

РЕТРОСПЕКТИВНАЯ И ОБЩАЯ ОЦЕНКА СОДЕРЖАНИЯ ЭССЕНЦИАЛЬНЫХ ЭЛЕМЕНТОВ И АЛЮМИНИЯ В ВОЛОСАХ МАТЕРИ И РЕБЕНКА МЕТОДАМИ АТОМНО-ЭМИССИОННОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ

Зажогин А.П.¹, Минько А.А.¹, Патапович М.П.², Павлюковец С.А.²

¹Белорусский государственный университет
пр. Независимости, д. 4, г. Минск, 220030, Беларусь; e-mail: zajogin_an@mail.ru

²Белорусская государственная академия связи
ул. Ф. Скорины, д. 8/2, г. Минск, 220114, Беларусь

Поступила в редакцию: 29.06.2018

Аннотация. Разработана методика ретроспективной оценки метаболизма ЖНЭ и алюминия в организме человека по количественному определению их содержания в волосах методом атомно-эмиссионной многоканальной спектрометрии при возбуждении спектров электрической дугой и сдвоенными лазерными импульсами. Сокращены временные и материальные затраты на пробоподготовку, повышены пределы чувствительности метода, что улучшает количественные оценки и ускоряет процесс анализа, приближая его к экспрессным. Показана возможность проведения ретроспективной оценки метаболизма жизненно необходимых элементов по анализу волос детей с выраженными нарушениями поведения и задержкой развития и их матерей. Метод позволяет оперативно оценивать изменения содержания элементов, характеризовать динамику процесса лечения, своевременно вводить коррективы. Полученные экспериментальные данные могут быть основой для дальнейшей разработки методологии ранней диагностики нарушения уровня функциональных резервов организма и системы реабилитационных мероприятий.

Ключевые слова: биологические образцы; волосы; электрическая дуга переменного тока; атомно-эмиссионная многоканальная спектрометрия; ретроспективный анализ метаболизма; жизненно необходимые элементы.

В последнее время все больший интерес представляют комплексные исследования волос матери и больного ребенка для выявления состояния обмена макро- и микроэлементов в организме и оценки психологического воздействия на такой обмен. Аутизм – это патология развития ребенка, при которой до трехлетнего возраста возникают проблемы с общением, речью, развивается стереотипное поведение. Эти признаки относятся к необходимым для диагноза, но зачастую есть и иные нарушения: проблемы эмоционального плана, фобии, агрессивность и аутоагрессивность, различные расстройства сна. Есть и другие заболевания, которые сейчас часто рассматривают как расстройства аутичного спектра, при этом границы между ними не всегда однозначны. Чем позже проявляются симптомы, тем меньше патология интеллекта. При некоторых видах таких расстройств умственное развитие нередко бывает даже выше среднего [1].

Детский организм в силу существующих анатомо-физиологических особенностей, в большей мере подвержен риску дисбаланса минералов. Дети более чувствительны к воздействию неблагоприятных экзо- и эндогенных факторов, поэтому, элементный дисбаланс может вызвать значительные изменения в состоянии здоровья детей. Как правило, дисбаланс химических элементов в организме детей одновременно включает избыточное накопление ряда токсичных металлов (Al, Be) и недостаточное содержание эссенциальных микроэлементов и макроэлементов (Zn, Fe, Ca, Mg, и др.). Что касается алюминия, то его физиологическая роль в организме человека изучена недостаточно. Однако можно говорить о том, что алюминий действует на нервную систему: накапливается в нервной ткани, приводя к тяжелым расстройствам центральной нервной системы. Данный химический элемент является генотоксичным, т.к., вследствие высокого аффинитета к фосфатным группам ДНК, легко с ней связывается. Следовательно, нарушается процесс митоза. Алюминий дестабилизирует различные метаболические процессы в нейронах, обеспечивающие поддержание эндогенного пула антиоксидантов (потенцирует глутамат-индуцированное накопление внутриклеточного кальция в нейронах). В результате накопления алюминия в организме, в частности, в нервных клетках, у пациентов возрастает степень окислительного повреждения тканей с развитием нейродегенеративной патологии мозга. Поэтому, коррекцию нарушений элементного статуса необходимо проводить с использованием постоянного контроля поступления и накопления элементов [2].

Интерес к таким исследованиям вызван тем, что, не смотря на предпринимаемые усилия по остановке роста численности детей аутистов их количество возросло более чем на 1000 % за последние 20 лет. В настоящее время аутизм рассматривается как эпидемия – только за последние 6 лет частота патологии в США возросла с 1:150 до 1:50 детей [3]. Частота заболеваний различается в различных странах, например, в Японии – она еще выше, а в Южной Корее по итогам 2012 г. она составляет 1:38 человек. Причем, как подчеркивает автор доклада, эти цифры получены не вследствие улучшения диагностики этого заболевания, она стала более эффективной в среднем всего на 30 %. Следует учитывать, что изменение генетических факторов вследствие естественных мутаций может дать прирост частоты всего лишь 1 % за 100 лет. Собственно, всё остальное происходит за счет факторов внешней среды.

Несмотря на обширные исследования, до полного понимания истоков биохимических сбоев еще далеко. Возможно, своевременно проведенная оценка количественных изменений содержания жизненно необходимых элементов за длительный промежуток времени поможет наметить пути коррекции основных направлений в лечении ребенка.

Для оценки динамики накопления металлов в организме необходима достоверная информация об их поступлении не только в настоящем, но и в прошлом, то есть необходим ретроспективный анализ изменения содержания элементов [4].

Точные причины возникновения аутизма не ясны, однако считается, что речь идет о генетических факторах. Однако, огромный рост случаев аутизма не может быть полностью объяснен только генетическими причинами. Несомненно, должен существовать фактор окружающей среды, влияние которого делает уязвимых детей аутичными. Во многих индивидуальных случаях обусловленные окружением факторы выступают как спусковой крючок, вызывающий развитие болезни [5, 6].

С целью прояснения выявления влияния окружающей среды на причины возникновения аутизма специалисты из King's College London (Великобритания), Karolinska Institutet (Швеция) и Школы медицины при больнице Mount Sinai (Нью-Йорк, США) [3] провели анализ массива данных о более, чем двух миллионах детей, появившихся на свет в Швеции с 1982 по 2006 год. У 14 516 из них были диагностированы различные типы расстройств, в том числе 5 689 случаев аутизма. Ими установлено, что факторы окружающей среды играют значительно более важную роль в каждом отдельном случае аутизма, чем об этом было принято думать до сих пор – их вклад составляет примерно половину общей суммы риска развития расстройства. Остальная часть приходится на наследственную предрасположенность. Поскольку аутизм сильно коррелирует с пороками развития во время критической стадии, особенно на этапе развития эмбриона, ученые обнаружили, что некоторые самые сильные предикторы аутизма связаны с окружающей средой. На всех стадиях беременности плод чрезвычайно уязвим перед любыми токсинами, которые влияют на мать: к примеру лекарства, которые отпускаются по рецепту, или же пестициды в окружающей среде.

Элементы можно определять в биологических жидкостях: крови, сыворотке, моче, спинно-мозговой жидкости, а также в тканях. Необходимо, однако, заметить, что определение содержания элементов в сыворотке или в крови может не отражать содержания этих элементов в организме в данный момент, поскольку действуют механизмы, выравнивающие уровень элементов в крови за счет резервов в тканях, так что, несмотря на кажущуюся нормальную концентрацию в сыворотке, содержание элементов в организме может быть недостаточным. Непосредственное влияние на концентрацию элементов в крови оказывает, например, применяемая в данный момент диета [7].

Наилучшим методом определения количества и содержания элементов в организме является определение их концентрации в волосах. Волосы представляют собой ткань, состоящую из очень устойчивого белка - кератина, который образует слой волоса, устойчивый к действию: внешних факторов, предупреждающий проникновение внешних загрязнений внутрь волоса, а также предотвращает потерю внутренних компонентов. Это обеспечивает постоянство химического состава. Очень легко удаляются с волоса внешние загрязнения, благодаря чему можно получить очень хорошую повторяемость аналитических результатов. По мнению многочисленных авторов, анализ концентраций элементов незначительного содержания в волосах является наилучшим методом оценки минерального состояния организма [7].

Одновременное определение микроконцентраций нескольких элементов может быть выполнено с помощью различных экспрессных инструментальных методов анализа, отличающихся простотой, не требующих большого количества исследуемого материала и обеспечивающих требуемую относительную точность. К таким методам в первую очередь относится атомно-эмиссионный спектральный анализ, который в современном исполнении регистрации спектров (фотодиодные и ПЗС линейки и матрицы) дает возможность одновременного определения до 35 элементов с достаточной чувствительностью и точностью. Эмиссионная спектроскопия, использующая электрическую дугу, электрический искровой разряд, лазерную искру, - мощное средство, позволяющее обнаружить до 70 элементов при кратковременном возбуждении нескольких микрограммов анализируемого образца [4, 6].

К методам, позволяющим проводить одновременное определение микроконцентраций нескольких элементов, в первую очередь относится атомно-эмиссионный спектральный анализ. Метод является одним из экспрессных инструментальных методов анализа, отличающихся простотой, не требующих большого количества исследуемого материала и обеспечивающих необходимую относительную точность [3 - 6].

При проведении исследований были проанализированы образцы волос 4 семейных пар – матерей и их малолетних детей.

Для интегрального показателя минерального обмена элементов исследованы минерализованные образцы волос. Минерализацию проб волос проводили методом мокрого озоления. Многоэлементный состав образцов определяли методом атомно-эмиссионной многоканальной спектрометрии с использованием многоканального атомно-эмиссионного спектрометра ЭМАС-200 Д. Возбуждение спектров проводили электрической дугой переменного тока. Количественные результаты определения общего содержания ЭЭ в анализируемых образцах приведены в таблице 1. Внизу таблицы приведены референтные значения [3, 4, 7].

Таблица 1. Содержание элементов в волосах детей и их матерей, мкг/100 г

№	Fe	Al	Mg	Ca	Cu	Zn
1 р	2398	1595	1206	84094	31,2	9344
2 м	2075	808	1246	26925	52,6	9267
3 р	1698	1122	4891	296726	19,5	18772
4 м	783	807	2239	51262	24,3	4380
5 р	598	564	2833	69719	41,2	7725
6 м	1262	1156	3195	81385	28,3	8954
7 р	3162	2123	6520	44254	37,5	7665
8 м	2919	902	733	149168	28,5	4465
Референтные значения						
нижнее	1500	200	2500	20000	650	12500
верхнее	5000	4000	12000	150000	1500	25000

Анализ полученных данных показывает, что практически во всех исследованных пробах наблюдается существенный недостаток меди и цинка. По всей вероятности, в первую очередь, это обусловлено спецификой питания.

Особое внимание следует уделить кальцию и магнию. Они являются важнейшими макроэлементами. Кальций необходим для нормального сокращения мышц, проведения нервного импульса, выброса гормонов и свертывания крови. Он также способствует регуляции многих ферментов. Избыток кальция чаще всего препятствует усвоению магния. Повышенное содержание кальция влечет понижение концентрации магния, что видно из таблицы.

Также ясно, что во многих случаях мы наблюдаем значительное превышение концентрации кальция по сравнению с нормой. Такие показатели характерны для матерей. Исключение составляет ребенок № 3 (ребенок 3-х лет).

Для оценки процессов поступления ЭЭ в организм на примере кальция нами изучена динамика изменения его концентрации во времени. Проведен количественный ретроспективный анализ изменения его содержания по длине волос, что позволяет восстановить историю поступления элементов в организм за длительный промежуток времени, при необходимости за несколько лет.

В работе использовали лазерный многоканальный атомно-эмиссионный спектрометр LSS-1. Источником возбуждения плазмы является двухимпульсный неодимовый лазер с регулируемой энергией и интервалом между импульсами (модель LS2131 DM). Лазер обладает широкими возможностями как для регулировки энергии импульсов (от 10 до 80 мДж), так и временного интервала между импульсами (от 0 до 100 мкс). Лазер может работать с частотой повторения импульсов до 10 Гц и максимальной энергией излучения каждого из двоекных импульсов до 80 мДж на длине волны 1064 нм. Длительность импульсов ≈ 15 нс. Все эксперименты проводятся в атмосфере воздуха при нормальном атмосферном давлении.

При проведении исследований анализировали суммарные результаты действия 30 последовательных лазерных импульсов (энергия 36 мДж, межимпульсный интервал 8 мкс) на точку образца волос через 0,5 см, что примерно соответствует интервалу роста волос за половину месяца. В случае необходимости каждый участок может быть разбит на точки размером $\approx 0,3$ мм.

В качестве примера на рисунке 1 приведены результаты изменения концентрации кальция в образцах волос по их длине двух пар - у детей (1 и 3) и их матерей (2 и 4).

Концентрации кальция в последовательных точках по длине для образцов волос ребенка и матери (образцы 1 и 2 из таблицы 1) представлены на рисунке 1а. Видно, что концентрация кальция в течение последней половины года у матери повысилась, и стала чуть выше нижнего значения, в то же время у ребенка наблюдается существенное понижение уровня кальция. Последнее, говорит, о каком-то стрессовом состоянии у ребенка.

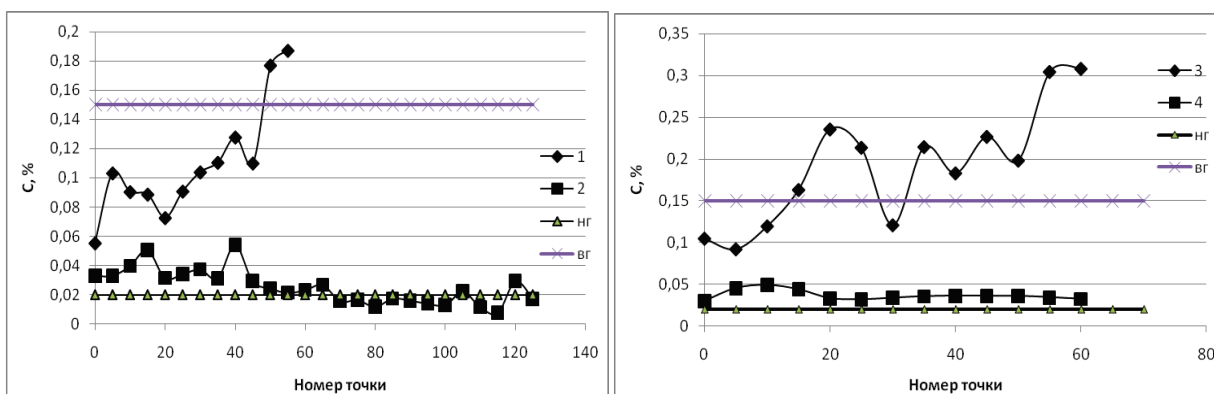


Рисунок 1. Концентрация кальция в последовательных точках по длине волос



Рисунок 2. Содержание элементов в волосах детей и их матерей (нг – нижняя граница, вг – верхняя граница)

Аналогичное, наблюдается и у ребенка 3 (рис. 1б) и у матери, но на фоне существенного избытка кальция у ребенка. Анализ волос открывает новые перспективы для решения проблем со здоровьем, потому что выявляет нашу биохимическую индивидуальность. Такой неинвазивный способ получения биоматериала, не связанный с взятием проб крови и травматизацией детей абсолютно безопасен.

Существует множество исследований, которые определяли опасность ингредиентов вакцин. К примеру, алюминий, который также используется в вакцинах, может быть причиной большого количества нейродегенеративных расстройств, одним из которых является аутизм. На рисунке 2 приведено распределение алюминия у нескольких исследуемых пациентов. Как видно в этих случаях существенного превышения концентрации алюминия как у детей, так и их матерей.

Анализ волос открывает новые перспективы для решения проблем со здоровьем, потому что выявляет нашу биохимическую индивидуальность. Такой неинвазивный способ получения биоматериала, не связанный с взятием проб крови и травматизацией детей абсолютно безопасен.

Определив содержание в организме основных микроэлементов, а также таких важных макроэлементов, как калий, кальций, магний, можно искать причину существующего дисбаланса, целенаправленно подбирать биологически активные добавки или препараты, корректировать питание. Важно еще и то, что эффективность проведенной коррекции может быть проконтролирована повторными анализами в реальном масштабе времени (вплоть до нескольких десятков минут).

Если удастся точнее определить механизм обмена веществ с участием алюминия, то появится возможность разработки лекарственных препаратов, уменьшающих проявления симптомов аутизма, а диагноз можно будет ставить в самом раннем возрасте – еще младенцам.

Список литературы / References:

1. Atladóttir H.Ó., Henriksen T.B., Schendel D.E., Pamer E.T. Autism after infection, febrile episodes, and antibiotic use during pregnancy: an exploratory study. *Pediatrics*. 2012, vol. 130, no. 5, pp. 1447-1454.
2. Курец Н.И. Роль дисбаланса химических элементов в формировании хронической патологии у детей. *Ж. медицинские новости*, 2006, № 2, с. 7-17. [Kurec N.I. Chemical elements disbalance role in chronic pathology forming in children. *J. med. news*, 2006, no. 2, pp. 7-17. (In Russ.)]
3. Sandin S., Lichtenstein P., Kuja-Halkola R., Larsson H., Hultman C.M., Reichenberg A. The Familial Risk of Autism. *The Journal of the American Medical Association*, 2014, vol. 311, no. 17, pp. 1770-1777.
4. Патапович М.П., Пашковская И.Д., Ань Л.Т.К., Нечипуренко Н.И., Зажогин А.П. Разработка методик определения содержания тяжелых металлов в волосах методом лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии. *Материалы междунар. науч. конф. «Фундаментальные науки — медицине: материалы»*, Минск, 17 мая 2013 г., 2 ч., с. 119-123. [Patarovich M.P., Pashkovskaya I.D., Anh L.T.K., Nechipurenko N.I., Zajogin A.P. Development of the methods to estimate the content of heavy metals in hair by the laser atomic-emission spectrometry method. *Fundamental Sciences for Medicine: materials of the Inter. Scient. Conf.*, Minsk, May 17, 2013, part 2, pp. 119-123. (In Russ.)]
5. Нестерова Д.В. *Ваш домашний доктор. Расшифровка анализов без консультации врача*. М.: РИПОЛ классик, 2011, 200 с. [Nesterova, D.V. *Your domestic doctor. Interpretation of analyses without doctor consultations*. М.: RIPOL Classic, 2011, 200 p. (In Russ.)]
6. Зажогин А.П. *Атомный спектральный анализ: курс лекций*. Минск: Изд-во БГУ, 2005. 163 с. [Zajogin A.P. *Atomic spectral analysis: Lecture course*. Minsk: BSU Pub., 2005, 163 p. (In Russ.)]
7. Скальный А.В. *Микроэлементозы человека (диагностика и лечение)*. Изд-во Москва, 1999, 180 с. [Skalny A.V. *Human microelementoses (diagnostics and treatment)*. Moscow publ. house, 1999, 180 p. (In Russ.)]

RETROSPECTIVE AND GENERAL ESTIMATION OF THE ESSENTIAL ELEMENTS AND ALUMINUM CONTENT IN THE HAIR OF MOTHER AND CHILD BY THE ATOMIC-EMISSION SPECTROMETRY METHODS

Zajogin A.P.¹, Minko A.A.¹, Patapovich M.P.², Pavlucovec S.A.²

¹Belorussian State University

Nezalieznasci av., 4, Minsk, 220030, Belarus; e-mail: zajogin_an@mail.ru

²Belorussian State Academy of Communication

F. Skoryny str., 8/2, 220114, Minsk, Belarus

Abstract. The methods of retrospective estimation of the essential elements and aluminum metabolism in a human organism by quantitative evaluation of their content in the hair of mother and child has been developed with the use of multichannel atomic-emission spectrometry when spectra are excited by the electric arc or double laser pulses. The required time and material expenditures for sample preparation have been lowered, whereas the sensitivity limits have been improved, that contributes to fast quantitative estimates and analysis approaching the express methods. The possibility to have retrospective estimates of metabolism of the essential elements by analysis of the hair of children with marked behavioral disturbances and mental retardation and of their mothers has been shown. The method allows for operative estimation of variations in the essential elements content and for timely corrections of the treatment course. The obtained experimental data may be used as a basis for the development of early diagnostic methods detecting disturbances in the functional resources of a human organism and for the selection of adequate rehabilitation measures.

Key words: *biological samples; hair; alternating current (a. c.) arc; multichannel atomic-emission spectrometry; retrospective analysis of metabolism; essential elements.*