

© Макаров О.О., Шейман Б.С., Кулизький М.В., Писарев Є.О., Перетятко Д.В., Вихор В.О., Проданчук М.Г., 2013

УДК: 616-073.27:616.61-008: 631.416.9

О.О. МАКАРОВ¹, Б.С. ШЕЙМАН², М.В.КУЛИЗЬКИЙ³, Є.О. ПИСАРЕВ¹,
Д.В. ПЕРЕТЯТКО², В.О. ВИХОР¹, М.Г. ПРОДАНЧУК¹

ЗМІНИ РІВНІВ НЕЕСЕНЦІЙНИХ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ У ЦІЛЬНІЙ КРОВІ ДОРΟΣЛИХ ПАЦІЄНТІВ ІЗ ХХН V СТ., ЯКІ ЛІКУЮТЬСЯ ГЕМОДІАЛІЗОМ

MAKAROV O.O.¹, PISAREV E.O.¹, SHEIMAN B.S.², KULIZKIY M.V.³,
PERETYATKO D.V.², VIHOR V.O.¹, PRODANCHUK M.G.¹

CHANGES OF NONESSENTIAL TRACE ELEMENTS LEVELS IN WHOLE BLOOD OF END STAGE RENAL DISEASE ADULT PATIENTS

¹ДП Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки ім. Л.І. Медведя

²Національна дитяча спеціалізована лікарня "Охматдит" МОЗ України

³ДУ «Інститут нефрології НАМН України»

¹Medved'S Research Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety, Ministry of Health Ukraine

²Centre for Clinical Toxicology of National Child Specialized Clinic «Ohmatdyt»

³SI «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»

Ключові слова: мікроелементи, мас-спектрометрія з індуктивно зв'язаною плазмою (ICPMS), хронічна хвороба нирок, діалізні технології

Key words: trace elements, inductive coupled plasma mass-spectrometry (ICPMS), end stage renal disease, dialysis technologies.

Резюме. *Введение:* При условиях снижения или прекращения функций почек происходит накопление микроэлементов, которые при определенных условиях приобретают токсические свойства. С другой стороны, как показывают исследования, на фоне поражения почек содержание некоторых микроэлементов также может снижаться. В наибольшей степени на дисбаланс микроэлементов при ХБП имеет влияние степень поражения почек и используемая заместительная терапия.

Материалы и методы: Мы определяли содержание микроэлементов (бериллия, бора, алюминия, ванадия, хрома, никеля, мышьяка, рубидия, стронция, кадмия, цезия, бария, таллия и свинца) в цельной крови 41 пациента с хронической болезнью почек VД стадии, которые лечатся гемодиализом/гемодиалфильтрацией и у 61 условно-здорового донора. Исследования элементного состава крови были проведены с использованием методики масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ICPMS).

Результаты: Проведенные исследования показали, что у пациентов с ХБП VД ст. наблюдается достоверное повышение содержания бериллия, бора, алюминия, ванадия, хрома, стронция, кадмия, бария и свинца. Элементы, уровень которых снижается при данной патологии, представлены никелем, мышьяком, цезием и рубидием.

Заключение: ХБП VД ст. сопровождается значительными и разнонаправленными изменениями микроэлементного состава крови с преобладанием процессов накопления над элиминацией.

Summary. *Aims:* Accumulation of trace elements occurs in conditions of decreased or termination of kidneys functions. In some conditions increased trace elements can obtain toxic features. On other hand, researches are showing that concentration of some trace elements could be decreased in ESRD patients, too. The most important factor affecting trace element concentration in ESRD patient is the degree of renal failure and using of replacement therapy.

Materials and methods: We determined the concentration of microelements (beryllium, boron, aluminum, vanadium, chromium, nickel, arsenic, rubidium, strontium, cadmium, cesium, barium, thallium and lead) in whole blood of 41 ESRD patients with chronic kidney disease stage VD, who were treated with hemodialysis / hemodiafiltration and in 61 conditionally healthy donors. Determination of whole bloods trace elements content was conducted using inductive coupled plasma mass-spectrometry (ICPMS).

Results: It is determinate that levels of beryllium, boron, aluminum, vanadium, chromium, strontium, cadmium, barium, thallium and lead is reliable increased in ESRD patients. Decreased levels are observed for nickel, arsenic, cesium and rubidium.

Conclusions: ESRD is accompanied with substantial and multidirectional changes of trace elements blood levels. During researches has shown that in ESRD patients processes of trace elements accumulation are prevailing over elimination ones.

Макаров Олексій Олександрович
olemakar@gmail.com

ВСТУП. В умовах зниження або припинення функцій нирок відбувається накопичення мікроелементів, які за певних концентрацій набувають токсичних властивостей. Більшість дослідників зосереджують увагу у на надмірній концентрації у крові саме органічних сполук хворих з порушенням функцій нирок, опускаючи зміни останньої щодо неорганічних сполук, хоча вони, як відомо, мають велике клінічне значення. Зміни концентрацій саме неорганічних речовин (включаючи мікроелементи) також можуть викликати функціональні та біохімічні порушення гомеостазу у пацієнтів з уремією [8].

Концентрації та токсичність мікроелементів у рідких біологічних середовищах залежить від багатьох факторів. Зменшення концентрацій мікроелементів обумовлено в першу чергу зменшенням їх надходження з їжею, порушенням процесів абсорбції у кишечнику та перерозподілом. Крім цього, мікроелементи, транспорт яких пов'язаний із білками, можуть втрачатися при наявності у пацієнта протеїнурії. Підвищення концентрацій деяких мікроелементів спостерігається при однорідному харчуванні, забрудненні навколишнього середовища промисловими викидами, вдиханні цигаркового диму, призначенні парентеральних рідин або контакті крові з забрудненим діалізатом. Взагалі, збільшення вмісту певних мікроелементів частіше виникає у хворих, які перебувають на кінцевих стадіях хронічної ниркової недостатності, отримують діалізу терапію.

У здорових осіб нормально функціонуючі нирки здатні ефективно еліминувати важкі метали з організму, в той час, як у пацієнтів з уремією знижена функція нирок призводить до накопичення потенційно нефротоксичних мікроелементів (арсен, кадмій, мідь, германій, свинець, ртуть), що призводить до поглиблення розладів гомеостазу в цілому та нирок зокрема [9].

Патологічне накопичення мікроелементів спостерігається у хворих, які отримують лікування з використанням методів замісної ниркової терапії (ЗНТ), внаслідок забруднення діалізату або води для діалізу. В 1976 році Alfrey A.C., et al., повідомили про інтоксикацію алюмінієм внаслідок забруднення діалізату у пацієнтів на, які перебувають на гемодіалізі [3]. Проте провідна роль у змінах балансу мікроелементів, що відбувається у хворих з хронічною хворобою нирок ВД ст. (ХХН ВД ст.) належить втраті елімінаційної здатності нирок, зниженню швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ), тобто її ступінь [9].

При ураженні нирок відбувається накопичення таких елементів, як арсен, кобальт, цезій, хром, ртуть, молібден, кремній та стронцій. Вміст інших елементів (бром, рубідій, селен, цинк) демонструють тенденцію до зниження. Тим не менш, інформаційні повідомлення про мікроелементний склад біологічних субстратів є вкрай

неоднорідні і суперечливі. Так, Van Renterghem із співавт. повідомив про підвищення рівня арсену у 5 пацієнтів з ХХН ВД ст., які отримували лікування методом гемодіафільтрації [7]; Maeyer D.R. із співавт. спостерігали зниження рівня арсену у 85 пацієнтів з ХХН ВД ст., які отримували терапію методом гемодіалізу [6].

Таким чином, з огляду на важливість мікроелементного балансу у підтримці та забезпеченні гомеостатичних функцій, здається доцільним поглиблення знань щодо змін у складі мікроелементів, які виникають у хворих з порушеними функціями нирок, та на підставі отриманих даних розробити підходи щодо їх корекції [5].

МЕТА ДОСЛІДЖЕННЯ: розробити підходи щодо корекції змін мікроелементного гомеостазу на основі дослідження та встановлення порушень обміну неесенційних мікроелементів в крові у хворих на уремію, які отримують лікування з використанням методів замісної ниркової терапії.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ. У 41 хворого на ХХН ВД ст. проведено дослідження мікроелементного складу цільної крові. Всі пацієнти отримували лікування гемодіалізом та гемодіафільтрацією на базі ДУ «Інститут нефрології НАМНУ». Середній вік пацієнтів склав 52 роки. Серед них було осіб чоловічої статі 20 (48,8 %) та 21 (51,2%) - жіночої. З них 20 пацієнтів отримували ЗНТ з використанням інтермітуючого гемодіаліза (ІНД); 21 пацієнт – з використанням інтермітуючої гемодіафільтрації (ІНДФ). Відносна кількість пацієнтів, які отримували ЗНТ протягом до 3 років склала 32%; 3–6 років – 21%, та понад 6 років – 47%.

Контрольна група осіб дорослого віку, що презентує нормальний вміст мікроелементів в крові, представлена 61 здоровими донорами.

Усім хворим на ХХН ВД ст. та умовно здоровим особам визначався вміст 14 наступних хімічних елементів: берилію, бору, алюмінію, ванадію, хрому, нікелю, арсену, рубідію, стронцію, кадмію, цезію, барію, талію та свинцю. Крім цього, окремо було проведено дослідження елементного складу води, що застосовується для ІНД та ІНДФ.

Для проведення досліджень відбирали цільну венозну кров об'ємом до 3 мл. Зразки зберігали у пластикових контейнерах при температурі до 4 С. Для проведення досліджень елементного складу цільна кров об'ємом від 0,8 до 1,5 мл переносилась до герметичних фторопластових автоклавів, додавали 3 мл азотної кислоти (о.с.ч.) та 0,5 мл перекису водню (о.с.ч.) і проводили мікрохвильову мінералізацію проб протягом 40 хвилин у мікрохвильовій печі СЕМ MARS 5 (США).

Після охолодження отриманий мінералізат розводили деіонізованою водою до 15 мл і аналізували у мас-спектрометрі з індуктивно

зв'язаною плазмою Bruker MS 820 (Австралія) та спеціальному програмному забезпеченні ICPMS Expert. Межі виявлення хімічних елементів, що

встановлені в ході оцінки придатності методики (валідації), наведені у табл. 1.

Таблиця 1

Межі виявлення хімічних елементів у цільній крові, що встановлені в ході валідації методики

Хімічний елемент	Межа виявлення методики, мкг/дм ³
Берилій	0,024
Бор	2,3
Алюміній	12,6
Ванадій	0,3
Хром	0,52
Нікель	0,13
Арсен	1,09
Рубідій	0,12
Стронцій	0,08
Кадмій	0,07
Барій	0,025
Талій	0,025
Свинець	0,43

При проведенні досліджень та визначення характеристики змін вмісту хімічних елементів у цільній крові умовно здорових осіб та пацієнтів із ХХН VД ст. визначали середні значення та стандартні квадратичні відхилення концентрацій. Для оцінки достовірності отриманих даних було застосовано статистичний критерій Стьюдента; для обробки даних - програмне середовище "Open Office 3.2".

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Отримані дані про концентрації мікроелементів у цільній крові були розділені за напрямком та достовірністю змін на 3 групи:

- 1 - достовірне збільшення вмісту мікроелементів;
- 2 - достовірне зменшення вмісту мікроелементів;
- 3 - недостовірні зміни вмісту мікроелементів.

До першої групи увійшли пацієнти з достовірним збільшенням концентрації берилію, бору, алюмінію, ванадію, хрому, стронцію, кадмію, барію та свинцю у порівнянні з такими в контрольній групі (табл. 2).

Таблиця 2

Рівні збільшення вмісту важких металів у цільній крові пацієнтів з ХХН VД ст. у порівнянні із умовно здоровими особами

Хімічний елемент	Середні значення концентрацій у контрольній групі, мкг/дм ³	Середні значення концентрацій у групі пацієнтів із ХХН VД ст., мкг/дм ³	Ступінь збільшення вмісту хімічного елементу (разів)	Достовірність змін
Берилій	0,00002±0,00001	0,0001±0,00016	5,23	p<0,01
Бор	0,00979±0,039	0,194±0,053	19,8	p<0,01
Алюміній	0,027±0,082	0,206±0,14	7,53	p<0,01
Ванадій	0,0267±0,0086	0,0832±0,019	3,12	p<0,01
Хром	0,0925±0,023	0,242±0,050	2,62	p<0,01
Стронцій	0,0234±0,0071	0,0349±0,0083	1,5	p<0,01
Кадмій	0,0006±0,0008	0,0014±0,0012	2,34	p<0,01
Барій	0,0030±0,014	0,0206±0,031	6,92	p<0,01
Свинець	0,0196±0,016	0,0708±0,037	3,62	p<0,01

Як свідчать отримані результати (табл. 2), коливання ступеня збільшення вмісту неесенційних мікроелементів у пацієнтів із ХХН ВД ст. відбувалося у широких межах (від 1,5 до 19,8 разів). Найбільший ступінь збільшення концентрації (понад 5 разів) спостерігався для бору, алюмінію, барію і берилію; найменш виражене

накопичення (від 1,5 до 5 разів) – для свинцю, хрому, кадмію та стронцію.

Достовірне зменшення концентрацій (від 1,24 до 3,5 разів) у пацієнтів з ХХН ВД ст. у порівнянні із контрольною групою спостерігалось для нікелю, арсену, рубідію та цезію (табл. 3).

Таблиця 3

Зменшення вмісту неесенційних мікроелементів у цільній крові пацієнтів з ХХН ВД ст. у порівнянні з умовно здоровими особами

Хімічний елемент	Середні значення концентрацій у контрольній групі, мг/дмЗ	Середні значення концентрацій у групі пацієнтів із ХХН ВД ст., мг/дмЗ	Ступінь зменшення вмісту хімічного елементу (разів)	Достовірність змін
Нікель	0,0808±0,15	0,025±0,034	3,20	p<0,01
Арсен	0,0069±0,0067	0,0020±0,003	3,49	p<0,01
Рубідій	1,94±0,32	0,898±0,14	2,16	p<0,01
Цезій	0,0019±0,0012	0,0015±0,00042	1,24	p<0,05

Встановлено, що найбільш виражене (майже у 2 рази) зменшення вмісту хімічних елементів спостерігалось у відношенні до концентрацій As, Ni та Rb; помірніших змін зазнавала концентрація Cs.

Встановлено, що концентрації Co і Tl у цільній крові пацієнтів з ХХН ВД ст. змінюються недостовірно у порівнянні із пацієнтами контрольної групи.

Дослідження елементного складу води, що застосовується для діалізу у Інституті нефрології НАМН України, показало її відповідність рекомендаціям ERA-EDTA[4].

ОБГОВОРЕННЯ. Відомо, що в залежності від шляхів метаболізму, речовини систематизовані у 2 групи: 1 - важкі метали та мікроелементи із недоведеними есенційними властивостями (переважно представлені аніонними елементами - хром, бор, стронцій, рубідій, цезій), які ефективно абсорбуються шлунком і виділяються з організму в основному нирками; 2 - елементи, що існують у вигляді органічних комплексів, та їх метаболізм в організмі є утруднений (свинець) [1].

Отримані нами результати досліджень демонструють значне переважання кількості хімічних елементів (9 елементів), концентрація яких достовірно збільшена у дорослих пацієнтів із ХХН ВД ст. у порівнянні із такими, вміст яких є знижений (4 елементи). Слід відзначити, що ступені відмінностей у вмісті неесенційних мікроелементів у хворих на ниркову недостатність та в умовно здорових осіб значно перевищує такий для есенційних елементів [2]. На нашу думку, даний факт, з однієї сторони, може бути пояснений еволюційно обумовленим потужним і ефективним механізмом гомеостазу есенційних елементів, а з іншої – значною роллю нирок в екскреції неесенційних мікроелементів, особли-

во бор, хром, ванадій, барій, алюміній, кадмій і стронцій.

З огляду на вище зазначене, серед причин, що можуть призводити до накопичення мікроелементів в організмі пацієнтів із ХХН ВД ст., не можна виключити і безпосередній вплив ЗНТ (особливо гемодіалізу), який також може потенційно призводити до накопичення таких мікроелементів, насамперед алюміній і стронцій. Іншим фактором накопичення мікроелементів в крові хворих є прояви реальної остеодистрофії, які часто спостерігаються при даній патології. Кісткова тканина є місцем фізіологічного накопичення великої кількості мікроелементів, насамперед бору, свинцю, алюмінію, стронцію і барію. Демінералізація кісткової тканини безумовно є важливим чинником, що сприяє виходу широкого переліку хімічних елементів в циркулюючу кров.

Нами встановлено зниження рівня неесенційних мікроелементів (арсен, нікель, рубідій, цезій) у хворих на ХХН ВД ст. (з порушеною елімінаційною функцією нирок). За умови переважних шляхів елімінації більшості із зазначених вище мікроелементів, отримані нами результати (зменшення останніх в крові) може бути пояснені застосуванням екстракорпоральних методів терапії, які безпосередньо викликали їх зниження. В літературі надана інформація про селективну елімінаційну активність гемодіалізу і гемодіафільтрації у відношенні арсену, але ми зробили припущення, що селективні детоксикаційні властивості методів ЗНТ можуть спостерігатися й у відношенні до інших мікроелементів. Також не слід виключати вплив гіпопротеїнемії, що потенційно може призводити до компартменталізації мікроелементів у тканинах, таким чином зменшуючи здатність крові до їх транспорту. Ще одним фактором, що сприяє змен-

шенню рівнів мікроелементів в циркулюючій крові є антагоністичні взаємодії хімічних елементів. Дане явище може спостерігатись для пар хімічних елементів: Ca-Ni, Zn-Ni, Rb і Cs-K. Таким чином, підвищення їх взаємодії може сприяти зменшенню концентрації мікроелементів у крові.

ВИСНОВКИ:

1. У крові хворих на ХХН VД ст. визначено значні і різноскеровані зміни концентрацій не-есенційних мікроелементів.
2. У пацієнтів з уремією спостерігаються переважання процесів накопичення неесенційних мікроелементів над їх виведенням.
3. Внесок різних факторів у розвиток порушень мікроелементного балансу, зокрема застосування екстракорпоральних методів гемоко-рекції, залишається до кінця не зрозумілим, що у подальшому вимагає більш детального вивчення.
4. У пацієнтів із ХХН VД ст. можна розглядати можливість застосування елімінаційної терапії для корекції надлишкової кількості мікроелементів в крові, включаючи застосування консервативних заходів сорбційної (ентеро-, гемосорбція) та хелатуючої терапії із використанням специфічних комплексонів (ДМСК, D-пеніциламін, купреніл, ЄДТА, унітіол і т.д.).

ЛІТЕРАТУРА:

1. Д. *Оберлис*. Биологическая роль макро- и микроэлементов у человека и животных / Д. *Оберлис*, Б. Харланд, А. Скальный // Санкт-Петербург : Наука, 2008.

2. Порушення обміну есенційних мікроелементів у дорослих пацієнтів із хронічною хворобою нирок V ст., які перебувають на замісній нирковій терапії / М.Г. Проданчук, О.О. Макаров, Б.С. Шейман, М.В.Кулизький (с соавт) // Проблеми харчування. – 2012. - № 3 – 4. – С. 40-44
3. A.C. *Alfrey*. The dialysis encephalopathy syndrome. Possible aluminum intoxication / A.C. *Alfrey*., G.R. Le Gendre, W.D. Kaehny // N. Engl. J. Med. – 1976. – Vol. 294 – С. – 184-188.
4. European Best Practice Guidelines for Haemodialysis (Part 1) // Nephrol Dial Transplant. – 2002. – Vol. 17. – Suppl 7. – P.45-62
5. H.*Harold*. Trace elements in uraemia and haemodialysis / H. *Harold*, M.D. Sandstead // Am.J.Clin.Nutr. – 1980 – Vol. 33. – С. 1501-1508.
6. D.R. *Mayer*. Essential trace elements in humans. Serum arsenic concentration in hemodialysis patients in comparison to healthy controls / D.R. *Mayer*, W. Kosmus, H. Poggitsch, D.Mayer, W.Beyer // Biol Trace Elements Res. – 1993 – Vol. 37. – С. 27-38.
7. D.*Van Renterghem*. Behavior of 12 trace elements in serum of uremic patients on hemodiafiltration / D. *Van Renterghem*, R. Cornelis, R. Vanholder // J. Trace elements Electrolytes Health Dis. – 1992 – Vol. 6. – С. 169-174.
8. R. *Vanholder*. The role of trace elements in uraemic toxicity / R. *Vanholder*, R. Cornelis, A. Dhondt ,N. Lameire // Nephrol Dial Transplant. – 2002 – Vol. 17. – Suppl 2. – С. 2-8.
9. R.*Vanholder*. Trace element metabolism in renal disease. Nutrition Management of Renal Diseases / R. *Vanholder*, R. Cornelis, A. Dhondt, S. Ringoir. – Baltimore: Williams and Wilkins. – 1996 – 587 с.

Надійшла до редакції 29.03.2013

Прийнята до друку 09.04.2013