

Analiza pierwiastkowa włosów u osób chorych na cukrzycę

**Dr n. med. Sławomir Puczkowski, tech. analityki med. Mariola Zalas
NZOZ Laboratorium Biomol-Med**

OPIS METODY I MATERIAŁ

Próbki i materiał badany

Do badań wykorzystano jednolite próbki włosów. Przebadano skład mineralny włosów u 1227 pacjentów chorych na cukrzycę.

Próbki i materiał analityczny

W procedurze analitycznej wykorzystano testowane materiały odniesienia i odczynniki.

Dokładność metody analitycznej została sprawdzona poprzez analizę certyfikowanych materiałów odniesienia.

We wszystkich przygotowaniach próbek i analizach użyto wody dejonizowanej, która została oczyszczana przy użyciu jednostki dejonizacyjnej ultraczystej (odwrócona osmaza).

Sprzęt

Do roztworzenia próbek został użyty piec mikrofalowy z systemem zamkniętej mineralizacji Milestone Ethos 900. Próbki były analizowane za pomocą ICP-OES Perkin Elmer Optima 5300.

Wszystkie pojemniki i butelki z PTFE i TFM zostały oczyszczone przez namoczenie w 30% (v/v) HNO₃ conajmniej przez 12 godzin, a następnie spłukane dejonizowaną wodą kilka razy.

Procedury roztworzenia

Około 0,3 g próbki zostało zważone, wymyte i zmineralizowane (roztworzone). Procedura roztworzenia mikrofalowego była zastosowana do wszystkich próbek i do materiałów referencyjnych.

Mikrofalowe roztwarzanie trwało 30 minut. Wszystkie roztworzone próbki zostały przeniesione do 10 ml polietylenowych probówek, a następnie dopełnione wodą dejonizowaną. Tak przygotowane próbki były gotowe do analizy.

Optymalizacja

Zoptymalizowano wszystkie parametry ICP-OES, na jednolitej matrycy.

Do analizy na ICP konieczne jest dodatkowe oprzyrządowanie i odpowiedniej czystości gazy: powietrze i argon.

Najlepsze linie analityczne wybranych pierwiastków w analizie ICP-OES

Pierwiastek	długość fali [nm]
Cr (I)	205,552
Zn (I)	213,856
Co (I)	238,892
Mg (II)	279,553
V (II)	292,402

WALIDACJA

Liniowość

Krzywe wzorcowe zostały uzyskane z pomiarów roztworu wzorcowego. Liniowość została oceniona na podstawie regresji liniowej i kwadratu współczynnika korelacji, który był wyższy niż 0,92.

Wyniki zestawiono w tabeli:

Parametry kalibracji

Pierwiastek	R kw.	Liniowość [mg/L]
Cr	0,9999	0 – 0,1
Zn	0,9997	0 – 0,7
Co	0,9787	0 – 0,06
Mg	0,9731	0 – 30
V	0,9987	0 – 0,1

Granice wykrywalności i precyzja

Granice wykrywalności (oznaczalności) zmierzonych pierwiastków zdefiniowanych jako stężenie pierwiastku, które da sygnał trzy razy wyższy niż odchylenie standardowe 10 powtarzalnych pomiarów czterech odczynników wzorcowych.

Dokładność spektrometru została ustalona z pięciu analiz odczynnika próby zerowej. Każde badanie było prowadzone w kolejnych pięciu dniach. Maksymalne względne odchylenie standardowe (RSD) wynosiło 2%. Granice wykrywalności była wystarczająco dobra, aby określić wszystkie pierwiastki na wzorcowym poziomie przy użyciu ICP OES. Pod względem precyzji, bardzo dobre wyniki uzyskano także w zakresach całej liniowości.

Limity detekcji i precyzja metody ICP-OES

Pierwiastek	Limit detekcji [mcg/L]	RDS [%]
Cr	1,6	1,2
Zn	0,76	1,1
Co	0,21	0,43
Mg	1	0,65
V	0,94	0,35

Dokładność

Sprawdzenie dokładności metody przeprowadzono przy użyciu dwóch certyfikowanych materiałów odniesienia. Dodatkowo, sprawdzenie dokładności zostało przeprowadzone przed rozpoczęciem każdego zestawu pomiarów i powtórzone co 30 kolejnych próbek przez kontrolę natężenia.

Aby dowiedzieć się, czy nie było statystycznie istotnej różnicy pomiędzy wartościami oznaczonymi a wartościami certyfikowanymi użyto T-test; ufność wyliczono na poziomie 95%.

Oszacowanie niepewności (identyfikacja źródeł niepewności)

Stężenie roztworu do analizy w próbce, wyrażono w mg kg⁻¹, otrzymano z równania:

$$\text{Concentration} = \frac{(C_A)(V_{\text{final}})}{m_{\text{sample}}}$$

Gdy C_A jest stężeniem roztworu do analizy (w mg L⁻¹); V_{final} jest końcową objętością (0,050 L) i m_{sample} jest wagą suchej masy (0.20x10⁻³ kg) badanych próbek cząstkowych.

Dla identyfikacji źródeł niepewności, skorzystano z "Schematu Przyczyny i Skutku".

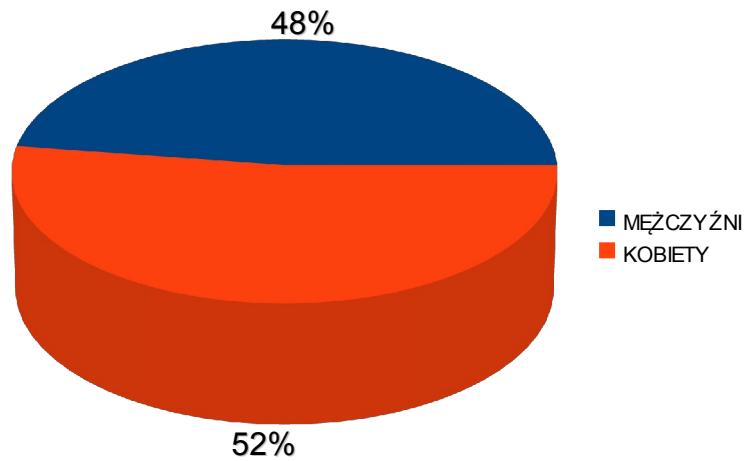
Łączną niepewność:

$$u_{\text{rel}}(\text{CON}) = \sqrt{u_{\text{rel}}^2(C_A) + u_{\text{rel}}^2(V_{\text{final}}) + u_{\text{rel}}^2(m_{\text{sample}}) + u_{\text{rel}}^2(\text{Re p}) + u_{\text{rel}}^2(\text{Sampling})}$$

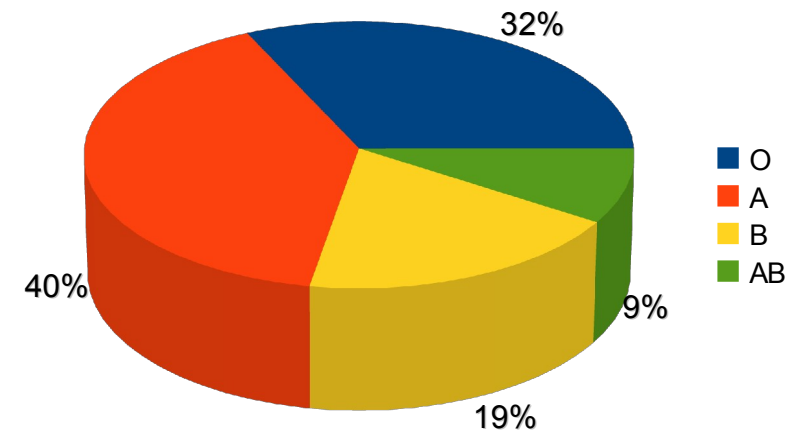
WYNIKI

Wykonano analizę pierwiastkową włosów u 1227 osób chorych na cukrzycę. Wykresy przedstawiają wybrane dane statystyczne.

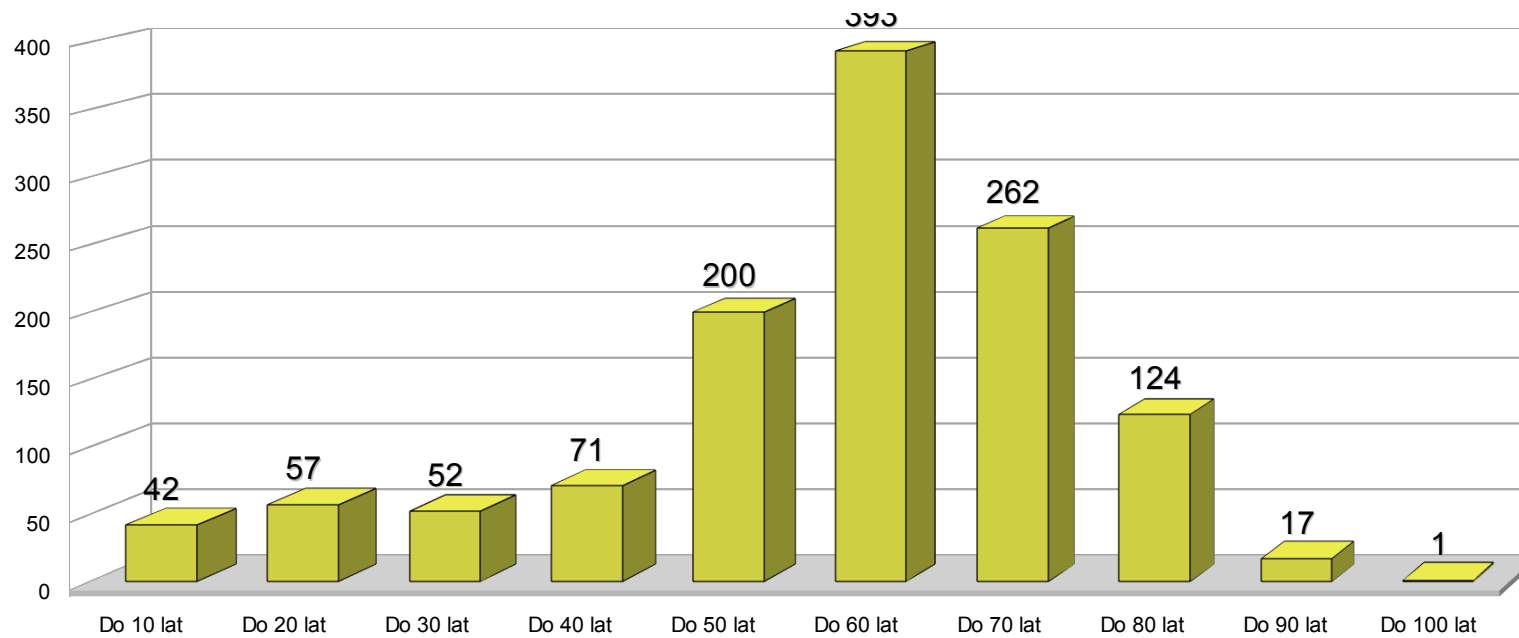
Wykres 1. Podział chorych według płci.



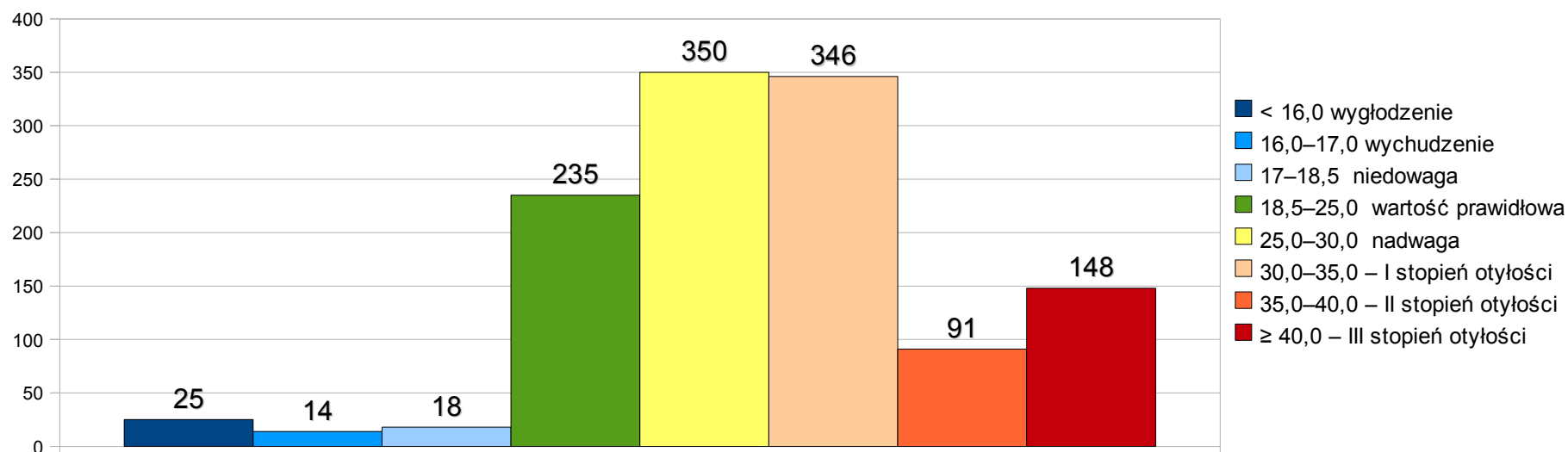
Wykres 2. Ilość chorych na cukrzycę w/g grup krwi.



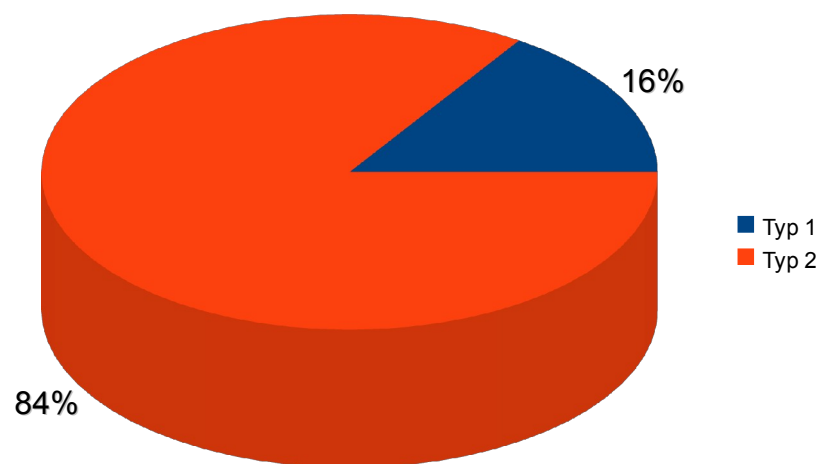
Wykres 3. Rozkład ilości chorych na cukrzycę w zależności od wieku.



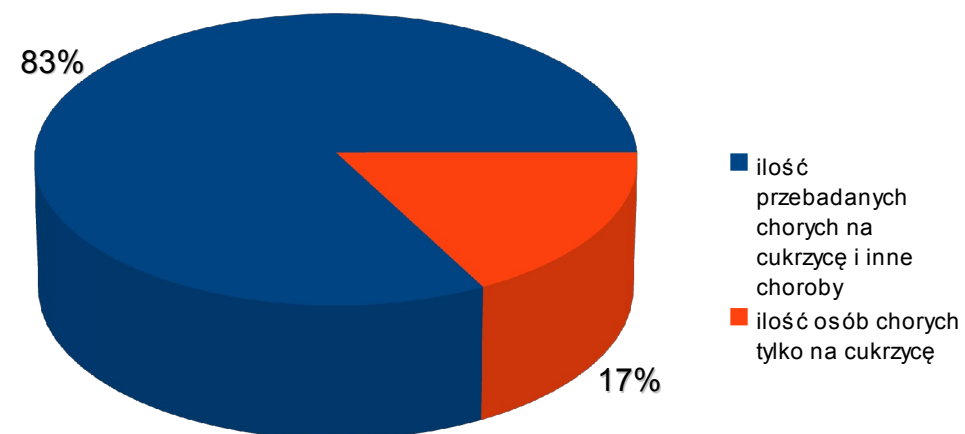
Wykres 4. Wykres ilustruje ilość chorych na cukrzycę w poszczególnych przedziałach BMI.



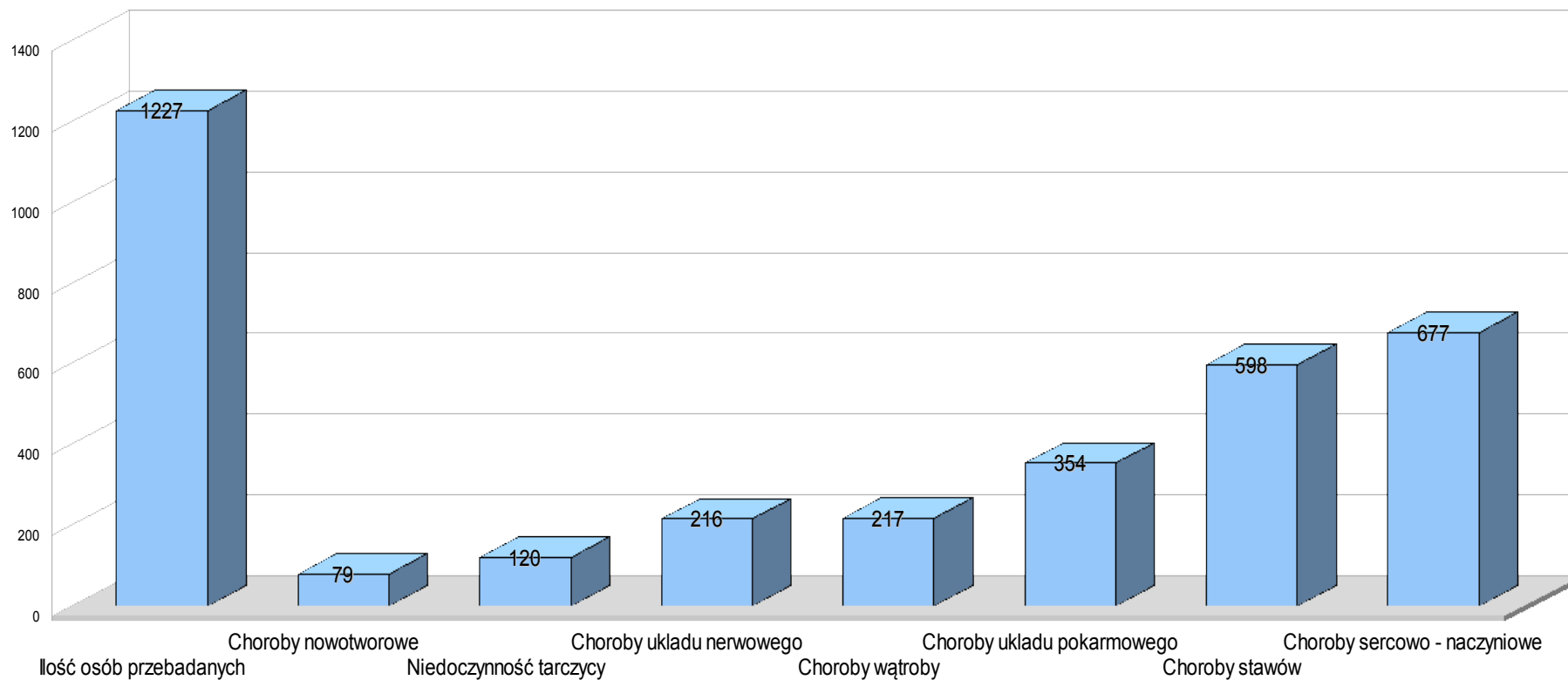
Wykres 5. Podział chorych w/g typów cukrzycy.



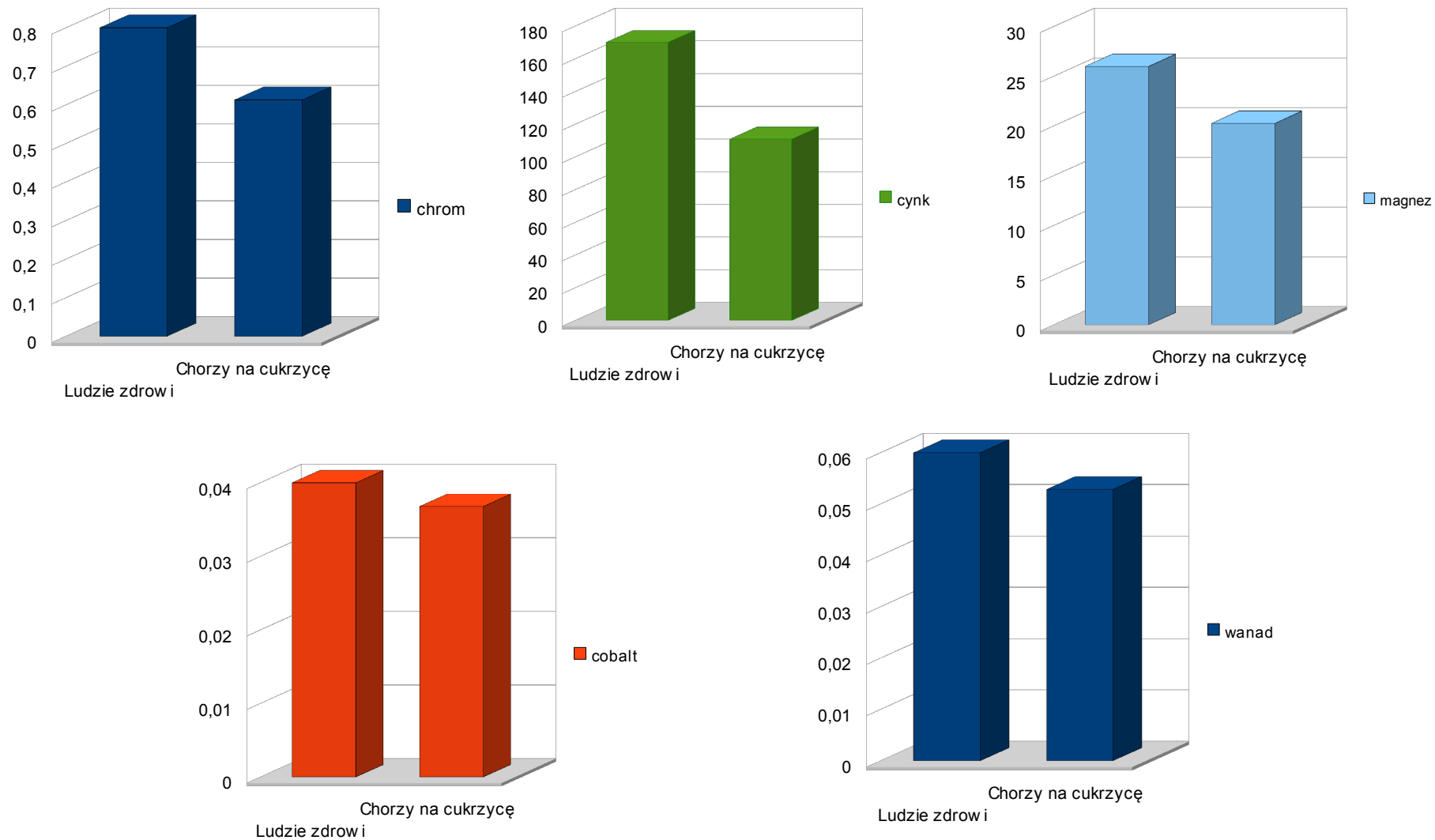
Wykres 6. Choroby towarzyszące cukrzycy.



Wykres 7. Główne choroby towarzyszące cukrzycy.



Wykres 8. Ilość chromu, cynku, cobaltu, magnezu i wanadu we włosach u osób chorych na cukrzycę w porównaniu do osób zdrowych [ppm].



Wnioski

Wyniki analizy pierwiastkowej włosów wskazują na znamienne statystycznie braki pierwiastków niezbędnych dla właściwej przemiany węglowodanów i lipidów w organizmach osób chorych na cukrzycę, niezależnie od typu cukrzycy. Należy wskazać również fakt, iż z 1227 badanych u 102 osób deklarujących wielomiesięczną suplementację preparatami chromu, zawartość chromu we włosach przekraczała 1,2 ppm (przy wartości referencyjnej 0,8 ppm). Równocześnie stwierdzono u nich braki innych w/w pierwiastków rzędu 30% większe niż w całej badanej grupie. Fakt ten wskazuje, iż oprócz zrównoważonej diety cukrzycowej konieczna jest właściwa suplementacja witaminowo – mineralna. Zastosowanie suplementacji jednego wybranego preparatu mineralnego nie przynosi oczekiwanego efektu. Konieczna jest chronoselektywna wieloelementowa suplementacja mająca przede wszystkim na celu:

- poprawę pracy układu pokarmowego (szczególnie flory bakteryjnej);
- przywrócenie równowagi kwasowo – zasadowej;
- zharmonizowanie odpowiedzi immunologicznej;
- poprawę stanu psychoemocjonalnego.

Ponad 60 % przebadanych osób chorych na cukrzycę wskazało na chroniczne zmęczenie i bardzo małą aktywność fizyczną.