръхнатрупване на мед в организма клиничните прояви се изразяват в гастроинтестинално дразнене и ерозии, анемия, хипотония, жълтеница, гърчове, кома и дори смърт [3]. До няколко дни се проявяват нарушенията в чернодробната и бъбречната функция. Хроничната интоксикация с мед засяга най-вече черния дроб [3]. Интоксикацията с мед може да бъде фатална, ако не се реагира адекватно и навреме [7]. Състояния на свръхнатрупване на мед в организма се наблюдават при случайно поглъщане, при професионална експозиция или при експозиция от околната среда, бременност, холестаза, стимулиран синтез на церулоплазмин при възпаление, туморни заболявания, чернодробна цироза, миелоидни левкемии, хипертиреозидизъм и др. [3]. Повишени нива има и при употребата на орални контрацептиви и естрогени [2, 3]. Ретенция на мед в черния дроб може да са получи вторично при случаи с холестатични състояния като първична билиарна цироза. Свръхнатрупването на мед може да бъде генетично детерминирано при някои заболявания: Wilson's disease (WD), Idiopathic chronic toxicosis (ICT), Indian childhood cirrhosis (ICC). Съществуват доказателства, че диабет тип 2 се свързва със значимо повишение на медта в организма [2]. Терапия с медни хелатори подобрява глицемията толеранс.

**Мед и болест на Алцхаймер.** Слабо, но чувствително повишение на свободната мед, като следствие от нарушено свързване на медните йони с церулоплазмина, има при пациенти с болест на Алцхаймер (БА) [22]. На този етап не би могло да се твърди, че медта е причина за БА, но елементът се определя като рисков фактор за развитие на болестта [20, 22]. Много невродегенеративни заболявания се свързват както с митохондриална дисфункция, така и с отлагане на метали в близост до мозъчните лезии [25]. Характерни патоморфологични белези при БА са неврофибриларните сплитания и амилоидните плаки – екстрацелуларни отлагания от бета-амилоид –  $\beta$ -Amyloid ( $\beta$ A). Бета-амилоидът се получава от амилоид прекурсорния протеин (amyloid precursor protein – APP) под действие на ензимите  $\beta$ - и  $\gamma$ -секретазите – нормален физиологичен процес в нервната тъкан [4, 15]. За  $\beta$ A е присъща склоността за свързване с метални йони [15]. Според G. Multhaup [15], специфично само куприйоните ( $Cu^{2+}$ ) заедно с APP взаимодействат в реакция на редукция, при което се модифицира молекулата на APP (изгражда се нов дисулфиден мост) и се об-

разуват купройони –  $\text{Cu}^{1+}$  в  $\text{APP}/\text{Cu}^{1+}$  комплекс [13]. Веднъж редуцирани, медните йони могат да доведат до образуване на високотоксични супероксидни радикали. Нарушеният баланс между образуването и разграждането на тези радикали води до подчертан оксидативен стрес [15], който е причина за нарушен метаболизъм на  $\beta\text{A}$  [12]. Бета-амилоидът има редица физиологични функции, включително и антиоксидантен ефект. Съществува предположение, че отлагането на  $\beta\text{A}$  е компенсаторен механизъм срещу оксидативен стрес в нервната тъкан [12], но с развитието на болестния процес антиоксидантната роля се измества от подчертан прооксидантен ефект [12,13]. Нарушената хомеостаза, с последващо натрупване в нервната тъкан, на някои микроелементи, в това число желязо, цинк и мед, води до оксидативен стрес, което от своя страна се свързва с повишен риск от развитие на когнитивен дефицит и невродегенеративните промени при БА [7, 12, 15, 21]. Продукти в резултат на оксидативен стрес се натрупват и с напредване на възрастта и затова тя се разглежда като рисков фактор за дементни състояния, а според някои автори дори и като основен рисков фактор за БА [12]. Според съвременни проучвания все още не е напълно изяснено дали агрегатните комплекси от протеин и метал са причината за митохондриална дисфункция и невродегенерация или те са следствие от тях [25]. С. Salustri и сътр. [20] доказват обратнопропорционална зависимост между концентрацията на „свободната мед“ и резултатите за когнитивните възможности, измерени чрез mini-mental state examination (MMSE) –  $r = -0,407$ ;  $p < 0,0001$ . Представя се хипотезата, че „свободната мед“ може да е рисков фактор при развитие на когнитивен дефицит.

**Токсични ефекти на медта.** Оксидативният потенциал на медта в организма води до повишаване на свободните кислородни радикали и до разрушаване на клетките, т.е. медта има цитотоксичен ефект. Този ефект може да се прояви както при свръхнатрупване на мед, така и при недостиг [18]. Натоварените с мед хепатоцити търпят дегенеративни промени. Те са уголемени с вакуолизирана цитоплазма и хиалинни включвания [23]. Прицелното място за медната интоксикация са ядрото и митохондриите. Установено е повишено фрагментиране на ДНК [23]. Излагането на ДНК на въздействието на водороден прекис и редуциращи агенти в присъствието на  $\text{Cu}^{2+}$ , води до нарушения в структурата на ДНК. Алфа-токоферолът в тези случаи проявява подчертан антиоксидантен ефект [23].

**Състояния на дефицит на мед в организма.** Дефицит на мед се наблюдава при нарушена чревна абсорбция, продължително парентерално хра-

нене, недохранване, прием на високи дози цинк и желязо [5], нефротичен синдром със загуба на белтък, ексудативна ентеропатия, болест на Паркинсон, генетично детерминиран Menkes syndrome (MS) [2, 7]. Стимулираният прием на цинк, особено при неконтролирано суплементиране с хранителни добавки, може да доведе до меден дефицит [7]. Най-честите прояви на дефицита при хора са анемия, неутропения, костни малформации, развитие на остеопороза [2, 5]. По-рядко може да се наблюдават хипопигментация, нарушен растеж, повишена податливост към инфекции, нарушена фагоцитна способност и нарушен глюкозен метаболизъм [5].

Медният дефицит индиректно се проявява чрез нарушения във функциите на мед-зависимите ензими. Нарушена пигментация на кожата се наблюдава при потисната активност на ензима тирозиназа. Той е необходим при синтеза на меланин в меланоцитите. Цититохромоксидазата има значение за образуване на АТФ в клетката [2]. При потискане на цитохромоксидазната активност се развиват миопатия и атаксия [8]. Лизилоксидазата има значение за нормалната структура и еластичност на съединителната тъкан, която е важна за изграждане на съдовите стени и сърцето, както и при изграждането на костната структура. При случаи на тежък дефицит на мед се развива остеопороза [2]. Ензимът допамин-бета-хидроксилаза участва в синтезата на норепинефрин от допамин. Допаминът, норепинефринът (норадреналин) и епинефринът (адреналин) формират класа на катехоламините. При дефицит или дефект на ензима могат да се развият хипотермия, хипотензия, дехидратация, сомнолентност и други свързани с нарушена хипоталамична функция прояви. Меденият дефицит води до нарушение в обмяната на желязото и до развитие на анемия – фeroахрестична анемия (желязонатоварени митохондрии в еритроидните прекурсори в костния мозък и намалена синтеза на циркулиращи еритроцити) [25]. Супероксиддисмутазата има силно антиоксидантно действие [2, 18]. Чрез ензимите  $\text{Cu}/\text{Zn}$  SOD и каталаза [2], които стимулират или потискат транскрипцията на различни гени, медта има важна роля в регулация на генната експресия.

**Мед и имунитет.** Микроелементите, в това число и медта, играят важна роля както за вродения, така и за придобития имунитет [16]. Медният дефицит понижава ефективността на имунните реакции. Известно е, че болните от MS страдат по-често и по-тежко от инфекции [2]. Предполага се, че за това са отговорни цитокините. При меден дефицит нивата на интерлевкин 2 (IL-2) са значително понижени и вероятно това е причината, поради която

T-клетъчната пролиферация е потисната [16] предимно за сметка на CD4+ популацията [5]. Неутропенията е клиничен признак на меден дефицит [2, 5, 16] и за първи път е описана още през 1960 г. Неутрофили, моноцити, базофили и еозинофили са фагоцитиращите клетки. Освен че броят на неутрофилите е редуциран, при състояния с дефицит на мед се отбелязва и намаляване на тяхната фагоцитна способност [5,16].

### **ПОКАЗАТЕЛИ ЗА ОХАРАКТЕРИЗИРАНЕ НА МЕДНИЯ СТАТУС В ОРГАНИЗМА**

Диагностицирането на някои патологични състояния изисква да се познават добре основните аспекти на обмяната на медта, нейната физиологична роля в организма и механизмите, контролиращи хомеостазата ѝ. Например съдържанието на мед в черния дроб при новородени е толкова високо, колкото е и при болни от WD, но без това да води до патологични прояви. Засега все още не е ясно защо това е така, тъй като не са познати напълно механизмите, контролиращи хомеостазата на медта при новородени [7]. Определянето на показатели, които адекватно отразяват физиологичните механизми на регулация на обмяната и статуса на медта в организма, е важно за медицинската практика.

#### ***Най-често използвани маркери за охарактеризиране на медния статус***

Най-често използваните лабораторни изследвания за охарактеризиране на медния статус в организма са серумна/плазмена концентрация на мед и на церулоплазмин [2]. Детайлна интерпретация от изследването на тези показатели изисква и познаването на някои биологични вариации: например повишението при особени физиологични състояния като бременност или с напредване на възрастта, както и повишението при неспецифични възпалителни състояния. Понякога при липса на подобна комплексна оценка състоянията на меден дефицит могат да останат неразпознати.

#### ***Потенциални нови биомаркери за охарактеризиране на медния статус***

Необходимо е маркерите за медния статус да са чувствителни при гранични нива на меден дефицит, при суплементиране с мед, както и да са независимо от концентрацията на серумната/плазмената мед и на церулоплазмина [5]. Потенциални биомаркери са мед-зависимите ензими, молекули, пренасящи медните йони, маркери на костната плътност, маркери за имунната система, за глюкозния толеранс, за холестероловия метаболизъм и някои генетични изследвания [5]. Съвременни про-

учвания върху плъхове и мишки са установили, че CCS1 в тъканите и еритроцитите значимо и специфично се повишават при меден дефицит [7]. Противоречиви резултатите са получени при изследване на маркери за костното изграждане и резорбция след суплементиране с мед [5]. Множество маркери, отразяващи статуса на имунната система, могат да послужат като маркери и на медния статус в организма. Това са IL-2, броя на неутрофилите и тяхната фагоцитна функция, фенотипизиране на лимфоцитните субпопулации, адхезионни молекули [5]. IL-2 е протеин, който отговаря за комуникацията между клетките на имунната система. При меден дефицит концентрацията му спада, като този ефект е обратим при нормализиране на медния статус. IL-2 е чувствителен показател не само при тежък меден дефицит, но и при граничен дефицит. Надеждно може да бъде определен в мононуклеарни клетки от периферна кръв [5]. Потискането на секрецията на IL-2 е вероятно поради потискане на IL-2 mRNA експресията, което позволява използването на чувствителен метод като PCR (real time polymerase chain reaction) за определяне на генната експресия да се използва за оценка на синтеза на IL-2. Потискането на фагоцитната функция на неутрофилите също е обратим процес. Някои автори предполагат съществуването на антинеутрофилни антитела при тежък меден дефицит, чиито титър може да бъде измерен [5]. По-чувствителен маркер за меден дефицит са CD4+ клетките (T-helper cells), в сравнение с цитотоксичните CD8+ лимфоцити (T-killer cells). Концентрацията и съотношението им биха могли да бъдат установени чрез фенотипизиране на лимфоцитите. Изследването на лимфоцитната функция чрез множество повърхностни молекули за B- и T-клетките, фактори за активиране като CD25 и HLA-DR, както адхезивни молекули intracellular adhesion molecule 1 (ICAM1 или CD54) и leucocyte function-associated antigen 1 (LFA-1 или CD11a) са други възможни показатели при определяне на медния статус. Последните две могат лесно да бъдат измерени в периферна кръв и биха дали информация за интегритета на T – клетъчната функция [5]. Друг потенциален кандидат за биомаркер на медния статус от групата на имунологичните маркери, е левкоцитната функция чрез измерване на бластогенния отговор на клетъчни култури при излагане на специфични митогени, например PHA – phytohaemagglutinin, и Con A – concanvalin A [5]. Бластогенната активност е чувствителен маркер при прагов дефицит на мед и е обратима [28]. Други имунни биомаркери с по-малко експериментални данни са: други интерлевкини – IL-1, IL-4, IL-6; гена експресия на медни ме-



талоензими и на немедни-металоензими – Cu/Zn SOD, Mn-SOD, каталаза и глутатион пероксидаза. Развитието на генното направление в охарактеризирането на медния статус на организма предстои в бъдеще и вероятно ще разкрие нови детайли за специфични гени [5].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Задълбоченото и детайлно познаване на физиологията на медта би дало възможност за по-добро разбиране на клиничните нарушения в обмяната на този есенциален микроелемент. Възможната роля на медта в патогенезата и третирането на редица заболявания като болест на Алцхаймер, болест на Паркинсон, захарен диабет и други социално-значими болести налага необходимост от разширяване на диагностичните възможности за охарактеризирането на медния статус в организма като към изследването на серумна/плазмена или уринна концентрация на мед се добавят и нови маркери. Посоките в това отношение включват определяне активността на мед-съдържащите ензими; съдържание на молекули, ангажирани в преноса на медните йони в организма (т.нар. chaperones); изследване на интерлевкини, брой и функция на неутрофилите, лимфоцитно фенотипизиране и други показатели на имунната система; генетични изследвания на молекули, участващи активно в регулацията на обмяната на медта. Комплексният подход би позволил да се повиши качеството на грижите за пациенти, страдащи от болести, свързани с нарушения в хомеостазата на този микроелемент.

## Библиография

1. Цачев, К., Микроелементи и тяхното значение за клиничната практика. – В: Клиничната лаборатория и клиничната медицина. Под ред.: Кръстев, З., Т. Шипков. С., Иван Сапунджиев ЕООД, 2005, 277-283.
2. Angelova, M. et al. Copper in the human organism. – *Trakia Journal of Sciences*, **9**, 2011, №1, 88-98.
3. Babić, Ž. et al. relevance of serum copper elevation induced by oral contraceptives: a meta-analysis. – *Contraception*, **87**, 2013, 790-800.
4. Blennow, K., B. Winblad et N. Andreasen. Cerebrospinal fluid biomarkers as diagnostic tools in Alzheimer's disease. Alpha-Plus medical Communications LTD, 2010, 5-23.
5. Bonham, M. et al. The immune system as a physiological indicator of marginal copper status. – *British Journal of Nutrition*, **87**, 2002, 393-403.
6. De Domenico, I. et al. Ferroxidase activity is required for the stability of cell surface ferroportin in cells expressing GPI ceruloplasmin. – *EMBOJ*, **26**, 2009, 2823-2831.
7. De Román, D. L. et al. Risks and benefits of copper in light of new insights of copper homeostasis. – *Journal of Trace Elem. Med. Biol.*, **25**, 2011, 3-13.
8. European Association for the Study of the Liver.-In: *Journal of Hepatology*, **56**, 2012, 671-676.
9. Ghayur-Mobarhan, M. et al. The relationship between established coronary risk factors and serum copper and zinc concentrations in a large Persian Cohort. – *Journal of Trace Elem. Med. Biol.*, **23**, 2009, 167-175.
10. Gibson, R. S. Content and bioavailability of trace elements in vegetarian diets. – *Am. J. Clin. Nutr.*, **59**, (suppl), 1994, 1223S-1232S.
11. Kodama, H., C. Fujisawa et W. Bhadrprasit. Inherited Copper Transport Disorders: Biochemical Mechanisms, Diagnosis, and Treatment. – *Current Drug Metabolism*, **13**, 2012, № 3, 237-250.
12. Mangialasche, F. et al. Biomarkers of oxidative and nitrosative damage in Alzheimer's disease and mild cognitive impairment. – *Ageing Research Reviews*, **8**, 2009, 285-305.
13. Markesbery, W. R. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. – *Free Radical Biology&Medicine*, **23**, 1997, № 1, 134-147.
14. Milne, D. B. Trace elements. – *Tietz Fundamentals in clinical chemistry*. Second edition. Burtis C. A., W. B. Saunders, 1994, 568-574.
15. Multhaup, G. Amyloid precursor protein, copper and Alzheimer's disease. – *Biomed & Pharmacoter*, **51**, 1997, 105-111.
16. Persival, S. S. Copper and immunity. – *Am. J. Clin. Nutr.*, **67**, 1998, (suppl), 1064S-1068S.
17. Romero, C. D. et al. Serum copper and zinc concentrations in a representative sample of the Canarian population. – *Trace Elem. Med. Biol.*, **16**, 2002, № 2, 75-81.
18. Rossi, L. et al. Mitochondrial Dysfunction in Neurodegenerative Diseases Associated with Copper Imbalance. - *Neurochemical Research*, **29**, 2004, № 3, 439-504.
19. Sadhra, S. S., A. D. Wheatley et H. J. Cross. Dietary exposure to copper in the European Union and its assessment for EU regulatory risk assessment. – *Science of the Total Environment*, **374**, 2007, 223-234.
20. Salustri, C. et al. Is cognitive function linked to serum free copper levels? A cohort study in a normal population. – *Clinical Neurophysiology*, **121**, 2010, 502-507.
21. Schrag, M. et al. Iron, zinc and copper in the Alzheimer's disease brain: A quantitative meta-analysis. Some insight on the influence of citation bias on scientific opinion. – *Progress in Neurobiology*, **94**, 2011, 296-306.
22. Squitti, R. Copper dysfunction in Alzheimer's disease: From meta-analysis of biochemical studies to new insight into genetics. – *Journal of Trace Elem. Med. Biol.*, **26**, 2012, 93-96.
23. Tanner, M. S. Role of copper in Indian childhood cirrhosis. – *Am. J. Clin. Nutr.*, **67** (suppl), 1998, 1074S-1081S.
24. Wyman, St., R. Simpson, A. McKie et P. Sharp. Dcytb (Cybtd1) functions as both a ferric and a cupric reductase in vitro. – *FEBS Letters* **582**, 2008, 1901-1906.
25. Xu, W., T. Barrientos et N. Andrews. Iron and Copper in Mitochondrial Diseases. – *Cell Metabolism*, **17**, 2013, 319-328.