

ВЗАИМОСВЯЗЬ МЕЖДУ МЕТАБОЛИЧЕСКИМИ СДВИГАМИ И СОДЕРЖАНИЕМ РЯДА ЭЛЕМЕНТОВ В БИОСУБСТРАТАХ ЧЕЛОВЕКА

ДУБОВОЙ Р.М., Ставропольская государственная медицинская академия, г. Ставрополь;

АЛЧИНОВА И.Б., ГУ НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, г. Москва;

*БОБРОВНИЦКИЙ И.П., ФГУ «Российский научный Центр восстановительной медицины
и курортологии Росздрава», г. Москва;*

ЛАКАРОВА Е.В., ГОУ ВПО «Оренбургский государственный университет», г. Оренбург;

СКАЛЬНЫЙ А.В., ФГУН Институт токсикологии ФМБА России, г. Санкт-Петербург

Anatoly Skalny <skalny3@microelements.ru>

АННОТАЦИЯ

В настоящей работе представлены данные, полученные при совместном использовании лазерной корреляционной спектроскопии (ЛКС) и стандартного протокола определения содержания микроэлементов в биосубстратах человека. Были обследованы 18 человек, которые, предположительно, подверглись действию токсикантов (ртути и мышьяка). Корреляция малых доз потенциально вредных факторов со вкладами в светорассеяние частиц определенного размера биологических жидкостей позволяет предположить, что изменения в микроэлементном составе связаны с метаболическими сдвигами.

Ключевые слова: макроэлементы, микроэлементы, лазерная корреляционная спектроскопия, токсиканты.

ВВЕДЕНИЕ

Индивидуальные особенности саногенетических систем организма обуславливают различные последствия для здоровья при одинаковом воздействии малых доз потенциально вредных факторов. Для скрининговой оценки функционального состояния отдельных систем организма было предложено проведение исследования одной и той же пробы любой биожидкости конкретного человека различными методами: лазерной корреляционной спектроскопией, атомно-эмиссионной спектрометрией с индуктивно связанной плазмой (ИСП-АЭС) и масс-спектрометрией с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-МС). Такой подход предполагает не механическое накопление показателей, а корреляцию их взаимных влияний, сочетаний, связи с клиническими симптомами и проведение экспрессных скрининговых диагностических исследований, что позволяет выделить группу риска для уточнения диагноза подтверждающими методами.

Целью настоящего исследования было выявление корреляций между изменениями в содержании некоторых токсичных микроэлементов в организме и метаболическими сдвигами, определяемыми в биологических жидкостях методом ЛКС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на биоматериалах, полученных от 18 человек, подвергавшихся действию токсикантов (ртути и мышьяка). Образцы биоматериалов для анализа МЭ отбирали дважды, с интервалом в три дня, для ЛКС - исследования – однократно во время второго обследования.

Метод ЛКС успешно зарекомендовал себя в клинике как один из способов исследования нативных биологических жидкостей для оценки тяжести заболевания и эффективности лечения при бронхиальной астме [1], миастении [2], гематологических [3] и ряде других заболеваний [4]. Метод основан на изменении спектральных характеристик монохроматического когерентного излучения гелий-неонового лазера в результате светорассеяния при прохождении через дисперсную систему (плазма, сыворотка крови, моча, ротоглоточные смывы) [4].

Для ЛКС-исследования использовали ротоглоточные смывы, сыворотку крови и мочу. Образцы приготавливали согласно описанной ранее методике [4].

Лазерный корреляционный спектрометр ЛКС-03 («ИНТОКС», Санкт-Петербург) позволяет определять светорассеивающие частицы с размерами от 1 до 10000 нм. В этот диапазон попадают практически все биомолекулы и их ассоциаты. В результате математической обработки полученных результатов распределение частиц, представленное в виде гистограммы, позволяет охарактеризовать дисперсный состав пробы конкретной биологической жидкости. Полученные данные можно классифицировать в соответствии с выделенными информативными зонами спектра [5]. Для плазмы или сыворотки крови весь диапазон спектра делится на 5 дискретных зон (по размерам светорассеивающих частиц): I - 0-10 нм; II - 11-30 нм; III - 31-70 нм; IV - 71-150 нм; V - 150 и выше. Для анализа образцов мочи и РГС используется та же методика, при этом выделяются иные информативные зоны. Весь диапазон спектра для РГС делится на 4 информативные дискретные зоны (по размерам светорассеивающих частиц): I - 0-50 нм; II - 51-400 нм; III - 400-2000 нм; IV - выше 2000 нм. Для мочи: I - менее 75 нм; II - 76-220 нм; III - 221-1500 нм; IV - выше 1500 нм. В эти зоны попадают молекулярные компоненты клеточ от полипептидных фрагментов до высокомолекулярных белковых комплексов. Предполагается, что нарастание площадей низко- и среднемолекулярных зон ЛК-спектров свидетельствует о преобладании процессов биосубстратной дегградации, а высоко- и сверхвысокомолекулярных зон – о преобладании процессов биосубстратной полимеризации. В зависимости от увеличения (или снижения) процентного вклада в светорассеяние частиц той или иной фракции была предложена семиотическая классификация ЛКС образцов, включающая идентификацию 8 различных на-

правлений сдвигов в обмене веществ и гуморальном иммунитете: интоксикационно-, катаболически-, дистрофически-, аллерго- и аутоиммунно подобные, нормологические спектры и 2 типа смешанных спектров. При этом каждому симптомокомплексу соответствует несколько градаций, отражающих степень выраженности перечисленных спектральных сдвигов: начальная, умеренная и выраженная.

Для облегчения анализа все многообразие спектров можно разделить на три группы: «норма», спектры с преобладанием катаболических процессов (характеризуются увеличением вклада в светорассеяние низко- и среднемoleкулярных субфракций) и спектры с преобладанием анаболических процессов (характеризуются увеличением вклада в светорассеяние высоко- и сверхвысокомoleкулярных субфракций) [4].

Параллельно с ЛКС-исследованием проводился отбор биоматериалов для токсикологической экспертизы.

Определение элементов в биосубстратах проводили с применением комбинации методов ИСП-АЭС и ИСП-МС в соответствии с методическими указаниями МУК 4.1.1482-03, МУК 4.1.1483-03 «Определение химических элементов в биологических средах и препаратах методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой и масс-спектрометрией» (утв. ФЦГСН МЗ РФ, 2003 г). Метод ИСП-АЭС имеет меньшую чувствительность, чем ИСП-МС, но достаточную для определения содержания макроэлементов (Na, Mg, P, K, Ca), а также таких МЭ, как Fe, Zn Al. Метод ИСП-МС обладает высокой чувствительностью и позволяет быстро и

надежно определить уровень микро- и ультрамикрорезультатов в образцах. За счет применения двух взаимодополняющих методов определения МЭ в одной пробе повышается надежность результатов, увеличивается набор количественно определяемых элементов и сокращается общее время, затрачиваемое на анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При анализе ЛКС-спектров различных биологических жидкостей было обнаружено, что в исследованных образцах сыворотки крови наблюдается преобладание спектров, в которых основной вклад в светорассеяние вносят мелкие частицы. Основную часть составляют интоксикационно- и катаболическиподобные метаболические сдвиги, и небольшая часть принадлежит дистрофическим сдвигам, что является следствием преобладания в организме процессов гидролиза и катаболизма.

ЛК-гистограммы мочи и РГС отражают процессы деструкции эпителиальной ткани. В образцах проб РГС (характеристика метаболических процессов в начальных отделах пищеварительной системы и верхних дыхательных путей) наблюдались в основном нормологические и анаболические сдвиги, а в пробах мочи – нормологические, катаболически и анаболически направленные (рис.1).

При анализе была выявлена обратная корреляция между направлением сдвигов в РГС и концентрацией мышьяка в моче, отобранной для обследования при первом заборе: чем меньше концентрация мышьяка в пробах мочи, тем больше вклад в светорассеяние частиц крупного размера в пробах РГС

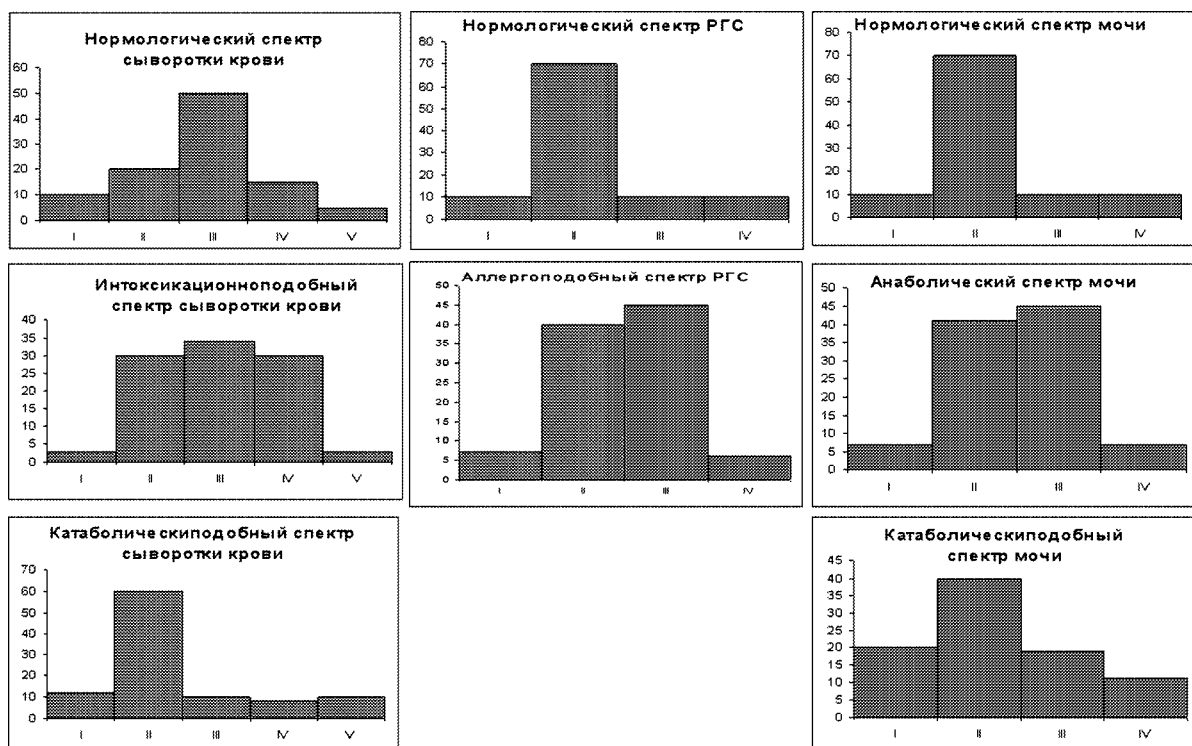


Рис. 1. ЛК-гистограммы наиболее часто встречающихся направлений метаболических сдвигов различных биологических жидкостей (сыворотка крови, РГС, моча)

($r=-0,75$, $p<0,05$). Кроме того, можно отметить две тенденции, связанные с концентрацией ртути: в моче ($r=0,06$, $p<0,05$) и в волосах ($r=0,074$, $p<0,05$) при втором заборе, которые также указывают на то, что в пробах с низкими концентрациями МЭ вклад в светорассеяние крупных частиц выше.

Анализ преобладающих направлений метаболических сдвигов в пробах сыворотки крови показал наличие корреляционной связи с концентрацией МЭ в моче. Значимые корреляции получены для проб, отобранных при втором заборе: ртуть ($r=0,50$, $p<0,05$) и мышьяк ($r=0,82$, $p<0,05$), и на уровне тенденции - для взятых ранее: ртуть ($r=0,44$, $p<0,066$) и мышьяк ($r=0,56$, $p<0,09$). Чем выше концентрации металлов в моче, тем выше вклад в светорассеяние мелких частиц в сыворотке крови. Между содержанием ртути и мышьяка в моче также отмечается корреляционная связь ($r=0,69$, $p<0,03$). Поскольку мышьяк и ртуть оказывают воздействие на разные системы организма, то наблюдался суммарный эффект воздействия.

Преобладающие направления метаболических сдвигов в моче коррелируют с концентрацией ртути в волосах: все большее нарастание в спектрах мелких частиц коррелирует с большими концентрациями ртути, в пробах первого забора эта корреляция достоверна ($r=0,48$, $p<0,05$), в более поздних пробах - на уровне тенденции ($r=0,52$, $p<0,068$).

Была установлена взаимосвязь между содержанием МЭ и вкладом в светорассеяние частиц определенной зоны: корреляция содержания мышьяка в моче с ростом частиц первой (0-10 нм) зоны ($r=0,53$, $p<0,05$) и тенденция к уменьшению вклада в светорассеяние частиц третьей (31-70 нм) зоны ($r=-0,43$, $p<0,07$) в ЛК-гистограммах сыворотки крови.

Таблица 1.

Корреляция между содержанием мышьяка в моче и вкладом в светорассеяние частиц определенного размера в сыворотке крови

Зоны ЛК-спектров сыворотки крови	Размер частиц в нм	Коэффициент корреляции по Спирмену	(p-level)
I - 0-10 нм		0,534	0,022
II 11-30 нм		0,036	0,886
III 31-70 нм		-0,430	0,074
IV 71-150 нм		-0,097	0,699
V выше 150		-0,017	0,946

Увеличение концентрации мышьяка в моче коррелирует с увеличением второй (51-400нм) ($r=0,76$, $p<0,05$) и уменьшением вклада в светорассеяние третьей (401-2000 нм) ($r=-0,79$, $p<0,05$) зон в пробах РГС, а увеличение концентраций этого МЭ в волосах - с увеличением вклада частиц первой (0-50нм) зоны ($r=0,58$, $p<0,05$).

Высокие концентрации мышьяка ($r=0,48$, $p<0,05$) коррелируют с увеличением вклада в светорассеяние частиц третьей (401-2000 нм) зоны в ЛК пробах мочи. Высокие концентрации ртути в волосах коррелируют с уменьшением вклада частиц четвертой (свыше 2000 нм) зоны ЛКС мочи.

Таким образом, в пробах биологических жидкостей от лиц с превышением содержания МЭ, исследованных методом ЛКС, наблюдается значительное увеличение вклада в светорассеяние преимущественно мелких частиц.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Как известно, ртуть и мышьяк в низких концентрациях усиливают процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ), вначале повышая, а затем снижая активность антиокислительных ферментов. В этом случае, можно ожидать накопления продуктов ПОЛ (малонового диальдегида, β -микроглобулина [6]. Действительно, выявлены положительные корреляции содержания токсичных элементов и относительного количества мелких частиц в исследованных биологических жидкостях. Кроме того, обнаружена тенденция к снижению вклада в светорассеяние фракции, в которой содержатся иммуноглобулины, в сыворотке крови по мере возрастания концентрации мышьяка в моче. Ранее было показано, что интенсивность светорассеяния этой фракции коррелирует с содержанием иммуноглобулинов, определенных лабораторными методами [3].

Наибольшее число корреляций выявлено с метаболическими сдвигами в моче и РГС. Видимо, это связано с начальными стадиями нарушений функциональной активности почек и предположительно с пероральным путем поступления токсикантов в организм [6].

Наблюдаемые изменения в направленности метаболических сдвигов носят стохастический характер, отражая адаптивные либо дезадаптивные реакции организма на малые дозы токсических веществ. Выяснение истинного смысла обнаруженных закономерностей требует расширения выборки и интервала действующих концентраций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Пирузян Л.А., Ковалев И.Е., Ковалева В.Л. и др. Лазерная корреляционная спектроскопия макромолекулярных комплексов в сыворотке крови как эффективный метод оценки течения заболевания бронхиальной астмой у детей // Докл. Академии наук. - 2004. - Т. 395, № 6. - С. 832-836.
2. Карганов М.Ю., Ковалева О.И., Санадзе А.Г. и др. Сравнительный анализ информативности радиоиммунологического исследования и лазерной корреляционной спектроскопии при миастении и миастенических синдромах // Неврологический журнал. - 2003. - Т. 8, № 1. - С. 26-29
3. Ковалева О.И., Ковалева Л.Г., Горбунова Н.А. и др. Новые возможности ранней диагностики заболеваний системы крови // Гематология и трансфузиология. - 2004. - Т. 49, № 4. - С. 7-13
4. Бажора Ю.И., Носкин Л.А. Лазерная корреляционная спектроскопия в медицине / Одесса. Друк. - 2002. - 400 с.
5. Лебедев А.Д., Левчук Ю.Н., Ломакин А.В. и др. Лазерная корреляционная спектроскопия в биологии / Киев: Наукова думка. - 1987. - 266 с.
6. Капцов В.А., Павловская Н.А., Величковский Б.Т. Лабораторная диагностика. Руководство по методам исследования профессиональных, экологически зависимых заболеваний и действия наркотических веществ. / М. Реинфор. - 2005. - 265 с.

РЕЗЮМЕ

Методом лазерной корреляционной спектроскопии биологических жидкостей (сыворотка крови, моча, рото-глоточные смывы) исследовали типы метаболических сдвигов у лиц с различным содержанием некоторых элементов (Hg, As, Mn и др.). Обнаружено, что встречаемость некоторых типов сдвигов достоверно коррелирует с содержанием изученных элементов.

ABSTRACT

Using the method of laser correlation spectroscopy of biological fluids (blood serum, urine, oropharyngeal washout fluid) we studied the types of metabolic shifts in persons with different tissue content of some elements (Hg, As, Mn et al.). It was found that the incidence of metabolic shifts considerably correlate with studied elements concentration.