

# СУЧАСНІ ПІДХОДИ ЩОДО СТАТИСТИЧНОЇ ОБРОБКИ РЕЗУЛЬТАТІВ ЕПІДЕМІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ ПРИ ВИЗНАЧЕННІ МАКРО- ТА МІКРОЕЛЕМЕНТІВ І ТОКСИЧНИХ РЕЧОВИН В ОРГАНІЗМІ ЛЮДИНИ

**С.В. Гуньков, М.Г. Проданчук доктор мед. наук, член-кор. НАМН України, Г.М. Проданчук кандидат мед. наук, Н.М. Бубало, В.О. Вихор**  
ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І.Медведя МОЗ України», м. Київ

***Alle Dinge sind Gift und nichts ist ohne Gift,  
Allein die Dosis macht es, dass ein Ding kein Gift ist.***

*Всі речовини є отрутою і ніщо не позбавлено отруйності, тільки лише доза робить отруту непомітною.*

***Paracelsus, dritte defensio, 1538***

**РЕЗЮМЕ.** Оцінка рівнів макро- та мікроелементів має здійснюватися тільки на підставі популяційних показників. Обґрунтовано необхідність використання статистичних методів обробки результатів з визначенням медіани, як більш стійкого показника до аномальних відхилень. Для визначення рівнів недостатнього споживання макро- та мікроелементів чи підвищеного рівня експонування населення необхідно використовувати методик визначення показників крайніх процентилів. Визнано доцільним розробку і використання референтних значень для кожної сертифікованої лабораторії, що дозволить уникнути розбіжностей при використанні різних методик. Авторами запропоновано використання показника кратності медіани (МоМ) для уніфікації показників різних лабораторій і створення єдиних нормативів і рекомендацій.  
**Ключові слова:** статистична обробка, визначення макро- та мікроелементів, токсичні речовини.

Стрімкий розвиток цивілізаційних процесів справляє величезний вплив на навколишнє середовище. Це позначається на багатьох аспектах життя людини, природі, соціальних і економічних процесах. У цьому ланцюгу трансформації особливе місце посідає харчування людини, що безпосередньо впливає на внутрішнє середовище, змінюючи його. Разом з корисними речовинами, такими як макро- та мікроелементи, в організм людини потрапляють токсини. Поява сучасних методів дослідження відкрила нові можливості щодо визначення рівня експонування, межі токсичного впливу, а також уніфікації лабораторних методик та багато ін.

**Метою** проведеної роботи була спроба дати оцінку можливості, доцільності та перевагам статистичної обробки результатів токсикологічних досліджень з використанням показників медіани та процентилів.

**Матеріали і методи.** Проведений аналіз діючих нормативних документів ВООЗ та інших провідних організацій світу в галузі безпеки здоров'я людини. Отримана інформація була узагальнена. Результати лягли в основу статистичної обробки власних досліджень по визначенню вмісту міді в сироватці крові жінок репродуктивного віку методом мас-спектрометрії з індуктивно-зв'язаною плазмою.

Статистична обробка результатів досліджень виконана в програмі Statistica 6.0.

У багатьох країнах проводяться численні дослідження вмісту макро- та мікроелементів та токсичних речовин в організмі людини в різних субстратах. На жаль, дослідження, виконані в різних країнах, регіонах, лабораторіях, показали, що нерідко отримані результати можуть відрізнятися в десятки і навіть у сотні разів. Навіть у межах однієї держави часто-густо спостерігаються істотні відмінності в показниках (рис. 1) (1). До цього часу відсутні дані про допустимі дози і концентрації цих речовин в організмі. Немає єдиної думки щодо меж їхньої токсичності. Внаслідок використання різних методичних підходів, лабораторного обладнання, реактивів спостерігаються широкі межі коливань показників макро- та мікроелементів у різних субстратах, що робить проблематичним порівняння показників та їхню інтерпретацію (2).

Подальші дослідження довели, що на рівень вмісту макро- та мікроелементів і токсичних речовин в організмі істотно впливають не лише місце проживання, а й вікові, статеві, етнічні відмінності, особливості харчування тощо. В такій ситуації терміни «норма вмісту» чи «умовна норма» фактично втратили сенс.

З великою проблемою зіткнулись і науков-

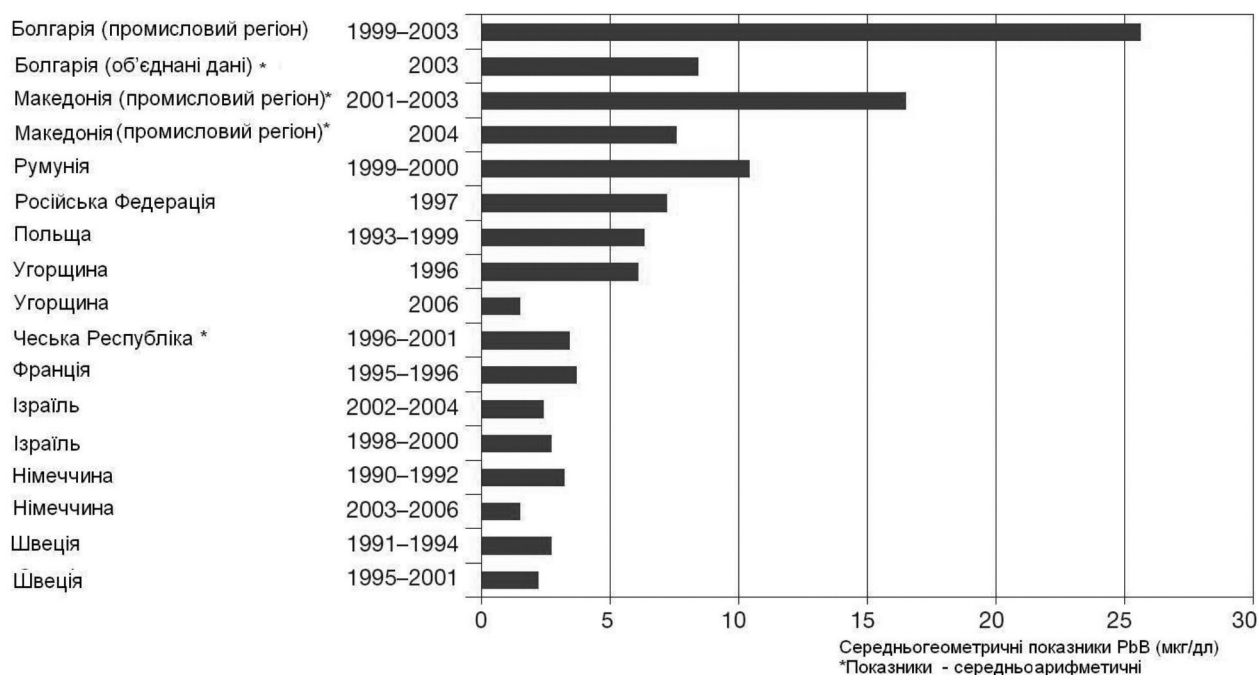


Рис. 1. Середні рівні свинцю в крові дітей (PbB), в окремих європейських державах, 1991-2006 рр (роки дослідження) [1]

ці. З'ясувалося, що в межах популяції спостерігається розподіл показників у широкому діапазоні, вони можуть відрізнятися більше ніж у десятки разів. Після обрахунку середніх показників похибка становить 30% або навіть майже 50%, що ускладнювало проведення порівняльного аналізу. Крім того, одержані результати далеко не завжди відображали популяційні особливості.

Ще більше складнощів відчувають клініцисти. Оскільки на вміст макро- та мікроелементів і токсичних речовин впливають численні фактори, в тому числі й місце проживання, що значно ускладнює однозначну інтерпретацію результатів, отриманих з різних регіонів. До цього слід додати відмінності методик, які використовуються в лабораторіях, повну плутанину стосовно «умовних норм», інших модифікацій цього терміну та існування кількох десятків одиниць вимірювання, які застосовуються в різних лабораторіях і нарешті — відсутність чітких критеріїв визначення токсичної концентрації речовини.

Серед субстратів для дослідження частіше використовується кров, плазма або сироватка і сеча. Значно рідше використовується волосся, грудне молоко або біоптати тканин. Вибір субстрату пов'язаний з метою дослідження, особливостями метаболізму речовин, а також методом дослідження, який буде застосовано (2). Показники мікроелементів у крові та сироватці в деяких випадках можуть відрізнятися як в бік збільшення концентрації, так і навпаки — істотного зменшення (3). На нашу думку,

вибираючи субстрат, варто враховувати стан організму, оскільки при деяких захворюваннях виникає гемоліз крові, який є складовою патофізіологічного процесу. Саме тому при вивченні патологічних станів у багатьох випадках краще використовувати сироватку крові, а при епідеміологічних дослідженнях — кров.

Нині не існує єдиного правила подання та оцінки результатів дослідження макро- та мікроелементів і токсичних речовин. За даними літератури, в різних статтях наводяться різноманітні методи статистичної обробки. Найчастіше зустрічаються обрахунки середнього показника і порівняння його з «умовною нормою». Щоправда, обрахунок середнього показника групи нерідко супроводжується великою похибкою. Такі правила статистичної обробки частіше мають місце у статтях науковців з країн колишнього СНД та в наукових працях, датованих більш раннім періодом.

В останні роки в літературі все частіше для оцінки вмісту макро- та мікроелементів і токсичних речовин в організмі людини, замість середнього показника, застосовують визначення медіани. На відміну від середнього показника, який враховує всі цифрові показники вибірки, медіана ділить весь статистичний ряд на дві рівні частини. Застосування показника медіани є доцільним при асиметричному розподілі вибірки, оскільки медіана є більш стійкою до аномальних відхилень.

У 2001 році Центр по контролю і профілактиці захворювань США (CDC) підготував перший Національний звіт, який містив інформа-

цію про рівень 27 хімічних сполук, які були визначені в організмі населення США. Цей перелік включав деякі метали, метаболіти фосфорорганічних пестицидів, фталатів та інш (4). З кожним новим звітом збільшувалася кількість досліджуваних речовини. Останній, четвертий звіт, містить інформацію про 184 хімічні сполуки. Наведені в звітах статистичні результати представлені у вигляді двох показників: середньогеометричних показників і (10, 25, 50, 75, 90, та 95) процентилів, у тому числі й медіани (50-й процентиль) (5). Агенція з охорони навколишнього середовища США (EPA) для оцінки досліджень з біомоніторингу токсичних речовин наводить свої результати у вигляді медіани і 95-го процентіля (6).

Критерії визначення допустимих норм макро- і мікроелементів, підвищеного рівня експонування, біодоступності, токсичності стали зрозумілими після публікації ВООЗ у 1996 році рекомендацій щодо споживання макро- та мікроелементів та їхнього впливу на здоров'я людини (7). Саме тоді було зазначено, що застосування терміну «безпечний» рівень споживання мікроелементів, визначений для середньостатистичної людини, не відображає потреби всього населення. Саме тоді був зроблений висновок щодо необхідності зміщення акценту від окремого індивідуума до групи населення, саме тому з'явилися два рівні потреб мікроелементів – базальний і нормативний. Перший рівень відповідає мінімальному рівню для забезпечення життєдіяльності організму, другий рівень – це бажаний, який забезпечує достатнє накопичення мікроелементів в депо для забезпечення резервів.

На прикладі споживання цинку ВООЗ була показана методика обрахунку безпечного споживання мікроелементів (7). У конкретному випадку наведено діаграму розподілу ймовірностей ризику в разі недостатності споживання та за надлишку споживання цинку (ризик для людини). Всі ці різновиди розподілу можна вважати безпечними для середнього споживання населенням (рис. 2).

Емпіричним шляхом доведено, що при такому споживанні приблизно 2-3 % матимуть рівень споживання цинку нижче базального і 2-3% – вище межі теоретичного токсичного впливу (при цьому враховуються небажані ефекти цинку з іншими речовинами). Фактично було визнано доцільність використання мінімальних прийнятних та допустимих максимальних рівнів токсичності. Отже, крайні показники мінімального і максимального рівнів споживання є досить умовними. Межею критичних значень було визнано крайні діапазони 2-3 % популяційних показників (застосовуючи статистичну методику з визна-

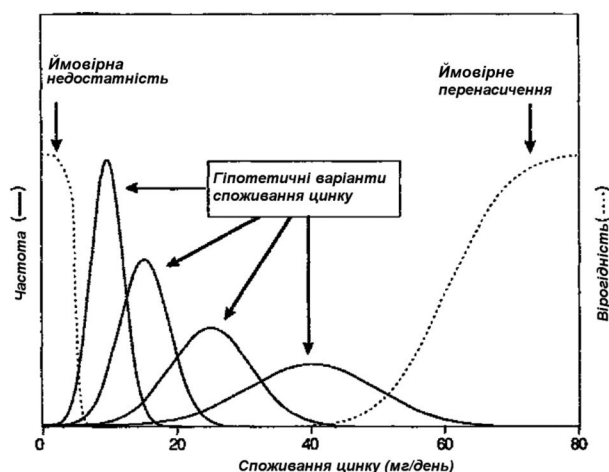


Рис. 2. Концепція безпечного діапазону середнього споживання населенням цинку (7)

ченням медіан – це 2-3 крайні процентилі). Використання цієї моделі пояснює причини розбіжності вмісту мікроелементів у різних регіонах, а також відхилення в показниках серед певних груп населення тощо.

За останні роки істотних змін зазнало трактування визначення потенційно токсичної концентрації речовини. В звітах CDC зроблено спробу застосування методики оцінки можливого ризику токсичних речовин, виходячи з показників їхнього розподілу в популяції. Для прикладу наведемо дані щодо вмісту свинцю в крові у дітей.

До недавнього часу застосовувався термін "рівень стурбованості", який був визнаний на рівні 10 або більше мікрограмів на децилітр свинцю в крові дітей 1-5 років. Замість нього було визнано доцільним застосування терміну "референтне значення". Перевищення референтного рівня означає: дитина зазнала впливу свинцю і вимагає підвищеної уваги з боку батьків, лікарів, працівників системи охорони здоров'я та органів влади. Отже, необхідно вжити заходів, щоб у майбутньому знизити рівень експонування. Нині в США запропоновано використовувати референтний рівень – 5 мікрограмів на децилітр для виявлення дітей з підвищеним рівнем свинцю в крові. Цей новий рівень був визначений як підвищений і спостерігався у 2,5% дитячого населення США віком від 1-5 років при обстеженні на наявність свинцю в крові. Це референтне значення відповідає 97,5 процентіля розподілу свинцю в крові у дітей за показниками Національної програми перевірки здоров'я і харчування (NHANES). У подальшому CDC обіцяє оновлювати референтне значення кожні чотири роки (8). Показник для проведення дезінтоксикації було визначено на рівні 45 мкг/дл.

Безумовно, прив'язка гранично допустимих концентрацій мікроелементів і токсинів до популяційного рівня та впровадження процентилів у систему оцінки отриманих даних дозволило суттєво систематизувати дані про підвищений рівень експонування і безпечні для населення показники. Це допомогло більш чітко визначати граничні норми токсичних речовин. Але залишилось невирішеним питання уніфікації показників при застосуванні лабораторіями різних методик та одиниць вимірювання, що дозволило б лікарям і фахівцям різних закладів, різних регіонів працювати в єдиному нормативному полі.

На початку 80-х років з такою проблемою зіткнулися фахівці при проведенні біохімічного пренатального скринінгу. На той час рівень альфа-фетопротеїну ( $\alpha$ -ФП) в крові визначався різними методиками, застосовувалися різні варіанти одиниць вимірювання. Виявилось, що існують вікові, етнічні особливості, крім того, рівень білка змінювався в залежності від терміну вагітності. Уніфікація цих результатів відкривала реальну можливість діагностувати генетичні захворювання і аномалії на ранніх термінах вагітності. Саме тоді була запропонована методика обчислення з використанням показника кратності медіани (MoM, "Multiples of the [normal population] Median") (9).

MoM – коефіцієнт, який визначає ступінь відхилення значення показника окремого індивідуума від показника медіани популяції. Для розрахунку MoM використовують формулу:

$$\text{MoM} = N : \text{Me}$$

де N – значення показника;  
Me – медіана показників популяції.

У відповідності з прийнятими рекомендаціями в основу розрахунку показника покладено медіану значень  $\alpha$ -ФП в популяції, яка дорівнює 1 MoM. Показник конкретної людини співвідноситься з медіаною значень конкретної лабораторії та представляється у вигляді коефіцієнта співвідношення (без застосування одиниць виміру, прийнятих у лабораторії, наприклад, – 5 MoM). Кожна лабораторія самостійно розробляє власні статистичні дані з урахуванням прийнятих внутрішніх методик. У випадку, коли серед відвідувачів лабораторії є достатня кількість представників різних рас, то рекомендується вести окрему статистику, оскільки існують расові відмінності кількості  $\alpha$ -ФП.

В усьому світі лікарі, які займаються пренатальним скринінгом, знають, що незалежно від терміну вагітності, держави, де було виконано дослідження, припустимий діапазон  $\alpha$ -ФП знаходиться в межах 0,8- 2,0 MoM (рис. 3).

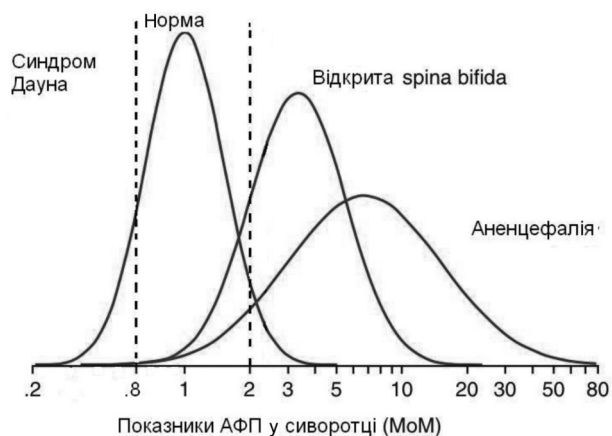


Рис. 3. Алгоритм оцінки рівня  $\alpha$ -ФП

Використання цього показника дозволяє повністю нівелювати відмінності методик, які застосовуються різними лабораторіями, позбутися плутанини, використовуючи різні одиниці вимірювання, уникнути популяційних відмінностей в абсолютних чи середніх показниках. При виявленні показників, які виходять за зазначений діапазон, проводять детальне обстеження.

Тепер спробуємо застосувати показник MoM щодо рекомендацій СДС. Медіана свинцю в крові дітей 1-5 років – 0,970 мкг/дл, референтний рівень – 5 мкг/дл (8).

$$5 \text{ мкг/дл} : 0,970 \text{ мкг/дл} = 5,15 \text{ MoM}$$

Виходячи зі звіту ВООЗ про вміст свинцю в крові дітей європейських країн (2), стає зрозумілим, що використання референтного рівня свинцю в крові дітей, визначеного CDC у межах 5 мкг/дл – є абсолютно неможливим для мешканців Болгарії, Македонії чи Румунії, де середньогеометричні показники в окремих регіонах знаходяться близько позначок 25 мкг/дл, 17 мкг/дл, 11 мкг/дл відповідно (рис. 1). Звичайно, в цій ситуації більш коректним і зрозумілим для лікарів буде показник, наприклад в 5 MoM.

Таким чином, для статистичної обробки результатів при проведенні епідеміологічних досліджень з визначення макро- та мікроелементів і токсичних речовин доцільне використання методики визначення популяційних медіан і процентилів. Для виявлення осіб, які зазнали підвищеного рівня експонування тими чи іншими речовинами, необхідно проводити порівняння лабораторних результатів з показниками популяції та визначенням показника кратності медіани – MoM. Для визначення ризику інтоксикації конкретної людини варто враховувати інші фактори (вміст других речовин, паління, вагу, вік, особливості харчування тощо).

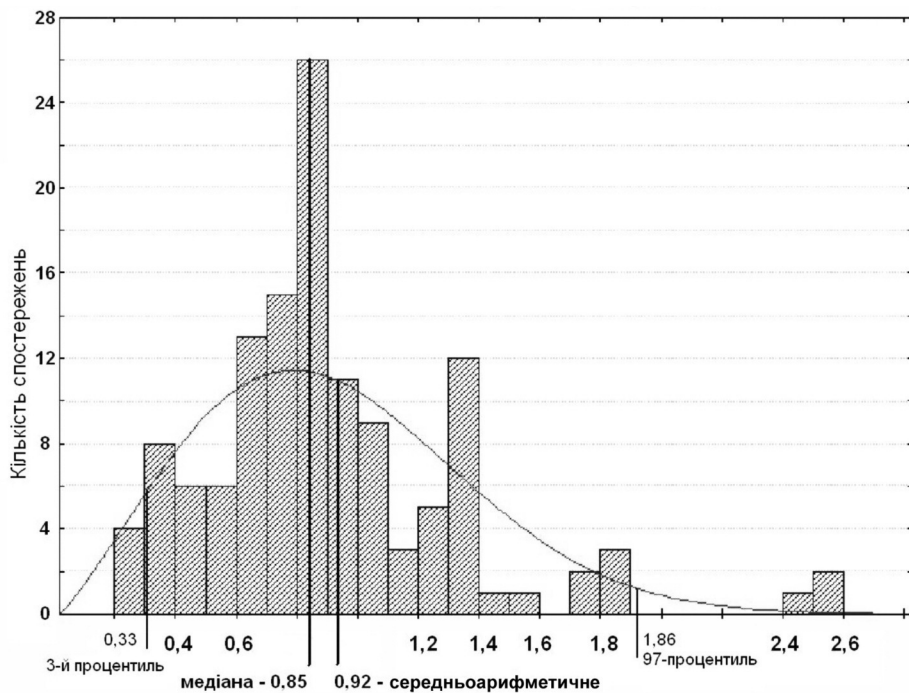


Рис. 4. Концентрація міді в сироватці крові (мг/л)

**Результати досліджень та їх обговорення.** На результатах наших досліджень ми спробували перевірити доцільність використання статистики зі застосуванням медіан, процентилів та показників кратності медіани. Для дослідження були взяті 90 зразків сироватки крові жінок репродуктивного віку. Методом мас-спектрометрії з індуктивно-зв'язаною плазмою проводили визначення вмісту міді в сироватці крові. При проведенні статистичної обробки ми визначали середньоарифметичне значення, медіану та 3-й і 97-й проценти. Як видно з рис. 4, ми отримали асиметричний розподіл показників.

Середньоарифметичний показник становив — 0,92 мг/л, медіана — 0,85 мг/л. Таким чином, середньоарифметичний показник змістився праворуч відносно медіани, що пов'язано з асиметричним розподілом отриманих результатів. Саме за рахунок зразків з показниками в діапазоні 2,4 — 2,6 мг/л відбулося зміщення середньоарифметичного показника. Показник медіани розташований в межах групи з найбільшою репрезентативністю. Таким чином, показник медіани виявився більш стійким до аномальних відхилень.

Якщо припустити, що 3-й і 97-й проценти є критичними, то всі значення нижче 0,33 мг/л можна асоціювати з низьким рівнем споживання, а всі показники вище за 1,86 мг/л можуть свідчити про надмірний рівень експонування порівняно з показниками популяції.

Тепер спробуємо визначити критичні значення показників кратності медіани (MoM). Показник медіани становить 0,85 мг/л, вибра-

ні нами 3-й і 97-й проценти — 0,33 мг/л та 1,86 мг/л відповідно.

$$\text{MoM}_{\min} = 0,33:0,85 = 0,39$$

$$\text{MoM}_{\max} = 1,86:0,85 = 2,19$$

Таким чином у наших дослідженнях показники вмісту міді в сироватці крові в діапазоні 0,33 — 1,86 мг/л є популяційною нормою, що відповідає 0,39 — 2,19 MoM.

Наведені нами результати досліджень є прикладом лише для запропонованого методу статистичної обробки результатів і не відображають популяційної норми, оскільки потребують значно більшої вибірки з різних груп населення, а застосований нами 3% діапазон потребує уточнення згідно зі світовим досвідом.

### Висновки

1. Відмова від середніх показників при проведенні епідеміологічних досліджень і визначення популяційних медіан — вимог часу.

2. При аналізі індивідуальних показників макро- та мікроелементів і токсичних речовин необхідно їх оцінювати відносно показників популяції населення конкретного регіону.

3. Методики, реактиви, обладнання, які використовуються в лабораторіях, можуть істотно впливати на кінцеві показники, що ускладнить їхню інтерпретацію. Саме тому доцільним є ведення популяційної статистики в кожній сертифікованій лабораторії.

4. Застосування показника кратності медіани (MoM) при оцінці показників макро- та

мікроелементів і токсичних речовин дозволить, з одного боку, нівелювати відмінності показників лабораторій, регіональні особливості та уникнути застосування численних варіантів одиниць вимірювання, що використовуються в лабораторіях, а з іншого — дозволить лікарям виробити єдині критерії оцінки референтних значень результатів, які не зале-

жатимуть від регіональних, статевих, расових особливостей.

5. Показник кратності медіани дозволить виявляти населення з підвищеним рівнем експонування. Визначення ймовірності інтоксикації необхідно проводити на підставі мультифакторного аналізу.

## ЛІТЕРАТУРА

1. WHO (2007). Blood lead levels in children. Copenhagen, World Health Organization Regional Office for Europe. European Environment and Health Information System (Fact Sheet No. 4.5) [http://www.enhis.org/object\\_document/o4738n27387.htm](http://www.enhis.org/object_document/o4738n27387.htm)
2. Андрусишина І.М. Порівняльна оцінка спектральних методів визначення макро- та мікроелементів у біосередовищах людини / І.М. Андрусишина, О.Г. Лампека, І.О. Голуб // Актуальні проблеми транспортної медицини. — 2009. — № 4. — С 75–83.
3. Relationships between trace element concentrations in human blood and serum / Barany E.I., Bergdahl I.A., Bratteby L.E. [et al.]. — Toxicol Lett. — 2002 Aug 5; 134(1-3): 177–184
4. Centers for Disease Control and Prevention. National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals. — Atlanta. — March 2001.
5. CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2015. Fourth national report on human exposure to environmental chemicals (updated tables). — Atlanta. — GA 30341-3724.
6. U.S. Environmental Protection Agency. 2013. America's Children and the Environment, Third Edition (ACE3). EPA 240-R-13-001. — January 2013
7. FAO/WHO/IAEA.Trace Elements in Human Nutrition and Health. World Health Organization, Geneva, Switzerland. — 1996.
8. CDC's Childhood Lead Poisoning Prevention Program <http://4v.vw.cdc.gov/7nceh/lead./about/program.htm>
9. Maternal serum alpha-fetoprotein measurement in antenatal screening for anencephaly and spina bifida in early pregnancy / N.J. Wald, H. Cuckle, J.H. Brock [et al.] // Report of U.K. collaborative study on alphafetoprotein in relation to neural tube defects//Lancet 1977. — 1. — 1323-1332.

### СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ В СТАТИСТИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПРИ ОПРЕДЕЛЕНИИ МАКРО- И МИКРОЭЛЕМЕНТОВ И ТОКСИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ

С.В. Гуньков, Н.Г. Проданчук, Г.Н. Проданчук, Н.Н. Бубало, В.О. Выхор

**Резюме.** Оценка уровней макро- и микроэлементов должна осуществляться только на основании популяционных показателей. Обоснована необходимость использования статистических методов обработки результатов с определением медианы, как более устойчивого показателя к аномальным отклонениям. Для определения уровней недостаточного потребления макро- и микроэлементов или повышенного уровня экспонирования населения необходимо использовать методику определения показателей крайних процентилей. Признано целесообразным разработку и использование референтных значений для каждой сертифицированной лаборатории, что позволит избежать разногласий при использовании различных методик. Авторами предложено использование показателя кратности медианы (ММ) для унификации показателей различных лабораторий и создание единых нормативов и рекомендаций.

**Ключевые слова:** статистическая обработка, исследования макро- и микроэлементов, токсические вещества.

### NEW APPROACHES TO THE STATISTICAL PROCESSING THE RESULTS IN EPIDEMIOLOGICAL STUDIES TO DETERMINE TRACE ELEMENTS AND TOXIC SUBSTANCES

S. Gun'kov, M. Prodanchuk, G. Prodanchuk, N. Bubalo, V. Vykhor

**Summary.** Given reasons for usage of statistical methods with median definition for processing results as a more stable indicator to abnormal deviations. Evaluation of insufficient consumption of trace elements or increased level of exposure, should base on population levels and estimated by method of determining the rate if extreme percentiles.

It was deemed expedient development and use of reference values for each certified laboratory, in order to avoid differences in the use of various methods.

Authors proposed to use MoM (Multiples of the [normal population] Median) indicators for the unification of the data from various laboratories and the establishment of common standards and recommendations.

**Key words:** statistical processing, toxic substances.

Надійшла до редакції 29.05.2015 р.