

POUŽITÍ VOLTAMETRICKÝCH METOD KE SLEDOVÁNÍ OBSAHU OLOVA V ORGANISMU PŘI RŮZNÝCH ZPŮSOBECH INTOXIKACE

TOMÁŠ NAVRÁTIL^a, ZDEŇKA DLASKOVÁ^b,
DANA PELCLOVÁ^b a LADISLAV NOVOTNÝ^a

^aUNESCO Trace Element Satellite Center, Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského, Akademie věd České republiky, Do-
lejškova 3, 182 23 Praha 8, e-mail: Navratil@jh-inst.cas.cz,
^bToxikologická laboratoř, Klinika nemocí z povolání, 1. lékař-
ská fakulta, Univerzita Karlova, Na Bojišti 3, 128 00 Praha 2

Došlo dne 21.I. 1999

Klíčová slova: voltametrie, intoxikace olovem, analýza moči,
krve a stolice, kys. δ -aminolevulová, porfyriny;

Úvod

V současné lékařské praxi je otrava olovem obvykle prokazována chemickou cestou¹ měřením koncentrace olovnatých iontů v krvi a v moči, případně ve stolici (povětšinou atomovou absorpční voltametrií (AAS)), stanovováním kyseliny δ -aminolevulové (ALA) (UV/VIS spektrometrií) v moči a porfyrinů (UV/VIS spektrometrií) v moči. Stav intoxikace pacienta se charakterizuje pomocí všech těchto indikátorů současně.

Provádění všech uvedených analýz podle předepsaných postupů^{2,3} je značně časově i instrumentálně náročné. Určité zjednodušení představuje voltametrické stanovení olova navržené v práci⁵. V předkládané práci byla použitelnost této metody ověřena při různých způsobech intoxikace

Experimentální část

Pro voltametrická měření byl použit jednak polarografický analyzátor PA-3 se statickou rtuťovou elektrodou SMDE-1 v režimu visící rtuťové kapkové elektrody HMDE (vs. referentní nasycená argenochloridová a pomocná platinová elektroda), ve spojení se zapisovačem XY 4105 (vše Laboratorní přístroje, Praha), jednak počítačem řízený Eco-Tribo Polarograf (Polaro-Sensors, spol. s r. o., Praha)⁴.

Pracovní metodou byla diferenční pulsní anodická roz-pouštěcí voltametrie v režimu „fast scan“. Pro odstranění vzdušného kyslíku sloužilo vybublání dusíkem.

Při fotometrických stanoveních byl užit spektrofotometr Spekol 11 (Carl Zeiss Jena). Mineralizace odebraných vzorků byla prováděna za pomoci topného hnízda a vodní lázně.

Při určování, zda mezi náhodnými experimentálně určovanými proměnnými je nějaká závislost, byla posuzována její těsnost pomocí tzv. korelačního koeficientu ρ resp. jeho odhadu r (cit⁵⁻⁷). Ten charakterizuje těsnost závislosti dvou náhodných veličin pro případ, že jde o závislost lineární. Jeho výpočet a způsob aplikace včetně ověření tzv. nulové hypotézy je podrobně zpracován v cit.⁵

Mineralizace

Tělní vzorky (krev, moč i stolice) byly před analýzou mineralizovány předepsaným postupem¹. Konkrétní postup včetně homogenizace byl popsán hlavně v cit.^{1,2,8}. V našem případě byl při mineralizaci krve, moči i stolice použit postup popsaný v našem sdělení⁵.

Voltametrické stanovení olovnatých iontů

10 ml mineralizátu bylo převedeno do voltametrické nádoby a okyseleno 0,1 ml koncentrované HCl. Měření bylo prováděno metodou katodické diferenční pulsní voltametrie na visící rtuťové kapkové elektrodě v dvouelektrodovém zapojení s počátečním potenciálem $E_{in} = -200$ mV a konečným $E_{fin} = -500$ mV vs. nasycená kalomelová elektroda SKE, rychlostí polarizace 20 mV.s⁻¹. Pík olova byl registrován u -375 mV vs. SKE. Při vyhodnocení voltametrických měření byla použita metoda standardního přídatku. Každé měření bylo třikrát opakováno.

Stanovení porfyrinů a kyseliny δ -aminolevulové

Stanovení moči a kyseliny δ -aminolevulové bylo prováděno spektrofotometricky podle postupů popsaných v našem předchozím sdělení⁵.

Charakteristika sledovaných osob

a) Perorální otrava

Pacientka (17 let, váha 51 kg, výška 163 cm) úmyslně požila větší množství (cca 700 ks) olovených diablek, s cílem omezit chuť k jídlu (perorální otrava).

b) Otrava s kombinovanou cestou vstupu

Pacient (32 let, váha 89 kg, výška 182 cm) byl zaměstnán při montáži licích automatů na olovo. Na jeho pracovišti byly soustavně vyšší hladiny koncentrace olova ovzduší (5 až 25krát), než připouští norma což bylo příčinou chronické intoxikace olovem.

c) Inhalační otrava

Pacient (38 let, váha 84 kg, výška 172 cm) byl zaměstnán jako tavič olova u šachtové pece. Na jeho pracovišti byly soustavně zjišťovány (3 až 85krát) vyšší hodnoty hladiny olova v ovzduší, než připouští norma. Příčinou hospitalizace byla profesionální intoxikace olovem.

Výsledky a diskuse

Výsledky stanovení indikátorů otravy

Při stanovení olova v moči byla standardní relativní odchylka samotného měření pod 1 %. Reprodukovatelnost záznamů byla lepší než ± 1 %. Mezilaboratorní reprodukovatelnost stanovení se pohybovala v rozmezí ± 15 %. Obdobné

hodnoty reprodukovatelnosti i mezilaboratorní reprodukovatelnosti byly dosaženy i při stanovení ostatních sledovaných indikátorů otravy.

Vyhodnocována byla stanovení jak absolutního množství výše uvedených látek vyloučených z těla za jeden den (kyseliny δ -aminolevulové, semikvantitativních porfyrinů, olova v moči a v krvi) (viz např. obr. 1), tak jejich koncentrace v krvi a v moči (kyseliny δ -aminolevulové, olova v moči, v krvi a ve stolici) (viz např. obr. 2). Pokud byl odběr prováděn vícekrát za den, byl proveden u absolutních množství součet a u koncentrací výpočet váženého průměru.

Vzhledem k tomu, že u pacientky s perorální otravou bylo přibližně známo, jaké množství olovených broků pozřela, bylo voltametricky sledováno i celkové množství vyloučeného olova v moči (obr. 3).

Optimalizace počtu a druhu měření

Pro optimalizaci měření byly korelovány koncentrační výsledky i absolutní množství vyloučených látek následovně:

1. *Bez použití antidot:* a) Výsledek ze dne d vs. výsledek ze dne d ; b) výsledek ze dne d vs. výsledek ze dne $d + 1$; c) Výsledek ze dne d vs. výsledek ze dne $d - 1$;
2. *Při užití antidot:* a) Výsledek ze dne d vs. výsledek ze dne d ; b) Výsledek ze dne d vs. výsledek ze dne $d + 1$; c) Výsledek ze dne d vs. výsledek ze dne $d - 1$; d) Výsledek ze dne $d + 1$ vs. výsledek ze dne $d + 1$.

Cílem porovnání bylo zjištění případných časových souvislostí mezi analyzovanými složkami v průběhu metabolických procesů.

Z literatury je známo, že dosahované korelace jsou ze statistického pohledu, velmi nízké. Např. podle cit.⁹ u sledovaných pracovníků exponovaných olovu po delší dobu byly zjištěny korelační koeficienty mezi výsledky jednotlivých stanovení max. 0,8, běžně však kolem 0,3–0,5.

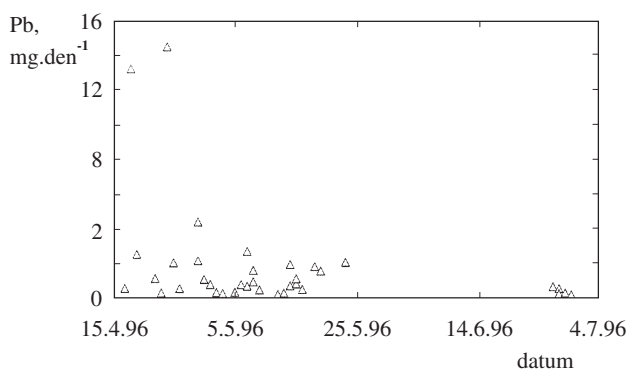
Srovnání výsledků jednotlivých typů otrav

Kombinovaná cesta vstupu

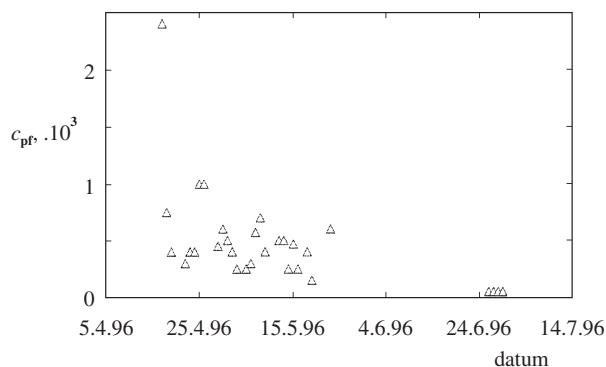
Zmíněný pacient nebyl léčen antidoty. Výběrové párové korelační koeficienty dosahovaly pouze relativně nízkých hodnot (nejvyšší r u absolutních množství nedosahovalo ani 0,3 a u koncentračních množství 0,4), což však odpovídá poznatkům dle cit.⁹ Tyto výsledky neodpovídají očekávané profesionální otravě, ale naznačují, že ke vstupu kovu do těla došlo více cestami.

Inhalační otrava

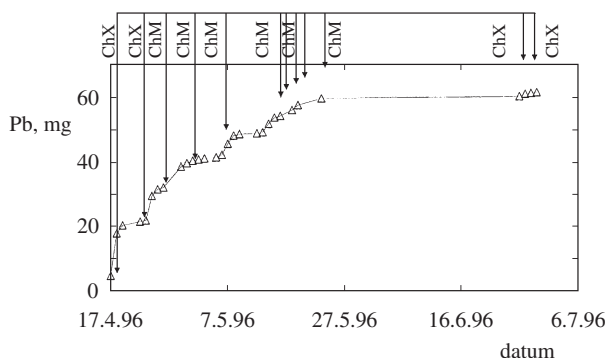
Také tento pacient nebyl léčen antidoty. Korelace mezi výsledky stanovení absolutního množství δ -aminolevulové kyseliny a semikvantitativně stanovených porfyrinů z jednoho dne hospitalizace d dosahovaly hodnot pouze okolo $r = 0,56$, avšak korelace výsledků ze dne hospitalizace d s výsledky ze dne hospitalizace $d - 1$ (resp. $d + 1$) těchto látek již dosahovala $r = 0,92$ až $0,98$. Korelace mezi koncentracemi těchto látek ze stejných dnů byly o něco nižší, avšak přesto dosáhly významných hodnot ($r = 0,88$ – $0,89$).



Obr. 1. Absolutní množství olova v moči pacientky s perorální otravou během léčby



Obr. 2. Koncentrace semikvantitativně stanovených porfyrinů c_{pb} (mg.l^{-1}) v moči pacientky s perorální otravou během léčby



Obr. 3. Celková suma vylučovaného olova v moči během léčby pacientky s perorální otravou; šipky označují použití Antidot: ChX – Chelintox a ChM – Chemet

Zároveň došlo ke zvýraznění korelací mezi koncentrací δ -aminolevulové kyseliny a olova v moči (z cca $r = -0,02$ na $-0,55$).

Perorální otrava

Korelace absolutních množství sledovaných látek ve dnech bez podávání antidot byly porovnány s obdobnými hodnotami při jejich aplikaci; dosáhly hodnoty až $r = 0,69$ (absolutní

množství kyseliny δ -aminolevulové vs. absolutní množství semikvantitativně stanovených porfyrinů). Při korelování absolutních množství vyloučených indikátorů otravy v jednotlivých dnech léčby, kdy byla podávána antidota, se dnem následujícím byly hodnoty r nevýznamné ($r < 0,30$).

Srovnání korelací koncentračních hodnot ze všech dnů hospitalizace při podávání antidot vykazala nejvyšší korelaci dvojice: koncentrace δ -aminolevulové kyseliny vs. semikvantitativně stanovené porfyriny ($r = 0,74$), obdobně jako koncentrace semikvantitativně stanovených porfyrinů vs. koncentrace olova v krvi ($r = -0,68$). Korelace s koncentrací olova v moči byla poněkud nižší ($r = 0,55$).

Pokud byly korelovány jen koncentrace analytů ve dnech podání antidot, byly obdrženy absolutně nejvyšší korelace ($r = -0,54$) u dvojice olovo v moči vs. olovo v krvi, (i když ze statistického hlediska málo významné); u této dvojice došlo k podstatnému zvýšení oproti dnům bez podání antidot ($r = -0,03$).

Obecně lze konstatovat, že výběrové párové korelační koeficienty pocházející z korelací dnů následujících po dnech podání antidot byly vyšší, i když nedosahovaly obdobných hodnot ze stejných dnů odběru.

Ostatní korelace koncentračních hodnot i absolutních množství byly zanedbatelné.

Případ perorální otravy se jevil vhodným pro provedení srovnání jednotlivých ukazatelů otravy, neboť bylo možno předpokládat, že pro relativně nízký věk pacientky (17 let) a pobyt v životním prostředí znečištěném olovem pod hygienickými normami, byl její organismus před otravou zatížen pouze běžným pozadím sledovaného olova. Nebylo známo, že by dříve pacientka trpěla chorobou, která by mohla výsledky stanovených složek zkreslit. Korelace byly relativně nízké, neboť organismus z části teprve vytvářel depozitum olova.

Závěr

Provedená měření plně prokázala, že voltametrie je z hlediska časové a investiční náročnosti i přesnosti vhodnou metodou pro určování všech typů otravy organismu olovem. Po provedené mineralizaci vzorků, která je stejná jako při užití AAS, lze voltametrické metody, především pak DPV, aplikovat ke stanovení koncentrace (resp. absolutního množství) olova v krvi, v moči i ve stolici.

Dále byl proveden pokus o optimalizaci počtu a druhu prováděných stanovení prostřednictvím výpočtů výběrových párových korelačních koeficientů mezi jednotlivými ukazateli u všech způsobů otravy olovem. Bylo jisté, že s délkou doby expozice olovu rostou i korelace mezi jednotlivými indikátory

otravy. U osob s delší dobou expozice (a tím pádem i s tzv. vyšším depozitem) dochází po podání antidot ke zvýšenému vylučování indikátorů otravy.

Z vypočtených výsledků vyplynulo, že nejvyšší hodnoty párových korelačních koeficientů byly nalezeny mezi koncentrací, resp. absolutním množstvím kyseliny δ -aminolevulové a ostatními indikátory. Pro potvrzení tohoto závěru bude však třeba provést srovnání většího počtu vzorků od různých pacientů při různých typech otrav.

Autoři děkují za finanční podporu grantu GA ČR reg. č. 203/98/P239.

LITERATURA

1. Bardoděj Z., David A., Šedivec V., Škramovský S., Teisinger J.: *Expoziční testy v průmyslové toxikologii*. Avicenum, Praha 1980.
2. De Medinilla J., Espigares M.: *J. Soc. Occup. Med.* 41, 107 (1991).
3. Grabecki J., Haduch T., Urbanovica H.: *Int. Arch. Gewerbepathol. Gewerbehyg.* 23, 226 (1967).
4. *Manuál k počítačovému Eco-Tribo Polarografu PC-ETP*. Polaro-Sensors, Praha 1994–98.
5. Dlasková Z., Navrátil T., Novotný L., Pelclová D., Mádllová P.: *Chem. Listy* 93, 142 (1999).
6. Eckschlager K.: *Chemometrie*. Karolinum, Praha 1991.
7. Meloun M., Militký J.: *Statistické zpracování experimentálních dat*. Edice Plus, Praha 1994.
8. Goldfrank L. R., Flomenbau N. E.: *Goldfrank's Toxicologic Emergencies*, 5. vyd. Appleton and Lange, New York 1994.
9. Hirata M., Yoshida T., Miyajima K., Kosaka, H. Tabucho T.: *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 68, 58 (1995).

T. Navrátil^a, Z. Dlasková^b, D. Pelclová^b, and L. Novotný^a (^a*UNESCO Trace Element Satellite Centre, J. Heyrovsky Institute of Physical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic*, ^b*Toxicological Laboratory, Clinic for Occupational Diseases, First Medical Faculty, Charles University, Prague*): **Use of Voltammetric Methods for Investigation of Lead Content in Organism in Various Intoxications**

Applicability of voltammetric methods to lead determination in various intoxications was verified. The measurements proved that voltammetry is, from the viewpoints of time and investment demands as well as accuracy, an appropriate method for diagnosis of all types of lead intoxications.