

ФАРМАЦИЯ

ЭКСПРЕСС-ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ ЦИНКА И ЖЕЛЕЗА В ВОЛОСАХ ЧЕЛОВЕКА МЕТОДОМ РЕНТГЕНОФЛУОРЕСЦЕНТНОГО АНАЛИЗА

Т.В. Максимова, Т.В. Плетенева, П.И. Попов

Кафедра фармацевтической и токсикологической химии
Медицинский факультет
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Макля, 8, Москва, Россия, 117198

И.С. Лузанова

Бюро судебно-медицинской экспертизы
Департамента здравоохранения г. Москвы
пер. Сивцев-Вражек, 12, Москва, Россия, 121002

А.П. Попель, А.В. Сыроешкин

Кафедра биологии и общей генетики РУДН
Медицинский факультет
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Макля, 8, Москва, Россия, 117198

Известен ряд заболеваний (микроэлементозы), вызываемых недостатком или избытком необходимых для организма элементов. Волосы являются биологическим субстратом, отражающим процессы в организме с участием микро- и макроэлементов. В работе представлены результаты определения цинка и железа в волосах человека в зависимости от пола и наличия онкозаболевания. Для исследования авторами разработана экспресс-методика рентгенофлуоресцентного анализа, не требующая предварительной пробоподготовки анализируемого биосубстрата. Валидационные характеристики доказаны с помощью атомно-абсорбционной спектроскопии как референтного метода.

Одна из важнейших задач современной медицины — исследование молекулярных механизмов минерального обмена у человека. Известен ряд заболеваний (микроэлементозы), вызываемых недостатком или избытком необходимых для организма элементов. Отклонение от нормы содержания какого-либо элемента приводит к дисбалансу других. Вследствие этого уровень необходимых микро-

и макроэлементов в биосредах может характеризовать нарушения гомеостаза и патологические состояния организма в целом [1]. Волосы являются неинвазивным биологическим субстратом, отражающим процессы, протекающие в организме с участием микро- и макроэлементов [2—5]. В настоящей работе исследуется возможность использования содержания в волосах цинка и железа в качестве биоиндикатора заболеваний.

В современной практике диагностики макро- и микроэлементозов используют методы атомно-абсорбционной спектрометрии (ААС) и атомно-эмиссионной спектрометрии с индуктивно связанной плазмой и масс-спектрометрии (АЭС-ИСП/МС), отличающиеся высокой чувствительностью и низким пределом обнаружения [5]. В то же время эти методы в большинстве случаев требуют специальной пробоподготовки, заключающейся в длительной минерализации анализируемого образца биоматериала.

В настоящей работе исследовали возможности и преимущества метода рентгенофлуоресцентного анализа (РФА) при определении элементного состава волос человека. До настоящего времени РФА преимущественно использовался для анализа технической продукции, а применение его для исследования биосубстратов было ограничено. РФА обладает рядом преимуществ перед традиционными спектральными методами. Следует отметить его высокую производительность за счет относительно простой пробоподготовки, заключающейся в измельчении и пресовании пробы.

Метод РФА основан на зависимости интенсивности рентгеновской флуоресценции (линии рентгеновского эмиссионного спектра) от концентрации элемента в образце. При облучении образца мощным потоком рентгеновского излучения возникает характеристическое флуоресцентное излучение атомов, интенсивность которого пропорциональна содержанию элемента в образце. Математическая обработка спектра позволяет проводить как качественный, так и количественный анализ биообразцов. Анализ биоматериалов при определении элементов с жестким рентгеновским излучением (как правило, это элементы с порядковым номером больше 20, к которым относятся и цинк, и железо) может проводиться без предварительной минерализации, что сокращает продолжительность анализа в 2—3 раза.

Были исследованы 28 образцов волос человека. Образцы были получены от пациентов разного пола (18 мужчин и 10 женщин) и возраста (16—84 лет). Анализируемые образцы волос измельчали с помощью ножниц до размера 1—2 мм и помещали в кювету спектрометра. Измерения проводили портативным рентгенофлуоресцентным кристалл-дифракционным сканирующим спектрометром «Спектроскан Макс G» (НПО «Спектрон», Санкт-Петербург), утвержденным в качестве средства измерений Госстандартом РФ.

Технические характеристики прибора «Спектроскан Макс G»: диапазон определяемых элементов — от кальция (20) до урана (92). Диапазон определяемых концентраций — 0,0001% (без предварительного концентрирования) до 100%. Пределы обнаружения — 1÷20 ppm. Энергетическое разрешение на линии Fe K α — 14÷20 мА° (45÷65 эВ). Погрешность прибора при содержании элемента

0,05%÷100% составляет 10÷20%. Предел обнаружения 0,0001—0,01%. Рентгеновская трубка типа БХ-7; материал анода — Ag; максимальное напряжение на ноде рентгеновской трубки — 40 кВ; максимальная мощность трубки — 4 Вт; материал кристалл-анализатора — LiF; анализируемые образцы — твердые, порошковые, жидкие вещества и фильтры. Радиационная безопасность — прибор освобожден от регламентации по радиационному фактору. Программное обеспечение к прибору (IBM PC AT) позволяет выполнять обработку результатов и сохранять их в памяти на жестком диске.

В качестве стандартных образцов для калибровки прибора использовали навески глюкозы с известными концентрациями цинка и железа (0,01%, 0,03%, 0,05%, 0,07%, 0,09%, 0,1%). Калибровочными материалами служили цинка оксид (ZnO) и железа сульфат (FeSO₄) марки х.ч. Регистрацию спектров каждой пробы проводили трижды. Для построения графиков зависимости интенсивности характеристического излучения серии Kα от содержания элемента в образце использовали средние значения интенсивностей. Калибровочные графики на примере медленного спектра (шаг сканирования — 1 мА, время экспозиции — 1 с) для цинка и железа приведены на рис. 1.

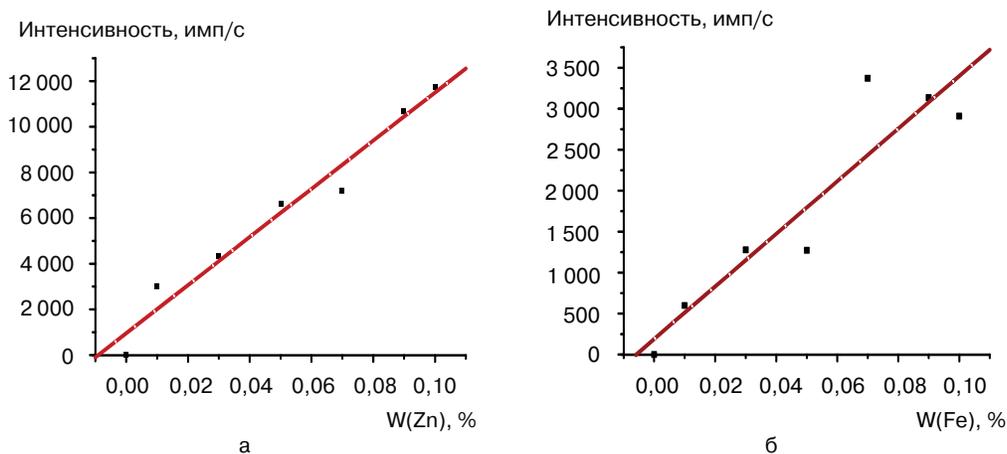


Рис. 1. Калибровочные графики для цинка (а) и железа (б)

В соответствии с валидационными требованиями оценки воспроизводимости результатов, полученных методом РФА, был проведен анализ волос методом атомно-абсорбционной спектрометрии (ААС) в пламени (цинк) или с электротермической атомизацией и в графитовой кювете с зеемановской коррекцией фона (железо). В первом случае для минерализации навеску волос помещали в кварцевые тигли и озоляли в муфельной печи (Nebtherm L9) при температуре (+400 ± ± 2) °С. Озоление проводили в течение 15—30 мин. в зависимости от массы навески. Во втором случае проводили кислотную минерализацию. Измельченные и взвешенные образцы волос в «царской водке» (соляная и азотная кислоты 3 : 1) минерализовали в тефлоновых бомбах под давлением в микроволновой печи MDS2000 при режиме: 2 мин. 20 с — при 80% мощности, 5 мин. — при 100% мощности.

Сравнительный анализ результатов, полученных независимыми методами РФА и ААС (табл.), демонстрирует для обоих методов прямую пропорциональную зависимость аналитического сигнала от содержания элементов и позволяет сделать вывод об их удовлетворительной воспроизводимости.

Таблица

Результаты определения цинка и железа в волосах человека

№ пробы	С(Zn), мкг/г		С(Fe), мкг/г	
	РФА	ААС (в пламени)	РФА	ААС (графитовая кювета)
1	176,0	134,2	63,6	49,6
2	165,0	106,2	53,4	23,5
3	182,6	129,9	42,0	5,4
4	169,0	77,8	60,5	30,2
5	101,7	24,9	50,0	23,0
6	109,0	137,3	84,0	64,3
7	126,6	128,0	71,6	82,9

Результаты количественного определения цинка и железа методом РФА в 28 образцах волос позволили сгруппировать результаты по полу. Из выборок по полу следует, что среднее содержание цинка в волосах женщин (122 ± 31) мкг/г несколько выше, чем мужчин (111 ± 37) мкг/г. Оказалось, что в исследуемой выборке только две пробы волос мужчин соответствовали интервалу нормы для цинка ($100 \div 260$) мкг/г, в остальных пробах содержание цинка было ниже 100 мкг/г.

Напротив, при определении железа в представленных образцах волос было обнаружено практически полное соответствие интервалу нормы ($5 \div 75$) мкг/г как для мужчин (72 ± 10) мкг/г, так и для женщин (63 ± 17) мкг/г, причем содержание железа в волосах мужчин было выше, чем у женщин.

Особый интерес представляла группа проб, которые были взяты у 7 мужчин с диагностированным онкозаболеванием предстательной железы. Оказалось, что среднее содержание цинка в волосах этой группы пациентов (66 ± 32) мкг/г было значительно ниже нормы и среднего значения для пациентов без указанного заболевания (111 ± 37) мкг/г.

При аналогичном сравнении этих образцов по содержанию железа в волосах изменения содержания железа в группе онкобольных не отмечено.

Таким образом, проведенные исследования с помощью разработанной экспресс-методики открывают возможность использования метода РФА для контроля содержания цинка в волосах. Полученные результаты могут быть использованы для выявления патологических состояний организма, а также для характеристики эколого-токсикологической картины различных регионов.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] *Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А. и др.* Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. — М.: Медицина, 1991. — 496 с.
- [2] *Скальный А.В., Рудаков И.А.* Биоэлементы в медицине. — М.: Мир, 2004. — 271 с.

- [3] *Aggett P.J., Favier A. Zinc / Int. J. Vit. Nutr. Res.* — 1993. — Vol. 63. — № 4. — P. 301—307.
- [4] *Hadden J.W. The treatment of zinc deficiency is an immunotherapy // Int. J. Immunopharmac.* — 1995. — № 17 — P. 697—701.
- [5] *Prasad A.S. Zinc an overview // Nutr.* — 1995. — Vol. 11. — P. 93—99.

**EXPRESS-DETERMINATION
OF ZINC AND FERROUS CONTENTS IN HUMAN HAIR
BY X-RAY-FLUOREMETRY METHOD**

T.V. Maximova, T.V. Pleteneva, P.I. Popov

The Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry
Medical Faculty
Peoples' Friendship University of Russia
M-Maklaya str., 8, Moscow, Russia, 117198

I.S. Luzanova

The Bureau of forensic-medical expertise of Moscow
Sivtsev-Vrazhek, 12, Moscow, Russia, 121002

A.P. Popel, A.V. Syroeshkin

The Department of Biology and General Genetics
Medical Faculty
Peoples' Friendship University of Russia
M-Maklaya str., 8, Moscow, Russia, 117198

There are diseases («microelementoses») determined by deficiency or abundance of essential elements in human body. Human hair is biological substratum that can reflect organism processes connected with essential micro- and macroelements. The results present the dependences on gender and oncodisease. The authors worked out the method of X-ray-fluoremetry analysis without mineralization of biomaterial.