

## ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

### ДИАПАЗОН СОДЕРЖАНИЯ ТЯЖЕЛЫХ МЕТАЛЛОВ (ТМ) В ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ ВЗРОСЛЫХ РОССИЯН ЦЕНТРА СТРАНЫ

### RANGE OF CONTENTS OF HEAVY METALS IN THE WHOLE BLOOD OF ADULT RUSSIANS FROM CENTRAL REGION OF RUSSIA

Г.К. Барашков, И.М. Балкаров, Л.И. Зайцева, М.А. Кондахчан,  
Е.А. Константинова, В.В. Деньгин  
G.K. Barashkov, I.M. Balkarov, L.I. Zaitzeva, M.A. Kondahchan,  
E.A. Konstantinova, V.V. Dengin

Клиника нефрологии, внутренних и профессиональных болезней им. Е.М. Тареева Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова, Лаборатория тяжелых металлов, ул. Россолимо, 11А, Москва 119021 Россия.  
Clinic of Nephrology, Internal and Occupational Disease at I.M. Sechenov Moscow Medical Academy, Laboratory of Heavy Metals, 11A Rossolimo Str., Moscow 119021 Russia.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: корреляции содержания элементов, тяжелые металлы, цельная кровь, ПДК, ступени анализа.

KEY WORDS: correlation in contents of elements, heavy metals, whole blood, MAC, stages of analysis.

**РЕЗЮМЕ:** Приведены диапазоны содержания 26 элементов в цельной крови взрослых россиян (35–50 лет) центра страны в доверительном интервале  $\pm 95\%$ . Они ниже норм ПДК, кроме Al, Cd, Se, V, Zn. Многоэлементный анализ должен проводиться в три стадии. Первая ступень анализа — сравнение содержания тяжелых металлов (ТМ) в цельной крови с верхним пределом диапазона — оправдано в случае интоксикации, а также в случае известных изменений содержания ТМ при некоторых патологиях. Выявлены высокие линейные коэффициенты корреляции абсолютных значений у пары *Fe-K* (0,95), а также у пар *K-V* (0,79), *Mg-Na* и *Fe-V* (0,75), *Ca-Na* (0,71). Вторая ступень анализа (основная) — соотношение элементов относительно репера (*Ca*). Коэффициенты корреляции относительного содержания элементов заметно отличаются от таковых абсолютных значений, кроме пары *Fe-K* (0,95). Обнаруживается также высокая отрицательная корреляция у пар *Na-Mn*, *Pb-Ni* и *Cr-Cd* (соответственно,  $-0,4$ ;  $-0,55$  и  $-0,5$ ). Приведены 3 гистограммы относительного состава цельной крови пациентов с разными патологиями. Третья ступень анализа (теоретически) — на основе бионеорганической модели механизма патологии выбор способов фармакологической коррекции металл-лигандного гомеостаза (МЛГ).

**ABSTRACT:** Range of contents of 26 elements in the whole blood of adult Russians (35–50 year) in central region of Russia was studied by means of ICP-

OES. Range of contents with 95 % confidence intervals was significantly lower than MAC for all elements, except Al, Cd, Se, V, Zn. Multielement analysis must be performed in 3 stages. 1<sup>st</sup> stage of analysis — comparison of contents of the heavy metals in the whole blood with upper limit of range — is relevant to diagnose intoxication and some pathology known to modify the contents of heavy metals. Revealed high linear correlation coefficients of absolute value at the pair of elements *Fe-K* (0.95), as well as by pairs *K-V* (0.79), *Mg-Na* and *Fe-V* (0.75), *Ca-Na* (0.71). 2<sup>nd</sup> stage (basic) is comparison of contents of the elements with the reference element (*Ca*). Comparison coefficients of the relative contents of elements are significantly different from absolute figures, except the pair *Fe-K* (0.95). Also highly negative coefficients were found for the pairs *Na-Mn*, *Pb-Ni* and *Cr-Cd* ( $-0.4$ ;  $-0.55$ ;  $-0.5$ , correspondingly). 3 histograms of relative contents of elements in the whole blood from patients with different pathologies are presented. 3<sup>rd</sup> stage of analysis (theoretical) is to select pharmacology correction of metal-ligand homeostasis on the basis of bioinorganic models of the pathologic mechanisms.

#### Введение

Содержание тяжелых металлов (ТМ) в цельной крови больных может помочь уточнить диагноз заболеваний, сопровождающихся нарушением металл-лигандного гомеостаза (МЛГ). Обычно в таких случаях удовлетворяются результатом определе-

ния того или иного элемента по сравнению со значением ПДК, приведенным в разных руководствах (Назаров, Макаренко, 1994; Барашков, 1999; Данилова, 2000; Литвинов, 2000). Однако не совсем ясно, что такое “предельно-допустимая концентрация” по отношению к определенному человеку.

Установление медицинских ПДК с помощью каких-либо модельных животных может не совпадать с биологией человека (Альберт, 1989). Определение ПДК по результатам исследования тканей мертвых людей тоже некорректно, поскольку в этом случае не учитывается свойственный живому человеку механизм поддержания МЛГ, не говоря уже об индивидуальных особенностях состояния иммунной и детоксицирующей систем. Кроме того, диапазон значений ПДК возникает из-за естественного различия людей по полу, возрасту, генетических особенностей, места проживания и пищевых привычек. Существование биогеохимических провинций является признанным фактом (Вернадский, 1978). Следовательно, в реальности содержание элементов в тканях, в том числе в цельной крови, у населения отдельных регионов страны различается в определенных пределах, которые можно считать нормой для данного региона. Недостаток или избыток эссенциальных или избыток токсических элементов диагностически значим лишь при содержании, выходящем за пределы нормальных колебаний. Сравнение же результата анализа с использованием только ПДК может дать небесспорный вывод о патологии.

Целью настоящего исследования было установление диапазона колебаний абсолютного и относительного содержания ТМ в цельной крови взрослых (35–50 лет) жителей центрального региона России с расчетом линейных коэффициентов корреляции между разными элементами.

## Методика

Брали цельную кровь из вены по стандартной методике в пробирки с добавленным гепарином (200 ед. гепарина на 1 мл крови) и герметично их закрывали. Пробоподготовку проводили в течение 1 часа после взятия. Если такой возможности не было, пробу хранили в холодильнике при  $-20^{\circ}\text{C}$ . В таком случае проба перед пробоподготовкой размораживалась до комнатной температуры в течение 1 часа.

В стеклоглиняные тигли брали из пробирок по 1 мл цельной крови и озоляли мокрым методом смесью конц.  $\text{HNO}_3$  и  $\text{H}_2\text{O}_2$  (1:3) на мраморе с температурой поверхности около  $80^{\circ}\text{C}$ . Остаток переводили в раствор 5 %  $\text{HNO}_3$  (3–5 мл). В полученном растворе определяли концентрацию ТМ атомно-эмиссионным методом на ICP-OES-спектрометре “Optima 3000” фирмы Perkin Elmer. Статистический анализ проводили стандартными методами (STATISTICA, StatSoft Russia, version 6). Выборка включала в себя результаты анализов крови 166 человек.

Формула для расчета относительных значений содержания элементов:

$X = E/\text{Cav}$  в опыте / верхний предел диапазона  $E/\text{Cav}$  в выборке.

Примечание: В выборку попали данные анализов мужчин и женщин, еще не больных, но обратившихся в клинику по поводу своего самочувствия.

## Результаты и обсуждение

Элементный анализ тканей человека, прежде всего цельной крови, можно считать первой ступенью анализа. Например, для обнаружения природы токсина и выбора правильного антидота при отравлениях и для подтверждения диагноза в случае заболеваний с явно выраженными нарушениями МЛГ (болезнь Вильсона-Коновалова — *Cu*, Альцгеймера — *Al*).

Как правило, полученные абсолютные результаты сравнивают с табличными значениями ПДК, устанавливая тем самым избыточное или недостаточное содержание элемента у пациента. На этом задачи анализа считаются выполненными.

В таблице 1 приведены результаты статистической обработки результатов анализов цельной крови 166 пациентов. В выборку попали данные по 26 элементам, содержание которых было выше предела обнаружения на используемом приборе.

Таблица 1. Диапазон абсолютного содержания химических элементов в цельной крови россиян центра страны ( $\text{вррм} = \text{мг/л}$ , при доверительной вероятности  $\pm 95\%$ ).

Элемент	ПДК крови	Среднее	Диапазон
Al	0,4	0,056	0,040–0,073
Ba	0,08	0,021	0,010–0,031
Ca	80	41,33	38,99–43,66
Cd	0,007	0,014	0,011–0,016
Co	0,01	0,007	0,006–0,009
Cr	0,04	0,014	0,009–0,019
Cu	0,9	0,62	0,57–0,67
Fe	500	287	266–308
Ge	1	0,44	0,39–0,48
K	1900	1023	961–1085
Li	0,01	0,002	0,001–0,003
Mg	45	22,0	20,4–23,6
Mn	0,07	0,009	0,005–0,014
Mo	0,04	0,001	0,000–0,002
Na	2050	1283	1209–1356
Ni	0,1	0,015	0,005–0,025
Pb	0,25	0,054	0,040–0,068
Se	0,3	0,442	0,257–0,627
Si	8,8	0,68	0,44–0,92
Str	0,1	0,059	0,035–0,082
Ti	0,1	0,031	0,001–0,067
V	0,01	0,077	0,071–0,084
W	0,02	0,029	0,020–0,038
Zn	3,3	3,8	3,5–4,1
P	500	266,2	251,0–281,4
S	1300	1043	992–1093

Данные таблицы 1 характеризуют “норму” для населения центра России. Однако, достаточно ли информации дают абсолютные цифры? В нормативах ПДК не отражается специфика физиологического действия разных форм элементов. Например, Cr(VI) значительно токсичнее Cr(III), однако в организме сравнительно быстро восстанавливается до 3-валентной формы. На время взятия пробы после однократного приема токсических элементов редко обращают внимание, что выводит из поля зрения врача индивидуальные особенности пациента. Тем не менее считается общепризнанным, что 72 часов хватает для практически полного возвращения организма здорового человека к норме (Назаров, Макаренко, 1994). Не принимаются во внимание также физиологические последствия изменения размера иона металла при смене валентности, сопровождаемые стереохимическими модификациями металлсодержащих комплексов. Вообще в случае ПДК факт отсутствия ионов металлов в свободном виде в физиологических условиях pH не учитывается. Следовательно, сравнение результатов анализа с ПДК может привести к прямо противоположному выводу о причине отравления в зависимости от времени взятия пробы и природы комплексов металлов с лигандами.

Общепринятая практика выражения результатов анализов в единицах СИ, т.е. в *молях/л*, или в массовых аналитических единицах, т.е. *г/л*, также может приводить к ошибкам. В обоих случаях концентрация выражается в расчете на объем биологической жидкости (кровь, плазма, моча и т.д.). Однако у разных людей, особенно при заболеваниях, гематокрит крови или плотность плазмы и мочи может заметно отличаться от нормы. Вследствие этого сухая масса 1 мл цельной крови у разных людей отличается в среднем примерно на 20%. Этот факт тоже не учитывается.

Кроме того, существуют известные практические ошибки определения ТМ в зависимости от многих факторов:

- 1) метода анализа (весовой метод, фотоколориметрия, спектрометрия, масс-спектрометрия),
- 2) приборного обеспечения, чистоты реактивов и качества стандартов для калибровки,
- 3) процедуры взятия проб (содержание ТМ в крови пациентов, взятой в положении лежа или сидя, может отличаться примерно на 15%) (Погосбекова, 2001),
- 4) способов пробоподготовки (сухое или мокрое озоление, в открытых тиглях, в колбах Кьельдаля, в автоклавах или микроволновых печах),
- 5) квалификации персонала, учета взаимовлияния элементов и пр. Этот пункт является главным фактором при проведении многоэлементного анализа, хотя часто игнорируется.

Следовательно, практика сравнения абсолютного значения с ПДК сама по себе ошибочна и некорректна. Поэтому вывод о недостаточности оценки результатов анализов ТМ только по их абсолютным значениям, особенно полученным в разных лабораториях, представляется вполне обоснованным. При-

емлемой альтернативой может стать выражение результатов многоэлементных анализов в виде соотношения элементов. Такой прием нивелирует отмеченные ошибки вплоть до их исключения. Этот этап является второй ступенью анализа, без которой результаты анализа можно считать ущербными.

Помимо сказанного, выражение результатов многоэлементного анализа в виде соотношения элементов — это требование времени, вытекающее из технических достижений инструментальных методов анализа. Выпускаемые сейчас приборы (масс-спектрометры с индуктивно связанной плазмой — *ICP-MS*) позволяют определять почти все элементы периодической системы в очень малых количествах образца. Применительно к медицине, речь идет о нескольких *мг* ткани или *мкл* биологических жидкостей. В этих обстоятельствах практически единственным решением, позволяющим получить точные количественные данные, является выражение результатов анализа в относительных единицах, по отношению полученной концентрации элемента к таковой реперного элемента.

Подробный анализ особенностей роли макроэлементов в живых организмах привел нас к выводу, что реперным элементом можно считать только кальций. Его содержание, распределение в различных органах и тканях, первостепенная роль в обмене, многообразие функций и наиболее совершенная система гомеостаза не сравнимы ни с каким-либо еще элементом.

Таким образом, второй ступенью анализа должно быть выражение результатов многоэлементного анализа в виде соотношения элементов, в первую очередь относительно *Ca*. Эти значения дают более правильную картину состояния МЛГ, поскольку нивелируют ошибки определения ТМ, отмеченные выше. Затем могут рассматриваться соотношения других элементов, значения которых могут подтвердить или опровергнуть диагноз определенных патологий. Диапазон значений соотношения элементов в цельной крови относительно содержания *Ca* (*E/Ca*) в той же выборке, что в таблице 1, приведены в таблице 2. В трех последних столбцах приведены относительные доли содержания элементов у трех пациентов: после операции на сердце с вживлением клапана (больная Д., 56 лет) — “А”, с гнездовой алопецией (больной Х., 41 год) — “В”, с болезнью Вильсона-Коновалова (больной М., 15 лет) — “С”.

Расчеты линейных коэффициентов корреляции (*Spearman R*) относительных значений содержания *K* и *Fe* в цельной крови показали такие же значения, что и сравнение абсолютных цифр (0,95). Этот факт можно объяснить нахождением обоих элементов в клетках крови. Один — благодаря активно действующему *Na*-насосу, обеспечивающему электролитный гомеостаз, второй — благодаря содержанию главным образом в составе гемоглобина, находящегося в эритроцитах. Отметим, что ион  $K^+$  имеет радиус, равный таковому 2 ионов  $Fe^{3+}$  (133 и 67 пм) (Эмсли, 1993).

При статистическом анализе абсолютных результатов высокие линейные коэффициенты корреляции

Таблица 2. Диапазон соотношений E/Ca в цельной крови при доверительной вероятности  $\pm 95\%$  (средняя концентрация Ca 41,33 ppm).

	E/Ca	Среднее	Диапазон	A	B	C
1	Al	0,0026	0,002–0,0032	95,54	36,7	121,6
2	Ba	0,0013	0,00065–0,0019	6,90	0	32,2
3	Ca	1	0,943–1,057	108,6	57,7	79,7
4	Cd	0,00037	0,00031–0,00042	25,4	154,8	91,7
5	Co	0,00025	0,0002–0,0003	0	133,1	79,4
6	Cr	0,00081	0,00064–0,00097	0	0	16,0
7	Cu	0,015	0,014–0,016	153	84,0	143,2
8	Fe	7,30	6,66–7,95	39,4	118,2	63,1
9	Ge	0,012	0,01–0,014	23	75	68
10	K	26,03	23,98–28,09	45,5	118,7	69,7
11	Li	0,00009	0,00006–0,00012	0	20,6	0
12	Mg	0,55	0,51–0,58	48,1	107,4	60,2
13	Mn	0,00036	0,00018–0,00055	85,8	0	61,6
14	Mo	0,00035	0,00003–0,00067	139,5	237,5	137,3
15	Na	31,63	30,2–33,0	53,2	85,0	68,1
16	Ni	0,0018	0,00044–0,0032	1,2	0	0
17	Pb	0,0018	0,0014–0,0021	38,5	3,3	129
18	Se	0,00189	0,00007–0,0197	0,854	2,05	1,59
19	Si	0,021	0,015–0,026	0	391	265
20	Sr	0,0018	0,0013–0,0024	0	0	0
21	Ti	0,00096	0,00014–0,0021	72,4	408,5	302,5
22	V	0,002	0,0018–0,0021	24,3	59	35,9
23	W	0,0013	0,001–0,0016	283	104	282
24	Zn	0,096	0,087–0,11	313	153	341
25	P	6,84	6,25–7,42	52,4	364	203
26	S	26,41	24,59–28,23	78,5	166	94,4

Примечание: В последних столбцах приведены рассчитанные значения относительного содержания элементов у трех пациентов (см. пояснения в тексте). За 1 приняты верхние значения (при доверительной вероятности 95%) каждого элемента.

показали пары *K-V* (0,79), *Fe-V* (0,75), *Na-Mg* (0,75), *Na-Ca* (0,71). Меньшие значения корреляции найдены у пар *Al-Cr* (0,64), *Zn-Cr* (0,63), *Al-Ba* и *Al-Zn* (по 0,61). Корреляционные зависимости остальных элементов меньше.

Расчеты линейных коэффициентов корреляции относительных результатов дает другую картину. У пар *K-V* и *Fe-V* коэффициент корреляции немного больше (0,81 и 0,77), а у *Na-Mg* меньше (0,68), чем при сравнении абсолютных значений. В то же время заметно уменьшаются зависимости у остальных пар элементов. Например, у *Zn-Cr* и *Al-Zn* они снижают-

ся вдвое, а у *Al-Cr*, *Al-Ba* становятся незначимыми. В то же время выявляются значимые корреляции у *K* и *Fe* с *Ge* (соответственно, 0,68 и 0,62), а также с *Cd* (0,55 и 0,63). Одновременно обнаруживаются заметные отрицательные корреляции у пар *Pb-Ni*, *Cr-Zn* и *Na-Mn* (соответственно,  $-0,55$ ;  $-0,5$ ;  $-0,4$ ), которые при сравнении абсолютных значений не проявляются. Правильно интерпретировать обнаруженные зависимости можно будет после дополнительного изучения металлсодержащих комплексов.

Очевидно, что выражение результатов анализа в относительных единицах позволяет получить большую информацию по сравнению с абсолютными значениями. Технически все приводимые расчеты выполняются в автоматическом режиме при использовании любых программ управления электронными таблицами общего назначения, например, Microsoft Excel. Полученные данные легко представить в виде гистограмм, наглядно показывающих картину состава крови пациента. Для примера на рисунке 1 приведены гистограммы состава цельной крови трех пациентов из таблицы 2.

Эти рисунки наглядно показывают разницу в содержании элементов при разных патологиях у определенных пациентов. Очевидно, что подобные гистограммы полезны для диагностики. Их можно использовать и в дальнейшем, на третьей ступени анализа.

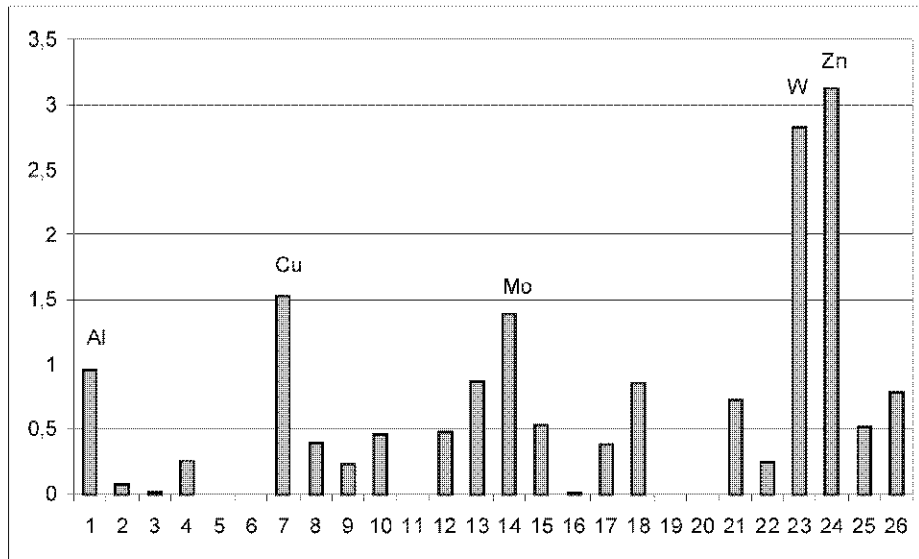
Третьей ступенью анализа должна быть детализация механизма патологии у конкретного пациента на базе бионеорганической модели данной патологии. Имеются в виду комплексы ферментов и гормонов с металлами, их активация, вид и природа мишеней, их конформация и взаимодействие. Поскольку далеко не для всех болезней выяснены детали этих механизмов, важной задачей многоэлементного анализа становится углубление знаний о них и выяснение способов их фармакологической коррекции. Несомненно, что при этом не обойтись без гибридных методов анализа, включающих в себя хроматографическую составляющую.

## Литература

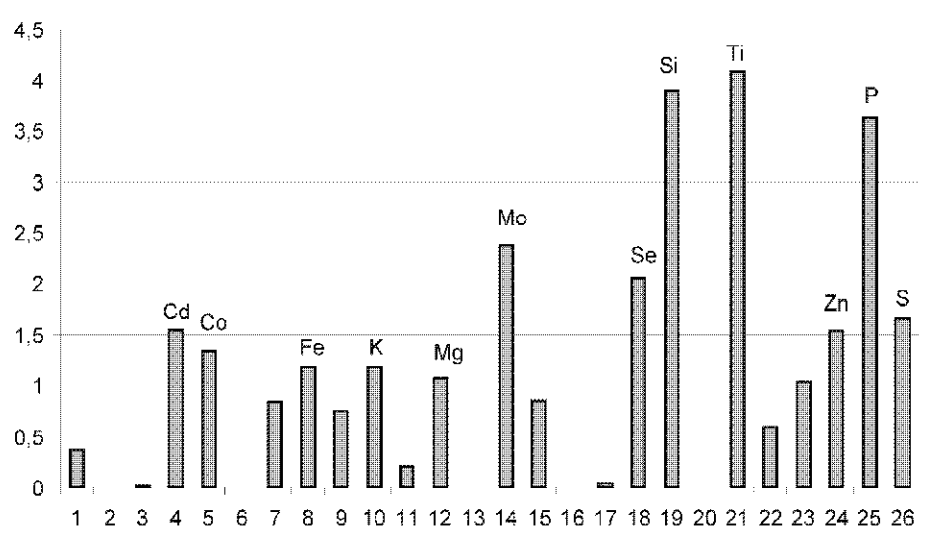
- Альберт А. 1989. Избирательная токсичность. Физико-химические основы терапии. М.: Медицина. Т.1. 399 с.  
 Барашков Г.К. 1999. Краткая медицинская бионеорганика. М.: Гэотармедицина. 62 с.  
 Вернадский В.И. 1978. Живое вещество. М.: Наука. 260 с.  
 Данилова Л.А. 2000. Анализ крови и мочи. С.-Петербург: Салит-Деан. 124 с.  
 Литвинов А.В. Ред. 2000. Норма в медицинской практике. М.: МЕДпресс. 144 с.  
 Назаров Г.Н., Макаренко Т.Ф. 1994. Методы спектрального анализа в судебной медицине. М.: МНПП "ЭСИ". 359 с.  
 Погосбекова М.Р., сост. 2001. Анализ крови и мочи. Как его интерпретировать? М.: Мир. 105 с.  
 Эмсли Дж. 1993. Элементы. М.: Мир. 256 с.

Рис. 1. Гистограммы относительных значений состава крови по данным табл.2 — "А" у Д. с вживленным сердечным клапаном, "В" у X. с гнездовой алопецией, "С" у М. с болезнью Вильсона-Коновалова.

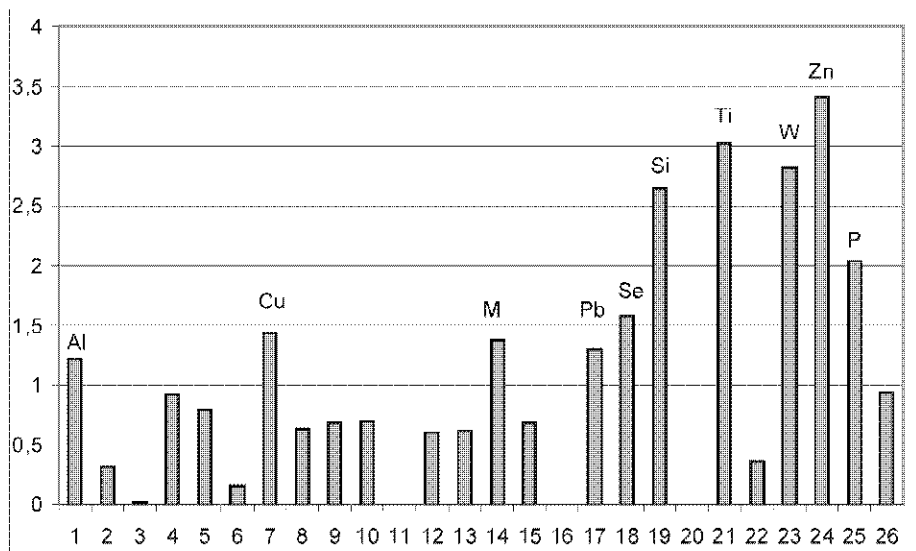
Примечание: Ось Y — доли относительного содержания элементов; ось X — №№ элементов из табл. 2.



**A**



**B**



**C**