

УДК 612/613:616/07:546.41+546.46:001.5

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФОРМ КАЛЬЦИЯ И МАГНИЯ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ И СЛЮНЕ МЕТОДОМ ААС И ИХ ДИГНОСТИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ В КЛИНИКЕ

Андрусишина И. Н.

Институт медицины труда АМН Украины, г. Киев

Введение

Биологическая роль ионов кальция и магния в жизнедеятельности различных организмов в норме и при развитии патологического процесса хорошо изучена [1-5]. Кальций и магний участвуют во многих процессах поддержания жизнедеятельности организма. Кальций принимает участие в реакциях нервно-мышечной передачи импульсов, оказывает положительный инотропный эффект на деятельность сердечной мышцы, обеспечивает контроль и активирование гормонов и нейромедиаторов, участвует в свертывании крови, принимает активное участие в метаболизме костной ткани, способствует образованию электрического потенциала мембран, поддержанию тонуса вегетативной и центральной нервной систем (ВНС и ЦНС)[1-3]. Магний является физиологическим антагонистом кальция. Его биологическая роль обусловлена участием в энергетическом, пластическом и электролитном обмене. Он является обязательным кофактором более 300 ферментов. Ионы магния являются важным звеном нейромышечной проводимости, оказывают депрессивное влияние на ЦНС, участвует в сокращении сердца, расширении сосудов, содействует фибринолизу. Магний играет важную роль в определении характера иммунитета [5-6].

В организме человека кальций и магний распределяются неравномерно между внутриклеточной и межклеточной жидкостью и кроме того представлены несколькими фракциями: диффундирующей (небелковая - ионизированная и неионизированная) и недиффундирующей (белковосвязанная). Известно, что ионизированная форма кальция составляет 50% от общего содержания металла в плазме

крови, а доля ионизированного магния - 70% от его общего содержания в ней [3, 5-7]. Общее содержание кальция и магния в слюне обычно меньше, чем в плазме крови. При этом кальций в слюне также как и в сыворотке крови представлен белковосвязанной (15 %) и ионизированной (50%) формами, незначительная его часть связана с цитратами и фосфатами. [1, 3, 4, 8, 9]. Концентрация ионизированного магния в слюне исследована недостаточно, хотя есть указания на то, что его соотношение в слюне подобно соотношению в сыворотке крови [10].

Гомеостатические механизмы затрагивают только ионизированные формы этих элементов. Так, ионизированный кальций служит внутриклеточным посредником действия ферментов и гормонов на клетку. Так, например, ионизированный кальций с кальмодулином оказывает регуляторное влияние на функционирование многих структурных элементов в клетке. Значима роль ионизированного кальция и как медиатора действия гормонов – вазопрессина, адренкортикотропного гормона, серотонина и других. Содержание ионизированных форм этих макроэлементов в плазме (сыворотке) крови и слюне представляет интерес при изучении многих физиологических и патологических состояний [6, 8-11]. В клинической диагностике используется определение ионизированного кальция в плазме крови при хирургическом вмешательстве на сердечно-сосудистую систему, гипертонии, аномалиях беременности и болезней воспалительного генеза [12-18].

Традиционно общее содержание кальция и магния в сыворотке крови и

слюне определяется методами фотометрии, полярографии, атомно-абсорбционной спектрофотометрии (ААС) [7, 19, 21]. Концентрация ионизированных форм кальция и магния чаще определяются с помощью метода потенциометрии или ион-селективных электродов [8, 12, 13, 22]. Недостатком последних является необходимость сохранения кислотно-щелочного баланса пробы, большого ее объема (для определения необходимо 5 мл сыворотки крови). В то же время ион-селективные мембраны электродов не стойки к действию микрофлоры, специфическому осаждению белков и имеют ряд технических недостатков.

Учитывая, вышеизложенное, представляло интерес провести оценку возможности использования метода ААС в определении форм электролитов – кальция и магния в сыворотке крови и слюне. В связи с этим целью работы было – определить уровни общей и ионизированной форм Ca^{2+} и Mg^{2+} в сыворотке крови и слюне методом атомно-абсорбционной спектрофотометрии и показать их информативную значимость на примере различных патологических состояний организма человека.

Материалы и методы

В исследовании принимали участие 45 мужчин в возрасте от 21 до 47 лет. Контрольную группу составляли здоровые испытуемые-добровольцы (12 чел.). Опытные группы были сформированы из пациентов клиники института с установленными диагнозами - артериальная гипертензия (7 чел.), свинцовая интоксикация (13 чел.), полинейропатия (6 чел) и остеопороз (7 чел.).

Пробы сыворотки крови и слюны отбирали согласно общепринятому методу отбора данных субстратов [6, 9, 21]. Содержание форм Ca^{2+} и Mg^{2+} в сыворотке крови и слюне определяли методом пламен-

ной атомно-абсорбционной спектрофотометрии (ПААС). Общий кальций и магний в исследуемых субстратах определяли согласно известному методу подготовки проб [19, 21]. Определение небелковых форм металлов проводили после стабилизации белков сыворотки крови и слюны 5 % изотоническим раствором глютаральдегида (рН 7,4) [20]. Затем белки осаждали 10% раствором азотной кислоты с последующим разведением проб 0,1% раствором хлорида лантана (1:10 и 1: 5 соответственно) [23].

Математическая обработка полученных результатов проводилась с использованием методов вариационной статистики с использованием программы "Statistica-6." Статистическая значимость межгрупповых отличий оценивалась по *t*-критерию Стьюдента [24].

Результаты и их обсуждение

Естественное содержание форм Ca^{2+} и Mg^{2+} в сыворотке крови и слюне здоровых мужчин контрольной группы представлено в таблице 1.

Полученные колебания общего содержания макроэлементов не отличались от данных опубликованных в литературе [3, 5-7, 25-27]. Выявлена незначительная разница между содержанием общих форм электролитов в сыворотке крови и слюне человека, которая обусловлена активной функцией слюнных желез и ее белковым составом [1-4,9]. Обнаружены идентичные соотношения ионизированных форм металлов в исследуемых биосубстратах (50 % для кальция и 70 % для магния), что также соответствует опубликованным в литературе данным [4-8,12-15]. Полученные результаты свидетельствуют о хорошей сходимости соотношения форм электро-

Таблица 1
Содержание общей и ионизированной форм кальция и магния в сыворотке крови и слюне человека в норме

Биосреда	Формы химических элементов	Кальций (мМоль/л)	Магний (мМоль/л)
Сыворотка крови	Общая	1,95-2,25	0,85-1,02
	Ионизированная	0,96-1,20	0,43-0,55
Слюна	Общая	0,67-1,33	0,70-1,67
	Ионизированная	0,48-0,62	0,45-0,71

литов в сыворотке крови и слюне с данными литературы, что позволяет говорить о том, что определение форм МаЕ в слюне пригодно при оценке функционального состояния в случаях острого отравления и при проведении эпидемиологических исследований.

Установлено [22], что частота проявлений гипертонической болезни и инфаркта миокарда выше у лиц проживающих в биогеохимических провинциях со сниженным содержанием кальция и магния в воде. Показано, что высокое АД ведет к снижению концентрации Mg^{2+} в кардиоците и сыворотке крови, в то время как содержание Ca^{2+} в этих средах увеличивается [12, 14, 28, 29]. Часто нормальные показатели Ca^{2+} сыворотке крови не исключают общего дефицита элемента в организме, так как при этом Ca^{2+} может высвободиться из костей, предотвращая снижение его сывороточной концентрации [6, 7, 11]. Магний - один из активных регуляторов сосудистого тонуса, участвует в поддержании калия в клетках, в сокращении сердца, расширении сосудов. Его содержание в сердце составляет 1/5 части всего магния в организме человека, что свидетельствует о чрезвычайной значимости этого катиона для сердечной деятельности. Исследованиями было показано, что 90% больных с инфарктом миокарда имеют дефицит магния [22,30]. Кроме того, все физиологические эффекты кальция и магния осуществляются их ионизированными формами, так как они являются медиаторами действия гормонов (кальмодулина, вазопрессина, адреналина, АКТГ, серотонина, инсулина, ТТГ, кальцитонина и паратгормоном) на клетку [6, 7].

Поэтому важным было с помощью метода ПААС определить уровни общего и ионизированного кальция и магния в сыворотке крови пациентов с артериальной гипертензией. Результаты исследова-

Таблица 2
Содержание общей и ионизированной форм кальция и магния в сыворотке крови пациентов с артериальной гипертензией

Группы обследованных	Формы химических элементов	Кальций (ммоль/л)	Магний (ммоль/л)
Контрольная	Общая	2,12 ±0,07	1,08±0,02
	Ионизированная	1,30 ±0,11	0,85±0,07
Опытная	Общая	2,42±0,06*	0,74±0,02*
	Ионизированная	1,26±0,06	0,69±0,02*

Примечание: в этой таблице и последующих * - $p < 0,05$ по сравнению с соответствующим контролем.

ний представлены в таблице 2.

Выявлен рост концентрации общего Ca^{2+} в сыворотке крови пациентов с АГ на 14,15 %. Ионизированная форма металла при этом не изменялась. Уровень общего Mg^{2+} в сыворотке крови больных с АГ снижался по сравнению с контрольной группой на 31,49%. Уровень ионизированного магния наоборот возрастал на 14,51%. Обнаруженный дисбаланс уровней общего и ионизированного Ca^{2+} и Mg^{2+} в сыворотке крови пациентов с АГ свидетельствует о физиологическом антагонизме исследуемых МаЕ. Рост ионизированного Mg^{2+} , возможно является свидетельством генетически обусловленной предрасположенности пациентов к данному заболеванию [7,12, 29] .

Избыточное поступление свинца в организм человека препятствует усвоению кальция и обуславливает дефицит магния в организме человека. Эффекты воздействия свинца на организм человека хорошо изучены [5-7]. Однако, влияние его на обмен ионизированных форм кальция и магния изучено мало. Так, в таблице 3 представлены результаты исследований форм Ca^{2+} и Mg^{2+} в сыворотке крови пациентов с диагнозом свинцовая интоксикация.

Свинцовая интоксикация приводит к росту уровня общего Ca^{2+} в сыворотке крови на 35,63%, при этом доля ионизированной формы металла также увеличивается на 30,55%, что объясняется антагонизмом свинца и кальция за акцепторные места в клетках. При этом уровни общего и ионизированного Mg^{2+} наоборот снижались в опытной группе соответственно на 32,41%

Содержание общей и ионизированной форм кальция и магния в сыворотке крови пациентов со свинцовой интоксикацией

Группы обследованных	Формы химических элементов	Кальций (ммоль/л)	Магний (ммоль/л)
Контрольная	Общая	1,74 ± 0,08	1,08 ± 0,02
	Ионизированная	1,08 ± 0,02	0,85 ± 0,07
Опытная	Общая	2,36 ± 0,21*	0,73 ± 0,02*
	Ионизированная	1,41 ± 0,06*	0,68 ± 0,02*

и 20% по сравнению с контролем. Избыточное содержание двухвалентных катионов – свинца и кальция, оказывает конкурентное воздействие на процессы взаимодействия магния с белками [5, 6], поэтому наблюдался низкий уровень форм магния в сыворотке крови испытуемых.

Были изучены уровни содержания общей и ионизированной форм Ca^{2+} и Mg^{2+} в слюне пациентов с диагнозами полинейропатия и остеопороз.

У пациентов с полинейропатией часто одним из клинических признаков заболевания является снижение концентрации магния в сыворотке крови [4-6]. Магний-ион с четкими нейро-седативными свойствами, способствует нормализации состояния центральной и периферической нервной системы, нервно-мышечной проводимости. Этот элемент своего рода при-

родный изоляционный материал на пути проведения нервного импульса. Он стимулирует образование белков, регулирует хранение и высвобождение АТФ, снижает возбуждение в нервных клетках. Исследованиями [7, 9, 22] было показано, что синтез ацетилхолина в нервной ткани возможен только в присутствии ионов магния. Поэтому исследование содержания форм макроэлементов в слюне пациентов с полинейропатией представляет интерес. Наблюдали увеличение содержания общего и ионизированного Ca^{2+} в слюне пациентов с полинейропатией соответственно на 48% и на 16,36% по сравнению с контролем (см. табл. 4).

В тоже время уровни общей и ионизированной форм Mg^{2+} снижались соответственно на 47,86% и 37,93%. Выявленные разнонаправленные изменения форм Ca^{2+} и Mg^{2+} свидетельствуют о том, что расстройства вегетативной нервной системы могут, сопровождаются не только нарушениями энергетического обмена, но и изменениями трансмембранного транспорта ионов, в первую очередь магния [7, 16, 30].

Остеопороз – заболевание, которое характеризуется избыточным разрушением органических и минеральных частей костной ткани и потерей кальция. Первичный остеопороз связан с возрастом и снижением продукции половых гормонов. Вторичный

Таблица 4

Содержание общей и ионизированной форм кальция и магния в слюне пациентов с полинейропатией

Группы обследованных	Формы химических элементов	Кальций (ммоль/л)	Магний (ммоль/л)
Контрольная	Общая	1,0 ± 0,13	1,17 ± 0,17
	Ионизированная	0,55 ± 0,07	0,58 ± 0,13
Опытная	Общая	1,48 ± 0,21*	0,56 ± 0,02*
	Ионизированная	0,64 ± 0,06	0,22 ± 0,13*

Таблица 5

Содержание общей и ионизированной формы кальция и магния в слюне пациентов с остеопорозом

Группы обследованных	Формы химических элементов	Кальций (ммоль/л)	Магний (ммоль/л)
Контрольная	Общая	1,01 ± 0,33	1,17 ± 0,17
	Ионизированная	0,55 ± 0,07	0,58 ± 0,13
Опытная	Общая	0,83 ± 0,21	1,31 ± 0,02
	Ионизированная	0,61 ± 0,06	0,65 ± 0,02

обусловлен нарушениями работы щитовидной и паращитовидной желез, влиянием ксенобиотиком и др. факторами [13,16,32]. При этом на практике определение общего Ca^{2+} и Mg^{2+} не всегда является эффективным в клинической диагностике заболевания [14,31]. В связи с этим часто возникает необходимость мониторинга ионизированного кальция в сыворотке крови, что усложняет задачу. Учитывая, что соотношение форм кальция и Mg^{2+} в сыворотке крови и слюне одинаково, приемлемым может быть определение ионизированных форм элемента в слюне. Кроме того, представляло интерес изучить возможность использования данного субстрата для оценки содержания общего и ионизированного Ca^{2+} и Mg^{2+} у пациентов с диагнозом остеопороз, так как известно, что гомеостаз Ca^{2+} в костной ткани поддерживается гормонами щитовидной железы: паратгормоном, который уменьшает его выведение почками и кальцитонином, который увеличивает экскрецию элемента. Полученные результаты представлены в таблице 5. Выявлены разнонаправленные изменения уровней общего (снижение на 17,83 %) и ионизированного Ca^{2+} (увеличение на 10,90%) в слюне пациентов с остеопорозом. При этом уровни общего и ионизированного Mg^{2+} возрастали соответственно на 11,96% и 12,07%.

Полученные результаты свидетельствуют об антагонизме изучаемых элементов с одной стороны, а с другой - о дефиците общего уровня кальция и избытке его ионизированной формы. Рост ионизированной формы кальция может способствовать усилению эффекта физиологического действия паратгормона направленного на восстановление костной ткани [13-14, 30-33], что является благоприятным фактом в динамике заболевания.

В целом, полученные результаты свидетельствуют о том, что использованный способ подготовки проб сыворотки крови и слюны для ПААС определения ионизированных форм кальция и магния соответствует данным литературы и может быть использован как дополнительный маркер

при оценке функционального состояния организма. Кроме того, определение ионизированного кальция и магния в слюне дает определенные преимущества в клинической и эпидемиологической практике, когда стоит необходимость отбора большого объема биоматериала и длительного мониторинга за состоянием здоровья человека.

Выводы

1. Выявленные отклонения от оптимального уровня форм макроэлементов в сыворотке крови и слюне у испытуемых контрольной группы статистически достоверны и свидетельствуют о том, что использованный способ подготовки проб для ПААС определения форм кальция и магния соответствует данным литературы.
2. Обнаруженные отличия в содержании форм Ca^{2+} и Mg^{2+} в сыворотке крови пациентов с артериальной гипертензией и свинцовой интоксикацией и ионизированных форм Ca^{2+} и Mg^{2+} в слюне пациентов с полинейропатией и остеопорозом подтверждают их информативную значимость при оценке данных заболеваний.
3. Предлагаемая модификация метода определения ионизированной формы кальция и магния в сыворотке крови и слюне может быть использована при оценке функционального состояния организма. Кроме того, определение ионизированных форм Ca^{2+} и Mg^{2+} в слюне может быть использовано как дополнительный диагностический маркер при проведении эпидемиологических исследований.

Литература

1. Основы физиологии/Под ред. П.Стерки.-М.:Мир.-1984.-556с.
2. Физиология человека/Под ред. Р.Шмидта и Г.Тевса.-М.:Мир.-1986.-Т.4.-312с.
3. Человек. Медико-биологические данные. Доклад рабочей группы комитета II МКРЗ по условному человеку.- М.:Медицина.-1977-496с.

4. Коновалова С.О. Сравнение информативности изучения различных биосубстратов для мониторинга минерального обмена//Укр.биохим.журн.-2002.-Т.4.-№4а.-С.145-146.
5. Очерки возрастной токсикологии./под ред. Трахтенберга И.М.-К.:„Авиценна.”- 2006.-316с.
6. Руководство по клинической лабораторной диагностике. Ч.3. Клиническая биохимия/Под ред М.А.Базарновой.- К.:Вища школа.- 1990.-319с.
7. Кудрин А.В., Громова О.А. Микроэлементы в неврологии.-М:ГЕОТАР-Медиа.- 2006.-204 с.
8. Ярмагомедов А.А., Матерова Е.А., Колосов И.В. Экспресс-метод определения ионизированного кальция в сыворотке и цельной крови//Лаб.дело-1978.-№9.-С.552-556.
9. Физиология и патология слюнных желез. Учебно-методическое пособие/ под ред. Т.Н. Радышевской.- Волгоград.- 1998.-14с.
10. Kowalczyk K., Stryjecka-Zimmer M., Bachanek T., Nakonieczna-Runicka M. The level of magnesium and calcium in the saliva of patients with dental caries/ /Polish. J. Environ. stud..-2007.-V.16.- №3A.-P.147-150
11. Заболотский Д.В., Кулев А.Г. Кальций, магний, фосфор в организме человека/Лекции Петербургской педиатрической академии.Санкт-Петербург.- 2007.- 60с.
12. Верещагина Г.С., Касатова Т.Б., Малышева Н.В., Постникова С.Л. Магний и сердечно-сосудистые заболевания// Реаниматолог.- 2006.- №2.-С.36-42.
13. Тупякова О.В. Содержание макроэлементов в сыворотке крови в зависимости от стадии и степени поражения сегментарного и нервно-мышечного аппарата на фоне остеохондроза позвоночника// Врач-аспирант – науч.-практ. журн.-2006.-№4.-С.52-56.
14. Мельниченко Е.А. Роль кальциево-магниевого взаимоотношения в организации циркадианных ритмов уровня адреналина в крови и показателей вариационной пульсометрии в условиях гипо- и гиперпаратиреоза (экспериментальное исследование). Автореф. дис.... канд..мед.наук.- Саратов.- 2008.-25с.
15. Лоскутова Т.О. Прогнозування і профілактика гестаційної артеріальної гіпертензії та пре еклампсії у вагітних із високим ризиком її розвитку. Автореф. дис.... канд.мед.наук.-Донецьк.- 2004-32с.
16. Kisters K., Wessels F., Tokmak F., et al Age-dependent increased calcium and decreased magnesium concentrations and increased calcium/magnesium ratio in SHR versus WKY: relation to atherosclerosis//5th Inter symp. of Trace elements in human: new perspectives, part II Athens Grece.-2005-P. 268-271.
17. Wieleba E., Pasternak K., Brzozowski I., Dardinska I., Kotowska I. Changes in serum and erythrocytary magnesium concentrations in sportsmen after physical exercise//Biul.magnezol.-2001.-Т.3.-№6.-P.396-404.
18. Makara-Studzinska M., Morolowska J., Buczyjan A. The importance of magnesium in the pathogenesis and treatment of depression – literature review//Polish J. of environ.stud.-2008.-v.17.-№1B-P.98-100.
19. Прайс В. Аналитическая атомно-абсорбционная спектроскопия.-М.: Мир.- 1976.-282с.
20. Атлас сканирующей микроскопии клеток, тканей и органов/под ред. Волковой О.В., М.:Медицина.-1987.-464с.
21. Sighinolfi G.P.,Gordonni C.,Bonori O.et al Comprehensive determination of trace elements in human saliva by ETA-AAS// Microchim.Acta.-1989.-№1.-P.171-179.
22. Титов В.Н. Диагностическое значение определения магния в сыворотке крови//Клин.лаб диагн.-1995.-№2.-С.3-7.
23. Андрусина И.М. Спосіб визначення небілкового кальцію в сироватці крові

- /Інформаційний листок №047-07.- К.- 2007.-3с.
24. Антомонов М.Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных.- К.- 2006.-558с.
 25. Педанов Ю.Ф. Лабораторные показатели нормы взрослого человека (Справочник). Одесса.- 1992.-123с.
 26. Семенов Н.В. Биохимические компоненты и константы жидких сред и тканей человека (Справочник). М.:Медицина.- 1971.-152с.
 27. Хмелевский Ю.В., Усатенко О.К. основные биохимические константы человека в норме и при патологии.- К.:Здоров'я.- 1984.-120с.
 28. Печенникова Е.В., Вашкова В.В., Можяев Е.А. О биологическом значении микроэлементов//Гиг. и сан.-1997.- №4.-С.41-43.
 29. Kisters K., Hoffman O., Hausberg M., et al Plasma magnesium deficiency is correlated to pulse pressure values in essential hypertension – influence of a metabolic syndrome//5th Inter symp. of Trace elements in human: new perspectives, part II Athens Grece.- 2005.-P. 180-182.
 30. Hunter R. Physico-chemical basics of the Ca/Mg antagonism//5th Inter symp. of Trace elements in human: new perspectives, part II Athens Grece.- 2005.-P. 420-422.
 31. Rzymowska J., Ziąja-Soltys M., Barczak J., Grzybowska-Szatkowska L. The influence of therapy on metabolism of chosen elements in women with breast cancer//Polish J., of environ.stud.-2008.- V.17.- №1B-P.123-126.
 32. Начаров Ю.В., Мельников В.А., Мельников В.И. Особенности состояния минерального обмена в ротовой полости женщин с постменопаузальным остеопорозом в динамике дентальной имплантации//Стоматология-2007.- Т.7.- С.551-557.
 33. Завьялова Г.В., Кахри И.Ш. Изменение электролитического состава слюны

как показатель воздействия экологических факторов на организм школьников//Поволж.экол.вестн.- 1998.- №5.-С.319-322.

Резюме

ВИЗНАЧЕННЯ ФОРМ КАЛЬЦІЮ ТА МАГНІЮ У СИРОВАТЦІ КРОВІ ТА СЛИНІ ЛЮДИНИ МЕТОДОМ ААС ТА ЇХ ДІАГНОСТИЧНЕ ЗНАЧЕННЯ У КЛІНІЦІ

Андрусишина І.М.

У статті представлено результати досліджень форм кальцію та магнію у сироватці крові та слині людини при різних фізіологічних станах. За допомогою методу атомно-абсорбційної спектрофотометрії вивчено рівні загального вмісту кальцію та магнію у біосубстратах та рівні небілкової фракції цих елементів. Показана інформативність визначення форм кальцію та магнію у сироватці крові та слині при різних патологічних станах.

Summary

DETERMINATION FORMS CALCIUM AND MAGNESIUM IN HUMAN SERUM BLOOD AND SALIVA BY AAS METHOD AND THEIR DIAGNOSTIC VALUES IN CLINIC

Andrusishina I.N.

The results of studies form calcium and magnesium in human serum blood and saliva in various physiological conditions are presented in the article. Using the method of atomic-absorption spectrophotometry the age and daily fluctuations in the content of Ca²⁺ and Mg²⁺ in the serum blood and saliva have been studied. The levels of non albumin fractions of these elements have been found. The information significance of determination of calcium and magnesium levels in human serum blood and saliva under various pathological conditions is shown.

Впервые поступила в редакцию 02.04.2009 г. Рекомендована к печати на заседании учёного совета НИИ медицины транспорта (протокол № 2 от 09.04.2009 г.).