



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 61804

(13) A

(51) 7 A61B5/0205

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ  
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІОПИС  
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ  
НА ВИНАХІДВидається під  
відповідальність  
власника  
патенту

## (54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ХІМІЧНИХ ЕЛЕМЕНТІВ У БІОЛОГІЧНИХ РІДИНАХ І ТКАНИНАХ

1

2

(21) 2003054194

(22) 12 05 2003

(24) 17 11 2003

(46) 17 11 2003, Бюл. № 11, 2003 р.

(72) Шкала Любов Володимирівна

(73) Шкала Любов Володимирівна

(57) 1 Спосіб визначення хімічних елементів у біологічних рідинах і тканинах, що включає застосування растрового електронного мікроскопа (РЕМ 101) і енергодисперсійного рентгенівського аналізатора, який відрізняється тим, що у зразках крові, виготовлених за методом "товстої краплі", і в біоптатах після їх висушування при  $t=18-22^{\circ}\text{C}$  та вакуумної обробки здійснюють якісне визначення

наявних хімічних елементів шляхом реєстрації ліній характеристичного рентгенівського спектра у автоматичному режимі при таких параметрах прискорюючої напруги - 30кВ, струм пучка - 100мкА, струм конденсатора - 20мкА, енергетичне розрізнення на лінії  $\text{MnK}\alpha$  - 220еВ, термін набору імпульсів - 20с

2 Спосіб визначення хімічних елементів у біологічних рідинах і тканинах за п 1, який відрізняється тим, що можлива ідентифікація наявних хімічних елементів від натрію до ітрію за спеціальними таблицями величин енергій характеристичних рентгенівських ліній  $\text{MnK}\alpha$  серій

Винахід належить до медицини внутрішніх хвороб, медичної хімії

Мінеральний склад крові, з одного боку, відображає забезпеченість фізіологічних потреб організму в макроелементах і мікроелементах, а з другого боку - стан здоров'я людини як біоіндикатор негативного впливу навколишнього середовища, а також наявності патологічного процесу в організмі

У організмі людини знайдено 81 хімічний елемент [6]. Визначено добовий баланс макроелементів і мікроелементів для людини [5].

З'ясовано біологічну роль багатьох мінеральних речовин у організмі людини. Виділено есенціальні мікроелементи, обов'язково необхідні елементи для забезпечення процесів метаболізму [8, 9]. Встановлено, що надлишок або дефіцит окремих мікроелементів призводить до появи гіпо- та гіпермікроелементозів [3, 5, 6, 7].

Отже, біологічна роль хімічних елементів в організмі людини багатогранна. Макроелементи в основному відіграють роль пластичного матеріалу в побуті тканин, підтримують осмотичний тиск, кислотно-лужну рівновагу, стан колоїдів. Мікроелементи, знаходячись у взаємозв'язку з ферментами, гормонами, білками й іншими біологічно активними речовинами, беруть участь у процесах

обміну білків, жирів, вуглеводів

Задача винаходу застосувати рентгеноспектральний експрес-мікроаналіз для якісного визначення хімічних елементів у біологічних рідинах і тканинах

Завдання визначення наявності хімічних елементів у біологічних рідинах і тканинах за допомогою растрового електронного мікроскопа (РЕМ 101) і енерго-дисперсійного рентгенівського аналізатора (ЕДАР)

Для вирішення завдання використано рентгеноспектральний аналіз біологічних рідин і тканин, в яких здійснювалося визначення наявності хімічних елементів, за рахунок можливостей растрового електронного мікроскопа (РЕМ 101) та енергодисперсійного рентгенівського аналізатора (ЕДАР) проводити дослідження в мікрооб'ємах на мікронному рівні. При цьому завдяки реєстрації збудженого рентгенівського випромінювання з наступною енергетичною дисперсією ідентифікувалися наявні хімічні елементи за енергією характеристичних рентгенівських ліній  $\text{MnK}\alpha$  серій від натрію до ітрію

В якості аналогів розглядалися нижче перераховані методи дослідження хімічних елементів у

(13) A

(11) 61804

(19) UA

біологічних рідинах

Так, для визначення окремих елементів у біологічних рідинах використовуються наступні методи [1]

1 Турбодиметричний метод визначення сульфатів на добуванні стійкої суспензії сульфату барію

2 Метод визначення кальцію за кольоровими реакціями з

- A) о-крезолфталейнкомплексом,
- B) глюксаль-біс-2-оксанілом,
- B) мукексидом при наявності гліцерину

3 Метод визначення магнію за кольоровою реакцією з титановим жовтим

4 Метод визначення заліза за кольоровою реакцією з батефенантроліном

5 Метод визначення міді за кольоровою реакцією з діетилдитіокарбаматом

6 Метод визначення ртуті (II) за тетрамеркуратом міді після співосадження її йодидом міді

7 Метод визначення фосфору за відновленням фосфорно-молібденової кислоти

8 Визначення свинцю методом полярографії змінного струму після сухого озонення проби

9 Метод визначення хлору меркуриметричним титруванням при наявності індикатора - дифенілкарбазону

При цьому за допомогою перелічених методів - аналогів можливо визначення лише одного хімічного елемента у біологічних рідинах при використанні одного методу, що не надає уяви про хімічний склад в цілому

В якості прототипу взято метод полуменеві фотометрії для визначення хімічних елементів у біологічних рідинах [2]

У більшості клініко-діагностичних лабораторій використовується саме метод полуменеві фотометрії для визначення неорганічних речовин у біологічних рідинах

Недоліками прототипу є

За допомогою полуменеві фотометрії проводиться визначення найбільш легкозбудливих лужних металів - натрію, калію, літію, тобто оцінюється дуже гранична кількість хімічних елементів, при цьому дослідження однієї проби проводиться для виявлення окремого елемента

Не проводиться за допомогою полуменеві фотометрії визначення мікроелементів тому, що чутливість методу недостатня

Дослідження потребують трудомісткості, тривалості, що пов'язано з ретельним промиванням ежектора (розпилювача), приготуванням серій стандартних розчинів

При цьому методі має місце залежність результатів від природи молекул елементів, наявності фону та ін

Для ліквідації недоліків, наведених у аналогах і прототипі, нами для визначення хімічних елементів у біологічних рідинах і тканинах застосовано метод рентгеноспектрального експрес-мікроаналізу за допомогою растрового електронного мікроскопа (РЕМ 101) і енерго-дисперсійного рентгенівського аналізатора (ЕДАР) [4] У медицині цей метод використано вперше

Спосіб проводиться таким чином

1 Для визначення наявності хімічних елемен-

тів у біологічних рідинах (застосовано аналіз цільної крові) у пацієнтів беруть 0,5мл крові з вени Готують зразки за методом "товстої краплі" з нанесенням крові на покривне скло та висушуванням при  $t=18-22^{\circ}\text{C}$

2 Для визначення наявності хімічних елементів у біологічних тканинах (можливе застосування тканин будь-яких органів залоз, шлунка, кишок, нирок та ін, а також шкіри, кісток) беруть біоптат з них і вміщують на покривне скло, та також висушують при  $t=18-22^{\circ}\text{C}$

Готові зразки крові або біоптатів розміщують у камері растрового електронного мікроскопа (РЕМ 101), вакуумно обробляють і переносять у "мале поле" на екран

За допомогою тонкого електронного пучка відбувається збудження в досліджуваному зразку характеристичного рентгенівського спектра з наступною дисперсією (із приставкою енергодисперсійного рентгенівського аналізатора - ЕДАР), завдяки чому здійснюється реєстрація наявних хімічних елементів При цьому реєструється характеристичне рентгенівське випромінювання у вигляді ліній хімічних елементів у електронвольтах (еВ)

Дослідження проводиться при наступних параметрах

Прискорююча напруга	30кВ,
Струм пучка	100мкА,
Струм конденсатора	20мкА,
Енергетичне розрешення на лінії $MnK\alpha$	220еВ,
Термін набору імпульсів	20с

Визначення хімічних елементів проводилося за величинами енергій (Е) досліджуваних ліній характеристичного рентгенівського спектра, що здійснювалося прибором автоматично Ідентифікація хімічних елементів проводилася за допомогою спеціальних таблиць характеристичних рентгенівських ліній  $MnK\alpha$  серій елементів від натрію (Na) до ітрію (Y) (табл 1)

Було використано даний метод визначення хімічних елементів (рентгенівського експрес-мікроаналізу) в двох групах хворих

Так, було проведено дослідження хімічних елементів у біологічній рідині (цільній крові) у 137 хворих із гастродуоденальною патологією, що знали зовнішнього радіаційного опромінення, променеве навантаження було в межах "малого" - від 3,0 до 25сГр

Також проведено дослідження хімічних елементів у біологічних тканинах (біоптатах молочної залози) у 139 хворих на рак молочної залози, що отримали променеву терапію, сумарна осередкова доза від 40 до 45 Гр

За результатами проведених досліджень, в обох групах хворих виявлена наявність таких хімічних елементів крові натрію, магнію, алюмінію, кремнію, фосфору, сірки, хлору, калію, кальцію, титану, ванадію, хрому, марганцю, заліза, кобальту, нікелю, міді, цинку, галію, германію, миш'яку, селену, бром, стронцію, ітрію, тобто у хворих у крові були наявні 25 хімічних елементи, серед яких є стронцій та ітрій, що свідчить про наявність радіаційного впливу в хворих

Таблиця 1

Величина енергій характеристичних рентгенівських ліній MnK $\alpha$  серій елементів (у електрон-вольтах)

Хімічний елемент	Порядковий номер	Енергія характеристичної рентгенівської лінії
Na	11	1,041
Mg	12	1,253
Al	13	1,486
Si	14	1,739
P	15	2,013
S	16	2,307
Cl	17	2,621
K	19	3,312
Ca	20	3,690
Sc	21	4,088
Ti	22	4,508
V	23	4,949
Cr	24	5,411
Mn	25	5,894
Fe	26	6,398
Co	27	6,924
Ni	28	7,471
Cu	29	8,040
Zn	30	8,630
Ga	31	9,241
Ge	32	9,874
As	33	10,542
Se	34	11,207
Br	35	11,907
Rb	37	13,373
Sr	38	14,140
Y	39	14,931

Запропонований спосіб рентгеноспектрального експрес-мікроаналізу (за допомогою растрового електронного мікроскопа РЕМ 101 і енергодисперсійного рентгенівського аналізатора ЕДАР) біологічних рідин і тканин для визначення наявності хімічних елементів має такі відмінності

1 Проведення дійсно експрес-аналізу - повний аналіз визначення 27 хімічних елементів у крові або в біоптаті потребує біля двох годин (причому з

визначенням одночасно всіх елементів у одному зразку)

2 Реєстрація наявності хімічних елементів можлива у широкому спектрі - від натрію (Na) до прію (Y), що надає глибокий аналіз наявності будь-яких неорганічних речовин

3 Здійснюється аналіз хімічного складу не тільки крові, а й будь-якої тканини, що сприяє з'ясуванню можливого впливу екологічно несприятливих факторів, таких як важкі метали, радіація та ін

4 Проведення аналізу зразків на мікронному рівні у мікрооб'ємах свідчить про високу чутливість методу

5 Це абсолютно вірогідний, уніфікований метод тому, що в основі виявлення всіх хімічних елементів є визначення їх за характеристичними рентгенівськими лініями MnK $\alpha$  серій елементів

#### Література

1 Клінічна лабораторна діагностика Практичні заняття з клінічної біохімії / За ред М А Базарного, З П Гетте - Київ Вища школа - 1994 - С 225-249

2 Клінічна лабораторна діагностика Практичні заняття з клінічної біохімії / За ред М А Базарного, З П Гетте - Київ Вища школа - 1994 - С 214-224

3 Лубянова І П Роль підвищеного содержания железа в организме в развитии патологии // Журн АМН України - 1998 - Т 4, №3 - С 514-529

4 Методы минералогических исследований Справочник / Под ред А И Гинзбурга - Москва Надра, 1985 - С 404-424

5 Микроэлементозы человека Этиология, классификация, органопатология / А П Авцын, А А Жаворонков, М А Риш, Л С Строчкова - Москва Медицина, 1991 - 496с

6 Скальный А В Микроэлементозы человека (диагностика и лечение) -Москва, 2001 -С 51-54

7 Смоляр В И Гипо- и гипермикроэлементозы - Київ Здоров'я - 1989 - 152с

8 Хухрянский В Г, Циганенко А Я, Павленко Н В Химия биогенных элементов - Київ Вища школа, 1990 - 207с

9 Sorenson J R J Essential metalloelement metabolism and radiation protection and recovery // Rad Res - 1992 -V 132, №1 - P 19-29