

УДК 543.421:(546.47+546.56+546.81)

## ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ Zn, Cu ТА Pb В КРОВІ ХВОРИХ НА СИНДРОМ СТОПИ ДІАБЕТИКА МЕТОДОМ ЕЛЕКТРОТЕРМІЧНОЇ АТОМНО-АБСОРБЦІЙНОЇ СПЕКТРОМЕТРІЇ

Сухарев С.М., Чундак С.С., Росул М.В.

*Ужгородський національний університет, 88000, м. Ужгород, вул. Підгірна, 46.*

В зв'язку з широким розповсюдженням, проблему цукрового діабету в усіх країнах світу, в тому числі й в Україні, визначають як медико-соціальну. Цукровий діабет і надалі залишається однією з найактуальніших проблем клінічної медицини.

Одним з найнебезпечніших хірургічних ускладнень цукрового діабету є синдром "стопи діабетика" (ССД) – специфічний симптомокомплекс ураження стопи на тлі цукрового діабету, в патогенезі якого, з урахуванням вікових змін, виділяють діабетичну мікро-, макроангіопатію, периферичну нейропатію та остеоартропатію, що розвиваються паралельно, взаємообтяжуючи одне одного, з приєднанням важких гнійно-некротичних процесів, які характеризуються особливим складом мікрофлори і розвиваються на тлі глибоких порушень обмінних процесів тканин та імунодепресії. Це ускладнення призводить, як правило, до ампутації кінцівок [1].

З метою розробки ефективних методів профілактики виникнення та лікування даного захворювання розгорнутий широкий фронт наукових робіт для визначення патогенетичних основ ССД.

За останні роки отримані дані, які стверджують важливу роль процесів пероксидного окислення ліпідів (ПОЛ) в етіології та патогенезі пошкоджень судинної стінки. При цукровому діабеті відбувається порушення процесів ПОЛ, що призводить до збільшення вмісту пероксидних похідних. Регуляція стаціонарної концентрації продуктів активного кисню відбувається в значній мірі за рахунок збалансованої взаємодії реакції їх утворення – окисації та реакції розпаду – антиоксидації. Саме тому важливим є стан

антиоксидантної системи організму (АОС) та роль мікроелементів, які підтримують функціонування даної системи, таких як Купрум та Цинк.

Функції сполук Купруму в організмі є різноманітними [2-4] і, як мікроелемент, Купрум є незамінним. Функції сполук Цинку в організмі є також вкрай важливими [5,6]. Нестача цих мікроелементів в організмі людини призводить до порушень функціонування різних систем. Тому вивчення впливу вмісту цих мікроелементів в крові хворих на ССД на патологічні прояви цієї хвороби є актуальним завданням.

Нажаль, господарська діяльність людини призвела до викидів в довкілля значної кількості сполук Плюмбуму, який є одним з найнебезпечніших забруднювачів довкілля [7,8]. Сполуки Плюмбуму мають високу здатність до біокумуляції і викликають негативні зміни з боку практично всіх систем організму, що призводить до порушення обміну речовин [9-11]. В основі токсикології сполук Плюмбуму лежить його здатність до конкурентного витіснення з ферментів металів-біотиків (Феруму, Купруму, Цинку, тощо) та блокування сульфгідрильних груп ряду ферментів [12-13], що вказує на актуальність дослідження впливу вмісту сполук Плюмбуму в крові хворих на ССД на патологічні прояви цієї хвороби.

Метою даної роботи є визначення вмісту Zn, Cu та Pb в крові хворих на ССД та порівняння характеру протікання хвороби від вмісту цих елементів.

### Експериментальна частина

Для визначення вмісту вказаних елементів в крові хворих на ССД і порівняння

з даними аналізів у здорових людей, проводився пробовідбір венозної крові (5-10 см<sup>3</sup>) безпосередньо в клінічних умовах. Кров мінералізували сумішшю нітратної і сульфатної кислот (х.ч.), мінералізаторозчиняли в невеликій кількості нітратної кислоти і доводили об'єм розчину до 25 см<sup>3</sup> бідистильованою водою.

Визначення вмісту металів в розчині мінералізатору проводили методом електротермічної атомно-абсорбційної спектрометрії. Вимірювання аналітичного сигналу проводили на атомно-абсорбційному комплексі КАС-120.1 з комп'ютерною реєстрацією та корекцією фону на основі ефекту Зеєманівського розщеплення. В якості джерела світла використовували лампи порожнистого катоду, в якості захисного газу – аргон з вмістом кисню менше 7×10<sup>-4</sup>%. Вимірювання проводили з використанням графітових кювет в присутності модифікатора матриці на основі натрієвої солі бензоїлгідрозону пірвіноградної кислоти, яка показала свою ефективність [14-17].

Визначення Купруму проводили за таких умов: довжина хвилі – 324,8 нм; ширина щілини – 0,4 нм; об'єм аналізованої проби – 10 мкл. Атомізацію проводили при температурі 2400<sup>0</sup>С в режимі “газ-стоп”. Визначення Цинку проводили за таких умов: довжина хвилі – 213,9 нм; ширина щілини – 0,7 нм; об'єм аналізованої проби – 10 мкл. Атомізацію проводили при температурі 2400<sup>0</sup>С в режимі “газ-стоп”. Визначення Плюмбуму проводили за таких умов: довжина хвилі – 283,3 нм; ширина щілини – 0,4 нм; об'єм аналізованої проби – 10 мкл. Атомізацію проводили при температурі 2400<sup>0</sup>С в режимі “газ-стоп”. Перед стадією атомізації включали стадію піролізу при 500<sup>0</sup>С для усунення матричних перешкод.

Стандартні робочі розчини Купруму, Цинку та Плюмбуму концентрацією 0,001–0,100 мг/дм<sup>3</sup> готували відповідним розведенням вихідних (1,0–2,0 мг/дм<sup>3</sup>) безпосередньо перед дослідженням. Стандартні розчини використовували для калібрування приладу.

Вихідні стандартні розчини металів готували з державних стандартних зразків за методикою [18].

### Результати та їх обговорення

Результати визначення вмісту Купруму, Цинку та Плюмбуму в крові хворих на ССД та у контрольної групи (здорові люди) наведені в табл. 1-3.

**Таблиця 1.** Результати визначення вмісту Купруму в крові (P=0,95; n=6).

Номер проби	Стадія ССД	Знайдено Cu, мг/дм <sup>3</sup>	
		X	S <sub>r</sub>
1	2	3	4
Хворі			
№ 1	IV	0.821±0.013	0.031
№ 2	IV	0.801±0.022	0.028
№ 3	I Б	0.412±0.011	0.037
№ 4	I А	0.392±0.013	0.034
№ 5	II Б	0.637±0.018	0.029
№ 6	IV	0.743±0.019	0.025
№7	II Б	0.475±0.011	0.036
№8	II Б	0.508±0.016	0.032
№ 9	0	0.369±0.014	0.038
№ 10	I Б	0.399±0.012	0.031
№ 16	0	0.410±0.025	0.021
№ 17	III	0.671±0.021	0.031
№ 18	I А	0.415±0.014	0.034
№ 19	0	0.348±0.013	0.037
Здорові			
№ 11	—	0.638±0.026	0.031
№ 12	—	0.263±0.007	0.045
№ 13	—	0.310±0.013	0.041
№14	—	0.379±0.014	0.037
№ 15	—	0.621±0.023	0.037

**Таблиця 2.** Результати визначення вмісту Цинку в крові (P=0,95; n=6).

Номер проби	Стадія ССД	Знайдено Zn, мг/дм <sup>3</sup>	
		X	S <sub>r</sub>
1	2	3	4
Хворі			
№ 1	IV	0.413±0.025	0,06
№ 2	IV	0.387±0.023	0,06
№ 3	I Б	1.268±0.090	0,07
№ 4	I А	1.071±0.064	0,06
№ 5	II Б	1.029±0.072	0,07

Продовження таблиці 2

1	2	3	4
№ 6	IV	0.485±0.029	0,06
№7	II Б	0.954±0.067	0,07
№8	II Б	1.044±0.073	0,07
№ 9	0	2.410±0.145	0,06
№ 10	I Б	1.518±0.106	0,07
№ 16	0	2.545±0.153	0,06
№ 17	III	0.746±0.052	0,07
№ 18	I А	1.269±0.063	0,05
№ 19	0	1.661±0.101	0,06
Здорові			
№ 11	—	4.608±0.230	0,05
№ 12	—	5.058±0.202	0,04
№ 13	—	9.800±0.392	0,04
№14	—	5.643±0.339	0,06
№ 15	—	5.929±0.296	0,05

**Таблиця 3.** Результати визначення вмісту Плюмбуму в крові (P=0,95; n=6).

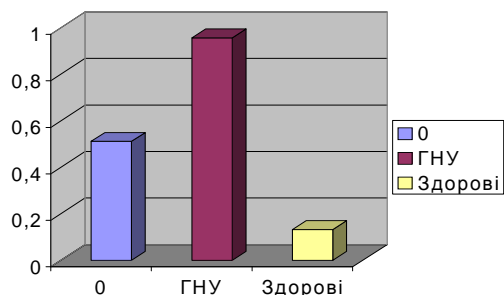
Номер проби	Стадія ССД	Знайдено Pb, мг/дм <sup>3</sup>	
		X	S <sub>r</sub>
1	2	3	4
Хворі			
№ 1	IV	1.13±0.011	0.076
№ 2	IV	1.011±0.031	0.031
№ 3	I Б	0.167±0.008	0.081
№ 4	I А	0.179±0.013	0.071
№ 5	II Б	1.958±0.020	0.036
№ 6	IV	2.028±0.047	0.023
№7	II Б	0.541±0.013	0.071
№8	II Б	0.537±0.020	0.038
№ 9	0	0.433±0.015	0.034
№ 10	I Б	0.491±0.013	0.027
№ 16	0	0.560±0.015	0.057
№ 17	III	2.013±0.054	0.027
№ 18	I А	0.464±0.019	0.041
№ 19	0	0.541±0.010	0.071
Здорові			
№ 11	—	0.127±0.010	0.081
№ 12	—	0.169±0.013	0.078
№ 13	—	0.180±0.025	0.071
№14	—	0.086±0.008	0.090
№ 15	—	0.100±0.008	0.085

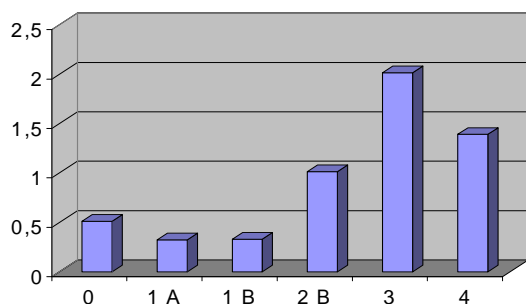
Для порівняння результатів визначення вмісту металів в крові у хворих на ССД та здорових, усереднені значення зведені в табл. 4.

**Таблиця 4.** Порівняння результатів визначення вмісту металів в крові.

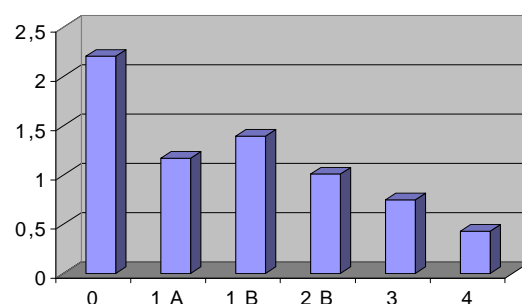
Групи обстежуваних	Вміст Cu, мг/дм <sup>3</sup>	Вміст Zn, мг/дм <sup>3</sup>	Вміст Pb, мг/дм <sup>3</sup>
Стадія ССД 0	0.376	2.205	0.511
Стадія ССД I А	0.404	1.170	0.322
Стадія ССД I Б	0.406	1.393	0.329
Стадія ССД II Б	0.540	1.009	1.012
Стадія ССД III	0.671	0.746	2.013
Стадія ССД IV	0.788	0.428	1.390
Хворі з гнійно-некротичними ускладненнями (I-IV ст.)	0.570	0.926	0.956
Хворі (всі стадії)	0.529	1.200	0.860
Здорові	0.442	6.200	0.132

Із даних табл. 4 видно, що у хворих пацієнтів значно нижчий вміст Цинку в крові ніж у здорових людей, тоді як вміст Плюмбуму і Купруму навпаки є більшим. Крім того, спостерігається кореляція між стадіями захворювання ССД та вмістом відповідних елементів в крові. Для підтвердження цього, побудовані відповідні діаграми вмісту елементів в крові у хворих (з розбиттям по стадіям) та здорових людей. Результати представлені на рис. 1-6.

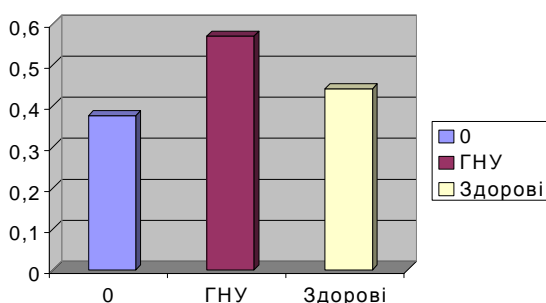
**Рис. 1.** Вміст Плюмбуму в крові хворих з 0 стадією ССД, гнійно-некротичними ускладненнями (ГНУ) та у здорових людей.



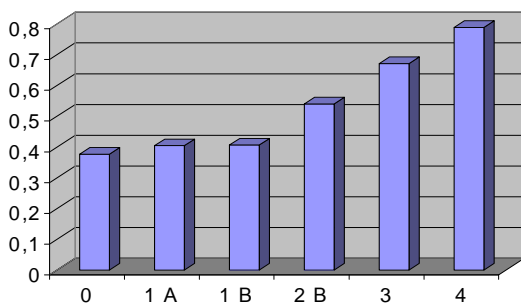
**Рис. 2.** Вміст Плиумбу в крові хворих з ССД при різних стадіях захворювання.



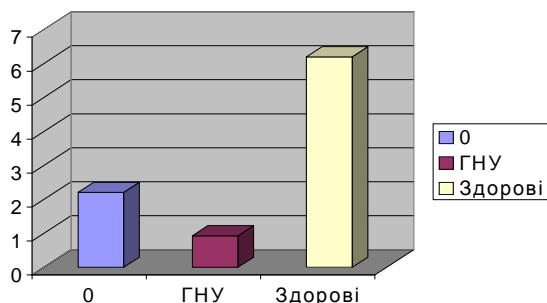
**Рис. 6.** Вміст Цинку в крові хворих з ССД при різних стадіях захворювання.



**Рис.3.** Вміст Купруму в крові хворих з 0 стадією ССД, гнійно-некротичними ускладненнями (ГНУ) та у здорових людей.



**Рис. 4.** Вміст Купруму в крові хворих з ССД при різних стадіях захворювання.



**Рис.5.** Вміст Цинку в крові хворих з 0 стадією ССД, гнійно-некротичними ускладненнями (ГНУ) та у здорових людей.

Із представлених діаграм чітко видно кореляцію між вмістом Плиумбу в крові хворих з ССД та характером протікання хвороби, причому чим важчий перебіг хвороби, тим більший вміст Плиумбу в крові хворих. В крові контрольної групи (здорові люди) вміст Плиумбу є значно нижчим. Це може бути пояснено тим, що Плиумб вступає в конкурентне витіснення біометалів, провокуючи блокування ряду ферментів і, як наслідок – порушення обміну речовин.

Існує кореляція і по вмісту Цинку в крові хворих на ССД, але ця залежність є оберненою. Чим важчий перебіг хвороби, тим менший вміст цього біометалу.

Аналіз даних вмісту Купруму в крові хворих і здорових людей показує кореляцію тільки в межах групи хворих на ССД: чим важча стадія хвороби, тим більший вміст Купруму в крові. Причин такої поведінки може бути багато і достовірне пояснення цього факту потребує додаткових досліджень.

### Висновки

Проведено визначення вмісту Купруму, Цинку і Плиумбу в крові хворих з ССД методом електротермічної атомно-абсорбційної спектроскопії в присутності модифікатора матриці – натрієвої солі бензоїлгідрозону пірвіноградної кислоти. Результати визначення свідчать, що в залежності від стадій хвороби значно змінюється вміст визначуваних металів в крові, причому чим важча стадія хвороби, тим більший вміст в крові хворих Плиумбу і менший Цинку.

**Література**

1. Ляпіс М.О., Герасимчук П.О. Синдром стопи діабетика.-Тернопіль: Укрмедкнига, 2001.-276с.
2. Авцын А. П., Жаворонков А. А., Риш М. А., Строчкова Л. С. Микроэлементозы человека. – М.: Медицина, 1991. – 495 с.
3. Григорьева А. С., Крисс Е. Е., Конахович Н. Ф. // Хим. фарм. журн. – 1980. – №8. – С. 7-11.
4. Василец И. М. // Успехи биол. химии. – 1973. – Т. 14, №2. – С. 172-201.
5. Бабенко Г. А. // Ферменты, металлы, металлоферменты в диагностике и лечении: Тез. докл. – Ивано-Франковск, 1982. – С.186.
6. Ноздрюхина Л. Р., Нейко Е. М., Ванджура И. П. Микроэлементы и атеросклероз. – М.: Медицина, 1985. – 220 с.
7. Штабський Б. М., Федоренко В. І. // Эксперим. та клін. фізіологія і біохімія. – 2000. – №2. – С.109-111.
8. Зербіно Д. Д., Соломенчук Т. М. // Укр. мед. часопис. – 2002. – №2. – С. 79-83.
9. Корбакова А.И., Сорокина Н.С., Молодкина Н.Н., Ермоленко А.Е., Веселовская К.А. // Медицина труда и промышленная экология. – 2001. – №5. – С.29-34.
10. Дейнека С. Є. // Совр. проблемы токсикологии. – 1999. – №2. – С. 27-29.
11. Трахтенберг И. М., Шестопапов В. М., Набока М. В., Бобылева О. А. // Междунар. мед. журнал. – 1998. – №3. – С. 94-98.
12. Murata K., Araki S. // Am. J. Ind. Med. – 1991. – № 20 (5). – P. 663-671.
13. Кундиев Ю.И., Стежка В.А., Дмитруха Н.Н., Лампека Е.Г., Диденко М.Н., Покровская Т.Н., Оникиенко Ф.А., Блакита И.В., Билько Т.А., Мельник Ю.П., Падакина Е.В. // Медицина труда и промышленная экология. – 2001. – №5. – С. 11-17.
14. Сухарев С.М., Сухарева О.Ю., Чундак С.Ю. // Укр. хім. журн.-2003.-т. 69, № 7.-С. 51-54.
15. Сухарев С.М., Сухарева О.Ю., Чундак С.Ю., Мишанич Н.І. // Науковий вісник Ужгородського нац. ун-ту. Серія хімія.- 2002.- Вип. 7.-С.94-97.
16. С. Сухарев, О. Сухарева, Н. Мишанич, С. Чундак, Д. Гісем. - Матеріали Другої Міжнародної наукової конференції “Молодь у вирішенні регіональних та транскордонних проблем екологічної безпеки” (м. Чернівці, 14-15 травня 2003).-Чернівці: Золоті литаври, 2003.-С.144-147.
17. Сухарев С.М., Сухарева О.Ю. // Матеріали Сесії Наукової Ради НАН України з проблем “Аналітична хімія”.-Ужгород, 19-23 травня 2003 року.-Ужгород: Ужгородський національний університет.-С. 42-43.
18. Инструкция по применению Государственных стандартных образцов растворов металлов и неметаллов.-Одесса: СКТБ ФХИ АН Украины, 1991.-4с.

**THE DETERMINATION OF Zn, Cu AND Pb IN BLOOD OF THE PATIENTS WITH THE SYNDROME OF THE DIABETIC FOOT BY ELECTROTHERMAL ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY**

**S.N. Sukharev, S.S. Chundak, M.V. Rosul**

In work a possibility the determinations of contents Zn, Cu and Pb in blood of the patients with the syndrome of the diabetic foot.