

УДК 543.64, 612

УРОВЕНЬ БИОЭЛЕМЕНТОВ В ВОЛОСАХ И СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ДЕТЕЙ С РАССТРОЙСТВАМИ АУТИСТИЧЕСКОГО СПЕКТРА

О.А. Денисенко¹, П.С. Новиков^{2*}, Н.А. Черевко², А.Н. Кучер⁴,
Е.С. Ихалайнен⁵, В.И. Отмахов³, А.В. Обухова³

*(¹Медицинское объединение «Центр семейной медицины»; ²Сибирский государственный медицинский университет; ³Национальный исследовательский Томский государственный университет; ⁴Научно-исследовательский институт медицинской генетики, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук; ⁵Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова; *e-mail: pavel.n1234@yandex.ru)*

Изучено содержание биометаллов в образцах сыворотки крови и волос у детей с установленным диагнозом расстройства аутистического спектра (РАС). Обследованы 38 детей с РАС (средний возраст $7,9 \pm 2$ лет) и 20 детей без симптомов РАС, вошедшие в группу сравнения (средний возраст $7,7 \pm 2$ лет). В образцах волос, собранных у детей с РАС, обнаружены повышенное содержание магния и фосфора (в 4,3 и 2,8 раз), а также дефицит железа и селена. У детей с РАС зарегистрировано статистически значимое избыточное содержание кадмия в волосах по сравнению с контрольной группой ($U = 91, p = 0,038$); в сыворотке крови у детей с РАС выявлен избыток токсичных элементов (алюминия, ртути, кадмия). Установлено, что у детей с РАС понижен уровень эссенциальных элементов, участвующих в функционировании нервной и иммунной систем, и статистически значимо повышено содержание токсичных микроэлементов.

Ключевые слова: расстройства аутистического спектра, биоэлементы, макроэлементы, эссенциальные элементы, токсичные микроэлементы, анализ.

Накоплены экспериментальные и клинические данные, свидетельствующие о том, что причиной развития патологических симптомов и болезней (в том числе и болезней нервной системы) может быть несбалансированное содержание в организме человека макро- и микронутриентов. В наше время люди подвергаются значительному воздействию токсических веществ, что существенно влияет на их здоровье [1]. Дисбаланс в организме человека эссенциальных и токсичных веществ может стать причиной роста всевозможных заболеваний, в том числе и расстройств аутистического спектра (РАС) [2]. РАС представляют собой гетерогенную группу расстройств нервной системы, для которых характерны нарушения социального взаимодействия, коммуникации и гибкости поведенческих реакций. Несмотря на существенную генетическую компоненту в детерминации риска развития РАС, большинство случаев имеют многофакторную природу и реализуются при участии определенных патогенетических факторов [3]. К таким факторам можно отнести иммунные нарушения, окислительный дисбаланс, воздействие на организм токсиче-

ских агентов и недостаточное поступление необходимых питательных веществ [4]. В связи с многофакторной природой большинства случаев РАС встает вопрос об актуальности выявления специфических факторов риска для конкретной территории проживания, популяции, этнической группы. Важно также установить клинко-иммунологические особенности течения заболевания в целях разработки персонифицированных программ реабилитации. Например, при изучении уровня химических элементов у детей с РАС в исследованиях ученых разных стран различался спектр биометаллов, по которым регистрировалось отклонение от нормы, были представлены противоречивые данные относительно содержания конкретного элемента [4, 5].

Цель настоящего исследования заключалась в изучении содержания биометаллов в образцах сыворотки крови и волос у детей с установленным диагнозом РАС.

Материалы и методы

Исследовали группу из 38 детей с РАС, средний возраст которых составлял $7,9 \pm 2$ лет (из

Содержание химических элементов в волосах детей исследуемых групп

Элемент	Исследуемые группы	Доля детей (в %) с содержанием микроэлементов			Границы нормы (мкг/г) [6]
		ниже нормы	в границах нормы	выше нормы	
Макроэлементы					
Магний (Mg)	контроль	46,15	46,15	7,69	20–200
	дети с РАС	30,00	36,67	33,33	
Фосфор (P)	контроль	38,46	53,85	7,69	120–200
	дети с РАС	28,57	50,00	21,43	
Кальций (Ca)	контроль	23,08	76,92	0,00	200–2000
	дети с РАС	16,67	80,00	3,33	
Эссенциальные микроэлементы					
Хром (Cr)	контроль	0,00	100,00	0,00	0,04–1,00
	дети с РАС	15,38	80,77	3,85	
Железо (Fe)	контроль	0,00	91,67	8,33	7–40
	дети с РАС	20,69	72,41	6,90	
Медь (Cu)	контроль	38,46	46,15	15,38	9–40
	дети с РАС	33,33	66,67	0,00	
Цинк (Zn)	контроль	61,54	38,46	0,00	125–400
	дети с РАС	56,67	43,33	0,00	
Марганец (Mn)	контроль	18,18	81,82	0,00	0,15–2,00
	дети с РАС	26,67	73,33	0,00	
Молибден (Mo)	контроль	8,33	91,67	0,00	0,005–0,100
	дети с РАС	12,50	87,50	0,00	
Селен (Se)	контроль	75,00	25,00	0,00	0,25–2,00
	дети с РАС	84,00	0,00	16,00	
Кобальт (Co)	контроль	75,00	25,00	0,00	0,004–0,300
	дети с РАС	68,00	32,00	0,00	
Токсичные микроэлементы					
Кадмий (Cd)	контроль	0,00	72,73	27,27	<0,25
	дети с РАС	0,00	12,50	87,50	
Барий (Ba)	контроль	0,00	90,91	9,09	<6,00
	дети с РАС	0,00	78,26	21,74	
Ртуть (Hg)	контроль	0,00	88,89	11,11	<1,00
	дети с РАС	0,00	88,00	12,00	
Алюминий (Al)	контроль	30,77	30,77	38,46	<25,00
	дети с РАС	13,33	43,33	43,33	
Свинец (Pb)	контроль	0,00	100,00	0,00	<5,00
	дети с РАС	0,00	100,00	0,00	

них 3/4 мальчиков), и группу из 20 детей без признаков РАС, средний возраст которых составлял $7,7 \pm 2$ лет (группа сравнения). Дети, включенные в исследование, родились и проживали в Томске. Для всех детей получено информированное согласие родителей на проведение комплексных исследований и обработку персональных данных.

Диагноз РАС поставлен детям в городском психоневрологическом диспансере. Для оценки изменения физического и психического состояния детей с РАС родители заполняли специализированную анкету – Autism Treatment Evaluation Checklist (АТЕС), на основании анализа которой дана оценка (в баллах) четырем группам показателей: речь и коммуникативность, социализация, сенсорика и познавательные способности, здоровье и поведение. Если по результатам анкетирования ребенок получал 30 и ниже баллов, диагностировались незначительные отклонения; при 31–40 баллах ставился диагноз – умеренная степень аутизма; при 41–60 баллах – средняя степень аутизма; 61 балл и выше означает наличие тяжелой формы аутизма.

Критериями включения детей в контрольную группу служили отсутствие признаков РАС и иных психических расстройств, а также аллергических, аутоиммунных наследственных или приобретенных заболеваний, нарушений в функционировании желудочно-кишечного тракта, а также соответствие индекса массы тела возрастной норме.

В качестве объекта исследования использовали образцы сыворотки крови, волос. Содержание биометаллов в образцах определяли на масс-спектрометре с индуктивно-связанной плазмой «Alligent-7700x ICP-MS», что позволило в одной пробе одновременно определять 70 и более химических элементов. В нашем исследовании проанализированы макроэлементы (Ca, P, Na, Mg), эссенциальные (Cr, Fe, Cu, Zn, Mn, Mo, Se, Co), условно эссенциальные (As, V, Br, Si, V, Li, Ni), потенциально токсичные (Ti, Sn, Sb) и токсичные микроэлементы (Pb, Cd, Al, Hg, Ba).

Проводили общий анализ крови детей из обеих групп с подсчетом лейкоцитарной формулы, используя гематологический анализатор «MINDRAY BC-3000 Plus», измеряли содержание общего и С-реактивного белка с помощью биохимического анализатора «Accent 200» на диагностических наборах Вектор-Бест (г. Новосибирск). Содержание фибриногена определяли на анализаторе гемостаза «АПГ4-02-П» с помощью

наборов фирмы «Техстандарт». Концентрацию ферритина измеряли иммуноферментным методом с помощью наборов Вектор-Бест (г. Новосибирск).

Для статистической обработки результатов использовали SPSS Statistics 20.0. Распределение количественных показателей проверяли на соответствие нормальному распределению с использованием критерия Шапиро–Уилко. Для сравнения двух независимых групп, распределение которых не подчинялось нормальному, применяли критерий Манна–Уитни. Корреляционный анализ проводили с помощью критерия Спирмена.

Результаты и их обсуждение

Содержание микроэлементов определяли в сыворотке крови и волосах. Принято считать, что состав элементов в твердых тканях (волосы, ногти, кости) отражает их поступление на протяжении длительного времени (месяцы, годы), тогда как в жидкостях, в том числе и в крови, быстрее находят отражение кратковременные по экспозиции и значительные по степени поступления колебания уровня биоэлементов [6].

Из 25 проанализированных элементов (таблица) в образцах волос по двум микроэлементам (свинец и сурьма) не установлено отклонений от нормы в сравниваемых группах. В ряде случаев в исследуемых группах было отмечено снижение содержания эссенциальных элементов в волосах по сравнению с референсными значениями. У четверых детей с РАС в образцах волос выявлен значительный недостаток железа и цинка, у троих детей – недостаток хрома и меди. В образцах волос, отобранных у детей с РАС, значительно чаще чем у детей группы сравнения регистрировали избыток магния и фосфора (соответственно в 4,3 и 2,8 раза), в 20% проб волос детей с РАС зафиксирован дефицит железа. В целом у детей с РАС более низкий уровень эссенциальных элементов, таких как фосфор, кальций, хром, железо, медь, цинк, марганец, молибден, селен и др., регистрировался чаще, чем их избыток. У 84% детей с РАС выявлено заниженное содержание селена в волосах. Что касается условно-эссенциальных элементов, содержание большинства из них находится в границах нормы. Установлено повышенное содержание кремния у 54% детей контрольной группы и у 77% детей с РАС.

При оценке потенциальнотоксичных и токсичных элементов у детей с РАС выявлено превышение верхней границы нормы. Только

по уровню титана зарегистрировали дефицит у 7,69% детей контрольной группы и 37,93% детей с РАС. У 17% детей с РАС обнаружено повышенное содержание титана. При анализе содержания токсичных элементов в пробах волос отмечено существенное превышение содержания алюминия, кремния, мышьяка, кадмия, бария, ртути у детей с РАС, избыток данных химических элементов отмечен и в контрольной группе (примерно у 1/5 детей). У 88% детей с РАС зарегистрировано статистически значимое избыточное содержание кадмия в волосах по сравнению с контрольной группой ($U = 91; p = 0,038$). В группе детей с РАС, по сравнению с контрольной группой, установлена более высокая концентрация в волосах алюминия, бария, мышьяка и ртути.

Известно, что кровь имеет более стабильный состав микроэлементов, чем волосы, поэтому отклонения в содержании как эссенциальных нутриентов, так и токсических элементов (веществ) в крови от нормы может провоцировать у человека разные патологические состояния. Изучение изменения содержания элементов в крови при разных заболеваниях очень важно с точки зрения практической медицины для выявления диагностических маркеров и прогнозирования риска развития патологического состояния [7].

В нашем исследовании установлено, что содержание эссенциальных химических элементов в сыворотке крови у 80% детей исследуемых групп находилось в пределах референсных значений. В 1/4 проб сыворотки в исследуемых группах отмечено снижение содержания кальция и молибдена. У 20% детей с РАС отмечено снижение уровня марганца в сыворотке крови. При индивидуальном анализе результатов было установлено, что у некоторых детей наблюдалось снижение натрия и меди в сыворотке крови. В группе потенциально-токсичных и токсичных элементов выявлено повышение концентрации алюминия, кадмия, лития и ртути. В каждой второй пробе сыворотки детей с РАС обнаружен избыток алюминия, у каждого десятого ребенка с РАС выявлен избыток ртути и кадмия. В образцах сыворотки крови у детей контрольной группы не обнаружено повышения содержания ртути и кадмия, в то же время установлено снижение концентрации ванадия (у 38% детей). По сравнению с уровнем элементов в волосах содержание эссенциальных и токсических элементов в сыворотке крови более сбалансировано, большее число детей имели уровень элементов в пределах референсных значений, реже регистрировались отклонения от нормы и по эссенциальным, и по

токсичным элементам. Обращает на себя внимание выраженный избыток алюминия и в волосах, и в сыворотке крови как в контрольной выборке, так и у детей с РАС. Таким образом, можно предположить, что избыток токсичных микроэлементов и недостаток эссенциальных – важное звено в развитии расстройств аутистического спектра.

У детей с РАС, имеющих избыток токсичных металлов, зарегистрирован более высокий балл теста АТЕС (60 баллов и более), что подтверждает предположение о значимости высокого уровня токсичных металлов для риска развития данного состояния. Корреляции между уровнем токсичных металлов и биохимическими показателями крови (общий белок, С-реактивный белок) не выявлено. Обнаружена прямая корреляционная зависимость между концентрацией железа и гемоглобина, а также обратная зависимость между скоростью оседания эритроцитов и содержанием меди. При сравнении остальных показателей общего анализа крови корреляционных связей не выявлено.

При анализе содержания биоэлементов в волосах у детей с РАС установлен недостаток эссенциальных элементов, таких как цинк, хром, медь, селен, который регистрировался чаще, чем в контрольной группе. На наш взгляд, выявленный дефицит хрома, цинка, селена и меди может отражать региональные особенности состава эссенциальных элементов в почве и воде региона (г. Томск), а также особенности питания современных детей (несбалансированное по содержанию нутриентов питание с высокой долей в диете рафинированных продуктов). Известно, что селен и цинк обладают выраженными антиоксидантными свойствами; селен, проявляющий себя как антагонист ртути и мышьяка, способен защищать организм от кадмия, свинца и талия [6]. Можно предположить, что именно нехватка селена – причина накопления токсичных элементов у детей, однако нельзя исключать и обратную связь. Следует отметить, что селен, участвующий в образовании гормонов щитовидной железы, способен также предотвращать образование опухолей.

Цинк входит в состав более 300 ферментов, участвующих в различных иммунологических и биохимических реакциях (в том числе и углеводном обмене), а также в состав большого числа транскрипционных факторов, регулирующих экспрессию различных генов.

Хром, как известно, важен для поддержания оптимального уровня холестерина и глюкозы в крови, необходим для нормального метаболизма

жиров в организме [8]. Одновременное понижение содержания этих трех элементов может привести к нарушению синтеза гормонов щитовидной, поджелудочной и половых желез, а также к снижению активности иммунных процессов и появлению когнитивных нарушений со стороны нервной системы (беспокойство, снижение памяти, утомляемость).

У детей с аутизмом выявлен дефицит макроэлементов и жизненно необходимых элементов, таких как магний, железо, медь, цинк, марганец, селен и кобальт, уровень которых значим для эпигенетической регуляции генома, а нарушения на эпигенетическом уровне рассматриваются в качестве возможных причин нарушений развития нервной системы, приводящих к расстройствам аутистического спектра [9].

В сыворотке и волосах детей с РАС обнаружен избыток токсичных металлов (кадмия, ртути, бария, алюминия и мышьяка). Кадмий проявляет себя как антагонист таких эссенциальных микроэлементов, как селен, цинк, медь и железо, нарушая всасывание двухвалентных эссенциальных элементов. Кроме того, он оказывает ингибирующее действие на некоторые ферменты [9]. Предполагается, что его действие основано на связывании группы $-SH$ цистеиновых остатков в белках и ингибировании SH -ферментов и цинксо-держающих ферментов, замещая цинк.

У детей с РАС выявлен избыток потенциально-токсичных и токсичных элементов, влияющих на функционирование нервной и эндокринной систем, таких как алюминий, литий, мышьяк и барий. Алюминий, предположительно, взаимодействует с железосерными кластерами в митохондриях, в результате чего нарушается синтез АТФ, в избыточном количестве образуются активные формы кислорода и нарушается формирование цитоскелета, что препятствует выполнению кле-

точной функции, направленной на поддержание здоровья соседних нейронов. Известно, что алюминий – мощный ингибитор потенциал-зависимых каналов в головном мозге. Он вызывает конформационные изменения кальмодулина при взаимодействии, что приводит к блокировке активности зависимой от кальмодулина фосфодиэстеразы [6, 10].

Механизм токсичности мышьяка связан с нарушением обмена серы, селена и фосфора. Известно, что мышьяк накапливается в ретикулоэндотелиальной системе, связываясь с SH -группами белков, и ингибирует их активность. Этот химический элемент влияет на происходящие в митохондриях окислительные процессы, участвует в нуклеиновом обмене, необходим для образования гемоглобина, хотя в состав этого белка не входит.

Комплексный избыток токсичных микроэлементов, таких как ртуть, барий, свинец, алюминий, наиболее опасен, так как приводит к нарушению важных метаболических и дыхательных процессов за счет замещения эссенциальных микроэлементов и, как следствие, может повышать риск развития РАС.

Выводы

В образцах волос и сыворотке крови детей с РАС установлено снижение уровня эссенциальных элементов (хром, цинк, медь, железо), участвующих в функционировании нервной и иммунной систем. Обнаружено статистически значимое повышение содержания токсичных микроэлементов (бария, ртути, алюминия, мышьяка, кадмия). Установлена зависимость между уровнем токсических элементов и повышенными баллами в тесте АТЕС, отражающими клинический статус детей с расстройствами аутистического спектра.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. The Lancet Commission on pollution and health/ Philip J Landrigan [et al]// *The Lancet*. 2017; Oct 19. pii: S0140-6736(17)32345-0. doi: 10.1016/S0140-6736(17)32345-0.
2. *Raymond L.J.* Potential Role of selenoenzymes and antioxidant metabolism in relation to autism etiology and pathology / *Laura J. Raymond, R.C. Deth, Nicholas V.C. Ralston* // *Autism research and treatment*. 2014. Vol. 2014. Article ID 164938, 15 pages. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/164938>.
3. *Kerub O.* // *The Israel Medical Association Journal*. 2018. Vol. 20. № 9. P. 576.
4. *Yasuda H.* // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. 2013. Vol. 10. P. 6027–6043; doi: 10.3390/ijerph10116027.
5. *Lakshmi Priya M.D., Geetha A.* // *Biol. Trace Elem. Res.* 2011. Vol. 142. № 2. P. 148. doi: 10.1007/s12011-010-8766-2. Epub 2010 Jul 13.
6. *Скальный А.В.* Биэлементы в медицине. М., 2004.
7. *Рихванов Л.П.* Очерки геохимии человека: монография. Томск, 2015.
8. *Авцын А.П.* Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. М., 1991.
9. *Dall'Aglio L.* // *Neurosci Biobehav Rev.* 2018. Vol. 94. P.17. doi: 10.1016/j.neubiorev.2018.07.011.
10. *Шугалей И.В.* Экологическая химия. 2012. Vol. 21. № 3. С. 172.

Поступила в редакцию 17.10.2018
Получена после доработки 20.11.2018
Принята к публикации 15.12.2018

THE LEVEL OF BIOELEMENTS IN THE HAIR AND SERUM IN CHILDREN WITH AUTISM SPECTRUM DISORDERS

O.A. Denisenko¹, P.S. Novikov^{2*}, N.A. Cherevko², A.N. Kucher⁴, E.S. Ikhalaïnen⁵,
V.I. Otmahov³, A.V. Obukhova³

(¹Family Medicine Center; ²Siberian State Medical University; ³National Research Tomsk State University; ⁴Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center; ⁵Military medical academy of S.M. Kirov; *e-mail: pavel.n1234@yandex.ru)

The pathogenesis of autism spectrum disorders in children are still controversial. The involvement of genetic factors in the development of autism has been proven, but to a large extent it is multifactorial disease. Studies have shown that immune disorders, toxic substances and a lack of intake of essential nutrients are involved in the pathogenesis of autism. The purpose of this research was to study the concentration of biometals in serum and hair in children with ASD. The study included 38 children with ASD (average age 7.9±2 years, the ratio of boys to girls was 3:1) and 20 children were included in the control group (average age 7.7±2 years). We found an excess of magnesium and phosphorus (4.3, 2.8 times), a deficiency of iron and selenium in hair samples collected from children with ASD. A statistically significant excess of cadmium was revealed in the hair of children with ASD in comparison with the control group ($U = 91, p = 0.038$). In the blood serum of children with ASD was recorded an excess of toxic elements: aluminum, mercury, cadmium. Thus, children with ASD have a decrease in the level of essential elements involved in the regulation of the nervous and immune systems function and a statistically significant increase in the content of toxic trace elements.

Key words: autism spectrum disorders, bioelements, macroelements, essential elements, toxic trace elements analysis.

Сведения об авторах: Денисенко Ольга Анатольевна – врач клинической лабораторной диагностики, заведующий КДЛ МО «Центр семейной медицины» (olga-muraveinik@yandex.ru); Новиков Павел Сергеевич – врач клинической лабораторной диагностики, «Центр семейной медицины» (pavel.n1234@yandex.ru); Черевко Наталья Анатольевна – врач аллерголог-иммунолог высшей категории, директор ООО «Центр семейной медицины», профессор, докт. мед. наук (chna@0370.ru); Кучер Аксана Николаевна – вед. науч. сотр. лаборатории популяционной генетики Научно-исследовательского института медицинской генетики Томского НИМЦ, профессор, докт. биол. наук (aksana.kucher@medgenetics.ru); Ихалаïнен Екатерина Сергеевна – соискатель Военно-медицинской академии имени С.М. Кирова (eihalain@gmail.com); Отмахов Владимир Ильич – профессор Национального исследовательского Томского государственного университета, докт. техн. наук (otmahov@mail.ru); Обухова Анастасия Валерьевна – магистр Национального исследовательского Томского государственного университета.