

PŮVODNÍ PRÁCE

Klinická štúdia vzťahu hladiny selénu v plazme k atopickej dermatitíde – porovnanie výsledkov stanovenia metódami galvanostatickej rozpúšťacej chronopotenciometrie a atómovej absorpčnej spektrometrie

PLANKOVÁ A., MIKUŠ P., HAVRÁNEK E.

Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmaceutickej analýzy a nukleárnej farmácie, SR

Došlo 22. dubna 2009 / Prijato 10. června 2009

SÚHRN

Klinická štúdia vzťahu hladiny selénu v plazme k atopickej dermatitíde – porovnanie výsledkov stanovenia metódami galvanostatickej rozpúšťacej chronopotenciometrie a atómovej absorpčnej spektrometrie

Vonkajšie faktory životného prostredia, fajčenie a stres podnecujú v našom organizme tvorbu veľmi reaktívnych voľných častíc – radikálov. V prípade nedostatku vhodných obranných mechanizmov v organizme, tieto reaktívne častice vytvárajú v tele prostredie pre vznik zápalových chorôb. Ľudské telo má vlastné obranné mechanizmy chrániace organizmus pred voľnými radikálmi. Z tohto hľadiska nadobúdajú zvýšený význam najmä antioxidanty, čo sú látky schopné neutralizovať voľné radikály. Jedným z kľúčových antioxidantov je práve nutričný prvok selén, význam ktorého už bol potvrdený množstvom rôznych štúdií¹⁾. Cieľom práce bolo vypracovať a optimalizovať pracovné podmienky pri identifikácii a stanovení selénu v krvnej plazme u pacientov trpiacich na zápalové kožné ochorenie, ktorým je atopická dermatitída. Stanovené hodnoty selénu u pacientov s uvedeným ochorením boli porovnané s hodnotami selénu, ktoré boli stanovené u skupiny zdravých jedincov. Cieľom práce bolo taktiež vyhodnotiť súvis medzi zníženou hladinou selénu v organizme a atopickou dermatitídou ako aj sledovať vplyv užívania prípravku s obsahom selénu na priebeh ochorenia. Merací postup bol verifikovaný porovnaním výsledkov obsahu selénu získaných novšou elektrochemickou analytickou metódou – galvanostatickou rozpúšťacou chronopotenciometriou (SCP) s výsledkami získanými komparačnou metódou – atómovou absorpčnou spektrometriou s generovaním hydridov (HGAAS).

Kľúčové slová: selén – antioxidanty – galvanostatická rozpúšťacia chronopotenciometria – atopická dermatitída

Čes. a slov. Farm., 2009; 58, 109–115

Adresa pre korešpondenciu:

RNDr. Alexandra Planková
Katedra farmaceutickej analýzy a nukleárnej farmácie
Farmaceutická fakulta UK
Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, Slovenská republika
e-mail: plankova@fpharm.uniba.cz

SUMMARY

A clinical study of the relationship of selenium plasma level to atopic dermatitis, a comparison of the results of determination using the methods of galvanostatic dissolution chronopotentiometry and atomic absorption spectrometry

In the human organism, the external factors of the environment, smoking and stress provoke the production of very reactive free particles – radicals. In the case of deficiency of suitable protective mechanisms in the organism, these reactive particles produce the conditions for the development of inflammatory diseases in the body. The human body possesses protective mechanisms of its own to defend the organisms against free radicals. From this viewpoint, particularly antioxidants, i.e. substances capable to neutralize free radicals, are of increased importance. One of the antioxidants of key importance is the nutritional element selenium, the importance of which has already been confirmed in a number of different studies ¹⁾. The present paper aimed to elaborate and optimize the working conditions in the identification and determination of selenium in blood plasma in patients suffering from atopic dermatitis, an inflammatory skin disease. The selenium values found in patients suffering from the above-mentioned disease were compared with the selenium values determined in a group of healthy subjects. The paper also aimed to evaluate the connection between a decreased selenium level and the organism and atopic dermatitis as well as to examine the influence of the administration of a preparation containing selenium upon the course of the disease. The procedure of measurement was verified by comparing the results of selenium content obtained by a more recent electrochemical analytical method – galvanostatic solution chronopotentiometry (SCP) – with the results obtained by a comparative method – hydride generation atomic absorption spectrophotometry (HGAAS).

Key words: selenium – antioxidative agents – galvanostatic solution chronopotentiometry – atopic dermatitis

Čes. a slov. Farm., 2009; 58, 109–115

Má

Úvod

Anorganický selén bol v minulosti považovaný za výlučne toxický prvok pre biosystémy. V posledných rokoch sa zistilo, že zohráva významnú úlohu v biosystémoch, ale len vo veľmi nízkych koncentráciách. Selén je v nízkych koncentráciách esenciálny prvok nevyhnutný pre rast zvierat i ľudí, ale vo vysokých koncentráciách má toxické vlastnosti. Pri nedostatku selénu v organizme výrazne klesá aktivita enzýmu glutationperoxidázy a tak mnohé, nie však všetky prejavy jeho deficitu možno vysvetliť zníženou antioxidačnou ochranou organizmu.

Funkčnou formou selénu sú biologicky aktívne selénoproteíny. Uvedené enzýmy chránia bunky pred oxidačným stresom. Selén sa môže vyskytovať vo forme anorganických i organických zlúčenín. V biologických procesoch hrajú kľúčovú úlohu organické zlúčeniny selénu – selénaminokyseliny, peptidy obsahujúce selén, selénoderiváty nukleových kyselín, príp. iné zlúčeniny ²⁾. Početné pokusy na zvieratách preukázali pozitívnu koreláciu medzi príjmom selénu a vývojom imunokompetencie (fagocytárne funkcie, proliferácia T-lymfocytov a pod.) hlavne pri mláďatách. Klinické štúdie potvrdili dôležitý účinok selénu na imunitu ľudského organizmu ³⁾.

Množstvo selénu v ľudskom organizme závisí od jeho príjmu z potravín a od fyziologického stavu organizmu. V tele dospelého človeka je bežne 5–10 mg selénu, v prírodných oblastiach chudobných na selén iba 5–6 mg. V ľudskom organizme asi polovica celkového množstva selénu je zhromaždená v pečeni, ďalej sa nachádza

v obličkách a v štítnej žľaze. Koncentrácia v krvi by mala dosahovať hodnoty okolo 0,1 mg.l⁻¹, z toho 60 % v červených krvinkách a 40 % v krvnom sére. Za optimálny denný príjem selénu sa považuje 1 µg na kg hmotnosti ⁴⁻⁷⁾. Nedostatok selénu okrem vplyvu na znižovanie imunity môže súvisieť s rozvojom mnohých ochorení, ako sú rôzne nádorové ochorenia, kardiovaskulárne ochorenia, zápalové ochorenia – napr. zápal kože – atopická dermatitída ⁸⁾.

Selén je významný najmä pre jeho antioxidačné účinky, viaže voľné radikály a pôsobí protektívne proti poškodeniam membrán. Autorov ⁹⁾ k liečbe selénom doviedol fakt, že u jedného malého dieťaťa s ťažkou atopickou dermatitídou (AD) bol pozorovaný aj dieteticky navodený nedostatok minerálov a stopových prvkov. Po suplementácii prvkov bolo pozorované promptné zlepšenie kožného nálezu a upravenie laboratórnych parametrov krvného vyšetrenia. Avšak s následným poklesom hladiny selénu bolo pozorované opätovné prepuknutie atopickej dermatitídy, pričom ostatné parametre po suplementácii zostali v norme. To viedlo k predpokladu, že len suplementácia selénom mala pozitívny efekt na priebeh AD.

Atopická dermatitída je chronické, prípadne chronicky recidivujúce zápalové ochorenie kože, charakterizované výrazným svrbením. Ochorenie sa často vyskytuje u pacienta spolu s inými prejavmi atopie, ako je alergická rinitída, alergická konjunktivitída a alergická bronchiálna astma. Prejavy atopickej dermatitídy sa menia s vekom pacienta a s intenzitou zápalu. Na spustení ochorenia majú úlohu nielen faktory prostredia – inha-

lačné alergény – roztoče domáceho prachu, pele, zvieracia srst, ale aj potravinové alergény, mliečne bielkoviny, ovocie, ryby, vajcia, konzervačné prostriedky, prekonané infekcie a aj individuálne faktory, medzi ktoré zaraďujeme stres, psychovegetatívne a psychosomatické poruchy. Atopické ochorenia postihujú 5–20 a viac percent populácie.

Príčina atopickej dermatitídy nie je dosiaľ celkom objasnená. Pre mladší vek sú charakteristické prejavy zápalovo-exsudatívne (erytém, pluzgieriky, krusty) a pre neskorší vek sú charakteristické zápalovo-proliferatívne prejavy (lichenoidné papuly, lichenifikácia a prurigo-papuly). Atopická dermatitída je chronicko-recidivujúce ochorenie, charakterizované svrbením a ekzematóznymi kožnými léziami. Ochorenie je výsledkom interakcie medzi vonkajším prostredím a vnútorným prostredím predstavaným poruchou kožnej bariéry, sklonom k infekciám a poruchami v bunkovej a humorálnej imunite.

U pacientov s atopickou dermatitídou pozorujeme zvýšený sklon ku kolonizácii zlatým stafylokokom a nedostatočnú schopnosť produkovať antimikróbne peptidy potrebné k potlačeniu osídlenia kože baktériami. Významnú úlohu v patofyziológii atopickej dermatitídy má stres a endokrinné mechanizmy. Pozorujeme aj poruchy v humorálnej imunite. Zisťujeme často senzibilizáciu včasného typu na rôzne alergény prostredia.

Pacienti s atopickou dermatitídou majú aj poruchu v bunkami sprostredkovanej imunite. Prejavuje sa v zvýšenej náchylnosti na vírusové, baktériové a mykotické infekcie kože. Úlohu má najmä stafylokokový superantigén, ktorý ovplyvňuje regulačné T-lymfocyty a tieto strácajú svoju imunosupresívnu funkciu^{10, 11}.

Pozorujeme aj znížený počet NK-buniek a aj supresorových T-lymfocytov. Pokles supresorovej aktivity T-lymfocytov má za následok hyperaktivitu v humorálnej odpovedi na rozličné nepatogénne antigény. Rozhodujúcim faktorom je chýbanie dostatočnej Th1 na úkor Th2 aktivity. U pacientov s aktívnymi prejavmi atopickej dermatitídy pozorujeme výraznú prevahu Th1. U pacientov s atopickou dermatitídou bola dokázaná aj porucha chemotaxie a fagocytózy neutrofilných granulocytov a chemotaxia monocytov.

Atopickú dermatitídu charakterizujú aj poruchy vegetatívneho nervového systému. Najznámejší je biely dermografizmus. Je to sklon ku kontrakcii ciev u atopikov. Manifestuje sa to aj porovnateľne nižšou teplotou kože prstov a výraznou kontrakciou ciev kože prstov po expozícii chladu. Tlmenie aktivity beta-receptorov vyúsťuje do nižšieho reaktívneho vzostupu cAMP s vyššou tendenciou k tvorbe zápalových mediátorov. Porušením rovnováhy medzi alfa a beta adrenergými receptormi možno pravdepodobne vysvetliť aj zvýšenú citlivosť buniek hladkej svaloviny krvných ciev a pilomotorických vlákien. Chýbajúce tlmenie syntézy protilátok indukované cAMP môže mať za následok ich zvýšenú tvorbu.

Ďalšie funkčné poruchy kože sú sebastáza – znížená produkcia mazových žliaz. Vzniká pravdepodobne v dôsledku poruchy v oblasti tvorby ceramidov alebo v poruche látkovej výmeny esenciálnych mastných kyselín. Nedostatok delta-6-desaturázy môže mať aj imunologické následky. Na nepravidłnostiach v látkovej výme-

ne esenciálnych mastných kyselín sú založené aj diéty s kyselinou gama linolénovou.

Vyskytujú sa aj poruchy vylučovania potu. Uvažuje sa o prenikaní potu do okolitej dermy pri upchatí vývodov a tam vyvolaní zápalu. Pot obsahuje IgE aj zápalové mediátory.

Psychologické a nervové faktory sa významne prejavujú pri zhoršovaní ochorenia. Stres účinkuje prostredníctvom adenylcyklázového systému cAMP.

Liečba atopickej dermatitídy je mnohostranná a závisí od klinického obrazu, veku pacienta, kombinácie s inými prejavmi atopie. Vnútorná liečba je založená na podávaní antihistaminík. Na zlepšenie prejavov dermatitídy sa aplikujú na pokožku rôzne lokálne pôsobiace protizápalové externá s obsahom kyslíčnika zinočnatého, kortikosteroidov, biologik a iných účinných protizápalových látok¹².

POKUSNÁ ČASŤ

Analyzovaný materiál – krvná plazma

Krvná plazma je nažltlá opaleskujúca tekutina tvoriaca spolu s krvnými elementmi základ krvi. Získava sa odstredením nezrážanlivej krvi, čo je krv s prídavkom antikoagulačnej látky (heparín). Obsahuje asi 91 % vody a 9 % rozpustených látok. Rozpustené látky sú organického i anorganického pôvodu. Organické látky je možné rozdeliť na bielkovinové a ostatné.

Bielkovinové súčasti plazmy

Bielkovín je v plazme približne 7–8 %. Je možné ich rozdeliť na dve základné frakcie – vláknité albumíny s mólovou hmotnosťou okolo 70 000 g.mol⁻¹ a kľbkovité globulíny s mólovou hmotnosťou okolo 150 000 g.mol⁻¹. Albumíny tvoria zhruba tri pätiny celkového obsahu bielkovín, globulíny zvyšné dve pätiny.

Pomer albumínov a globulínov sa nazýva albuminoglobulinový kvocient. Fyziologicky ma číselnú hodnotu okolo 1,5. Zvýšená či znížená hodnota albuminoglobulinového kvocientu sa odrazí v sedimentácii erytrocytov a indikuje patologický stav. Bielkoviny krvnej plazmy sú v dynamickej rovnováhe a neustále sa obmieňajú. Plazmatické bielkoviny sú teda dôležitým transportným medzičlánkom bielkovinového metabolizmu. Albumíny sú hlavným nositeľom koloidne osmotického (onkotického) tlaku krvi a majú taktiež transportnú funkciu – tvoria komplexy s tyrozínom, steroidnými hormónmi, kovmi, bilirubínom, vápnikom či lipidmi.

Funkcia globulínov je veľmi rozmanitá. Zúčastňujú sa zrážania krvi a rozpúšťania trombov, regulujú krvný tlak a hospodárenie s vodou a elektrolytmi, majú obrannú a transportnú funkciu.

Anorganické súčasti plazmy

Anorganických látok je v plazme asi 1 %. Sú tvorené hlavne rôznymi disociovanými anorganickými soľami.

Ich stála koncentrácia v plazme a konštantný vzájomný pomer sú nevyhnutné pre správnu funkciu všetkých orgánov a tkanív ¹³⁾.

Použitá metóda – SCP

Galvanostatická rozpúšťacia chronopotenciometria (SCP) je dvojfázová elektrochemická analytická metóda. V prvej fáze sa na povrchu pracovnej elektródy z roztoku vylúči pri konštantnom potenciáli analyt, ktorý sa v druhej fáze konštantným prúdom rozpustí, pričom sa registruje zmena potenciálu pracovnej elektródy v priebehu rozpúšťania, $E = f(t)$. Zmena potenciálu od času má tvar oxidačno-redukčnej titračnej krivky. Z tejto závislosti možno zistiť hodnotu tzv. prechodového času T , t.j. dobu potrebnú na rozpustenie určitého depozitu. Výhodami SCP je polykomponentnosť analýzy, možnosť stanoviť nízke až stopové koncentrácie prvkov, rýchlosť analýzy, možnosť analyzovať série vzoriek. Meria sa čas namiesto prúdu, pričom čas rozpúšťania je krátky. Počas rozpúšťacej fázy neprechádza pracovnou elektródou žiadny prúd, tzn. táto technika nie je zaťažovaná interferenciami elektroaktívnych častíc prítomných v meraných roztokoch. Ďalšou výhodou je automatická optimalizácia rozpúšťacieho kroku, tzn. potenciál pracovnej elektródy sa nemení lineárne, ale počas oxidácie jednotlivých kovov zostáva takmer nemenný, pokiaľ nedôjde k ich úplnému rozpusteniu ^{14, 15)}.

Vzorky, ktoré obsahujú anorganické a organické zložky, je potrebné pred analýzou elektrochemickými analytickými metódami mineralizovať. Cieľom mineralizácie je totálna deštrukcia organických zložiek a skupín, ktoré sú elektrochemicky aktívne a mohli by stanovenie malých, resp. stopových množstiev minerálnych zložiek rušiť ^{15, 16)}.

Použitá metóda stanovenia a prístrojová technika

Obsah selénu v analyzovaných vzorkách sme stanovovali galvanostatickou rozpúšťacou chronopotenciometriou (SCP) za použitia elektrochemického analyzátora ECA – SENSOR (výrobca Istran spol. s.r.o., Bratislava). Analyzátor ECA – SENSOR obsahuje zabudovaný:

- elektródový systém: indikačná – vymeniteľná kompozitná pozlátená uhlíková elektróda
- referenčná – argentochloridová elektróda
- Výrobca elektródového systému: Istran spol. s.r.o., Bratislava ¹⁵⁾ (tab. 1 a 2).

Použitá chemikálie a materiály

Pri analýze boli použité chemikálie (p.a.) a deionizovaná voda.

Použité roztoky:

- roztok základného elektrolytu – 0,100 mol.l⁻¹ H₂SO₄ + 0,001 mol.l⁻¹ HCl
- zlatiaci roztok – 0,001 mol.l⁻¹ HAuCl₄ v 0,020 mol.l⁻¹ HCl
- štandardný roztok na štandardný prídavok Se^{IV} 10,000 mg.l⁻¹ pripravený zriedením certifikovaného referenčného materiálu

- syntetická vzorka pre overenie funkčnosti senzora Se^{IV} 10,000 g.l⁻¹ v roztoku základného elektrolytu

Použitá metóda – HGAAS

Metóda atomovej absorpčnej spektrometrie s generovaním hydridov HGAAS spočíva v generácii hydridov analytu po redukcii na hydrid v kvapalnej fáze, jeho prevedení do plynnej fázy a následnej atomizácii v optickej dráhe atómového absorpčného spektrometra. Základným

Tab. 1. Hodnoty pracovných parametrov odporúčaných výrobcom

Parameter	Hodnota
potenciál nahromadenia	-200 mV
počiatočný potenciál	-200 mV
koncový potenciál	1000 mV
rozpušťač prúd	10 µA
doba ustálenia	5 s
maximálne trvanie merania	30 s
regeneračný potenciál	1000 mV
doba regenerácie	10 s
objem vzorky	25 ml
doba nahromadenia vzorky	60 s
doba nahromadenia pozadia	10 s
doba nahromadenia štandardu	60 s
stand by potenciál	-200 mV
objem štandardného prídavku	0,10 ml

Tab. 2. Metrologické parametre pri stanovení selénu pomocou SCP

Parameter	Koncentrácia Se (µg.l ⁻¹)	Hodnota chyby
správnosť	0,5–1,0	20 %
	1,0–10,0	10 %
	10,0–100,0	5 %
	100,0–1000,0	10 %
opakovateľnosť	1,0	0,2 µg
	100,0	5,0 µg
reprodukovateľnosť	1,0	0,3 µg
	100,0	10,0 µg
detekčný limit		0,2 µg.l ⁻¹

rysom tejto techniky je separácia analytu od matrice a jeho vyššia koncentrácia v absorpčnom prostredí v porovnaní s klasickými metódami AAS. V hydridovom atomizátore nie sú spektrálne interferencie závažným problémom. Charakteristickým rysom nespektrálnych interferencií je, že nie sú aditívne, je možné ich korigovať technikou prídavkov.

Použitá metóda stanovenia a prístrojová technika

Obsah selénu v analyzovaných vzorkách bol stanovený za použitia atómového absorpčného spektrofotometra SpectrAA.200 fy. Varian, Australia. Merania sa uskutočnili využitím hydridovej techniky s modulom VGA-77

a techniky elektrotermickej atomizácie s deutériovou kompenzáciou pozadia s modulom GTA-100. Na meranie použila katódová selénová výbojka – prúd na lampe 10 mA, vlnová dĺžka 196 nm, šírka štrbiny 1,0 nm bez kompenzácie pozadia. Atomizačným prostredím bola kremenná kveta vyhrievaná na 900 °C.

Podmienky mineralizácie vzoriek pre stanovenie metódami SCP a HGAAS

Mineralizácia vzoriek bola realizovaná za zvýšeného tlaku – autokláv, (typ: Laboratorní autoklav ZA – 1, výrobca: JZD „Pokrok“ Zahnašovice, okr. Kroměříž) a zvýšenej teploty (teplovzdušná sušiareň, teplota 160 °C. Čas mineralizácie bol 100 minút.

Za zvýšenej teploty a tlaku sa v autokláve mineralizovali 2 ml analyzovanej plazmy s prídavkom 2 ml koncentrovanej HNO_3 . Optimálny čas a teplota potrebné pre dokonalú mineralizáciu organickej matrice vzorky boli určené experimentálne mineralizáciou viacerých vzoriek, pričom sa sledoval vplyv teploty a času.

Po ukončení mineralizácie sa vychladnutý mineralizát kvantitatívne preniesol do 25 ml odmernej banky, pridal sa 5 ml základného elektrolytu a banka sa doplnila po značku deionizovanou vodou ¹⁵⁾.

Použité chemikálie a materiály

Pri analýze boli použité chemikálie (p.a.) a deionizovaná voda.

Použité roztoky:

- roztok základného elektrolytu – 0,100 mol.l⁻¹ H_2SO_4 + 0,001 mol.l⁻¹ HCl
- zlatiaci roztok – 0,001 mol.l⁻¹ HAuCl_4 v 0,020 mol.l⁻¹ HCl
- štandardný roztok na štandardný prídavok – Se^{IV} 10,000 mg.l⁻¹ pripravený zriedením certifikovaného referenčného materiálu
- syntetická vzorka pre overenie funkčnosti senzora – Se^{IV} 10,000 g.l⁻¹ v roztoku základného elektrolytu

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Práca bola zameraná na stanovenie obsahu selénu u ľudí s atopickou dermatitídou. Cieľom bolo zistiť, či u pacientov s týmto zápalovým ochorením sa potvrdí súvis uvedeného ochorenia so zníženou hladinou selénu. Na porovnanie bola analyzovaná aj hladina selénu u 50 zdravých ľudí. Hodnoty selénu u zdravých pacientov sa pohybovali v intervale od 46,70 $\mu\text{g.l}^{-1}$ po 72,50 $\mu\text{g.l}^{-1}$, pričom zistená priemerná hodnota bola $61,52 \pm 2,19 \mu\text{g.l}^{-1}$. Priemerná hodnota selénu u dospeljej populácie na Slovensku je 58,40 $\mu\text{g.l}^{-1}$ ¹⁷⁾.

Skupine 100 pacientov s atopickou dermatitídou bola odobratá krv a následne v krvnej plazme stanovená hladina selénu. Hladina selénu sa pohybovala v intervale od 25,20 $\mu\text{g.l}^{-1}$ po 56,56 $\mu\text{g.l}^{-1}$, pričom priemerná hodnota bola $40,28 \pm 1,66 \mu\text{g.l}^{-1}$. Pacienti po 1. odbere začali užívať prípravok Zinkosel (Achatpharma), pričom jedna tableta uvedeného prípravku obsahovala 40 μg selénu. Po troch mesiacoch užívania prípravku pacientom bola znova odobratá krv a stanovená hladina selénu sa v krvnej plazme zvýšila v priemere o 6 $\mu\text{g.l}^{-1}$. Po polročnom užívaní prípravku a následnom stanovení selénu sa hladina zvýšila zhruba o 11 $\mu\text{g.l}^{-1}$ oproti hodnotám na začiatku terapie. Zvýšenie hladiny selénu je pomerne nízke, čo mohlo byť spôsobené aj nízkym každodenným príjmom selénu, ktorý bol 40 μg Se (Se v anorganickej forme), pričom odporúčaná denná dávka je 50–100 μg . V uvedenom súbore sa nachádzali aj pacienti, u ktorých sa hladina selénu takmer nemenila a bola počas polročného užívania uvedeného prípravku zhruba konštantná. Boli to pacienti s ťažšími prejavmi atopickej dermatitídy.

Stanovené hodnoty selénu u pacientov s atopickou dermatitídou, ktoré sa pohybovali v intervale od 25,20 $\mu\text{g.l}^{-1}$ po 56,56 $\mu\text{g.l}^{-1}$ boli omnoho nižšie ako stanovené hodnoty u zdravých pacientov, ktoré boli v intervale od 46,70 $\mu\text{g.l}^{-1}$ po 72,50 $\mu\text{g.l}^{-1}$. Z uvedených meraní

Tab. 3. Stanovené hodnoty selénu u pacientov s atopickou dermatitídou a ich vyhodnotenie

Parametre	Meranie pred užívaním Zinkoselu ($\mu\text{g.l}^{-1}$)	Meranie po 3 mesiacoch užívania Zinkoselu ($\mu\text{g.l}^{-1}$)	Meranie po 6 mesiacoch užívania Zinkoselu ($\mu\text{g.l}^{-1}$)
minimum	25,20	29,50	35,40
maximum	56,56	61,24	67,09
$\bar{x}$	40,28	46,93	51,32
$L_{1,2}$	$40,28 \pm 1,66$	$46,93 \pm 1,61$	$51,32 \pm 1,69$
s	8,40	8,62	8,52
n	100	100	100

$\bar{x}$ – aritmetický priemer, $L_{1,2}$ – interval spoľahlivosti, $L_{1,2} = \bar{x} \pm s \cdot t_{\alpha} / n^{1/2}$, $t_{\alpha} = 1,984$ pre $n = 100$, n = počet meraní, s – smerodajná odchýlka priemeru, $s = (\sum \Delta i^2 / n)^{1/2}$

Tab. 4. Stanovené hodnoty selénu u zdravých pacientov a ich vyhodnotenie

Parametre	1. meranie hladiny selénu ($\mu\text{g.l}^{-1}$)
minimum	46,70
maximum	72,50
R	25,80
$\bar{x}$	61,52
$L_{1,2}$	$61,52 \pm 2,19$
s	7,74
n	50

$\bar{x}$ – aritmetický priemer, R – rozpätie, $R = x_{\max} - x_{\min}$, $L_{1,2}$ – interval spoľahlivosti, $L_{1,2} = \bar{x} \pm s \cdot t_{\alpha} / n^{1/2}$, $t_{\alpha} = 2,008$ pre $n = 50$, n = počet meraní, s – smerodajná odchýlka priemeru, $s = (\sum \Delta i^2 / n)^{1/2}$

Tab. 5. Porovnanie hodnôt Se u zdravých pacientov metódou SCP a AAS

Pacient	Koncentrácia selénu stanovená pomocou SCP ($\mu\text{g.l}^{-1}$)	Koncentrácia selénu stanovená pomocou AAS ($\mu\text{g.l}^{-1}$)
A	46,70	46,12
B	71,10	70,99
C	66,25	66,45
D	60,38	60,49
E	52,10	52,87
F	59,66	59,11
G	64,27	63,96
H	53,95	53,17
I	68,29	68,98
J	72,50	72,06

Tab. 6. Štatistické vyhodnotenie výsledkov pre metódu SCP a AAS

Parametre	Štatistické vyhodnotenie výsledkov pre metódu SCP ($\mu\text{g.l}^{-1}$)	Štatistické vyhodnotenie výsledkov pre metódu AAS ($\mu\text{g.l}^{-1}$)
$\bar{x}$	61,25	61,42
R	25,80	25,94
$L_{1,2}$	$61,52 \pm 6,02$	$61,42 \pm 6,13$
s_R	8,38	8,43
s	8,55	8,70

$\bar{x}$ – aritmetický priemer, R – rozpätie, $R = x_{\max} - x_{\min}$, s_R – smerodajná odchýlka, $s_R = k_n \cdot R$, ($k_n = 0,3249$ pre $n = 10$), $L_{1,2}$ – interval spoľahlivosti, $L_{1,2} = \bar{x} \pm s \cdot t_{\alpha} / n^{1/2}$, $n = 10$, $t_{\alpha} = 2,228$, hl. významnosti = 0,05, s – smerodajná odchýlka priemeru, $s = (\sum \Delta i^2 / (n-1))^{1/2}$

možno konštatovať, že väčšine pacientov sa počas užívania prípravku s obsahom selénu zdravotný stav zlepšil, a teda na základe zistených skutočností možno predpokladať súvis nízkej hladiny selénu a uvedeného ochorenia (tab. 3 až 8).

Merací postup bol verifikovaný porovnaním vybraných výsledkov obsahu selénu získaných galvanostatickou rozpúšťacou chronopotenciometriou (SCP) s výsledkami získanými komparačnou metódou – atomovou absorpčnou spektrometriou s generovaním hydridov (HGAAS).

Tab. 7. Porovnanie hodnôt Se u pacientov s atopickou dermatitídou metódou SCP a AAS

Pacient	Koncentrácia selénu stanovená pomocou SCP ($\mu\text{g.l}^{-1}$)	Koncentrácia selénu stanovená pomocou AAS ($\mu\text{g.l}^{-1}$)
A	43,48	43,62
B	46,19	45,83
C	39,39	39,63
D	34,13	33,58
E	35,94	36,54
F	39,03	39,84
G	37,03	37,37
H	30,05	30,63
I	28,06	27,74
J	25,20	25,42

Tab. 8. Štatistické vyhodnotenie výsledkov pre metódu SCP a AAS

Parametre	Štatistické zhodnotenie pre metódu SCP ($\mu\text{g.l}^{-1}$)	Štatistické zhodnotenie pre metódu AAS ($\mu\text{g.l}^{-1}$)
$\bar{x}$	35,80	36,02
R	20,99	20,41
$L_{1,2}$	$35,82 \pm 4,69$	$36,02 \pm 4,69$
s_R	6,82	6,63
s	6,66	6,66

$\bar{x}$ – aritmetický priemer, R – rozpätie, $R = x_{\max} - x_{\min}$, s_R – smerodajná odchýlka, $s_R = k_n \cdot R$, ($k_n = 0,3249$ pre $n = 10$), s – smerodajná odchýlka priemeru, $s = (\sum \Delta i^2 / (n-1))^{1/2}$, $L_{1,2}$ – interval spoľahlivosti, $L_{1,2} = \bar{x} \pm s \cdot t_{\alpha} / n^{1/2}$, $n = 10$, $t_{\alpha} = 2,228$, hl. významnosti = 0,05)

ZÁVER

Na stanovenie selénu bola použitá novšia elektrochemická analytická metóda – galvanostatická rozpúšťacia chronopotenciometria, ktorej citlivosť a správnosť je na úrovni AAS (14). Potenciál maxima rozpúšťacieho píku (Ep) Se v základnom elektrolyte – roztok kyseliny sírovej ($C_{H_2SO_4} = 1.10^{-1} \text{ mol.l}^{-1}$) a kyseliny chlorovodíkovej ($C_{HCl} = 1.10^{-3} \text{ mol.l}^{-1}$) nameraný oproti argentochloridovej elektróde bol 870 mV.

Výsledky stanovenia obsahu selénu v krvnej plazme sú spolu s matematicko-štatistickým vyhodnotením podľa ¹⁸⁾ uvedené v tabuľkách 3 až 8. Obsah selénu bol vyhodnotený metódou štandardného prídavku, ktorého linearita bola najskôr experimentálne overená. Výsledky matematicko-štatistického vyhodnotenia – hodnota odhadu smerodajnej odchýlky (s_R) potvrdzujú dobrú reprodukovateľnosť metódy.

Správnosť výsledkov analýz bola overená prídavkom štandardného roztoku pripraveného z certifikovaných referenčných materiálov dodaných Slovenským metrologickým ústavom. SCP má všetky predpoklady pre jej využitie v kontrolnej farmaceutickej praxi pri

analýze selénu v biologickom materiáli (výhody metódy: rýchlosť, ekonomičnosť, nízka medza stanoviteľnosti, správnosť výsledkov, dobrá reprodukovateľnosť meraní).

Práca je súčasťou výskumného programu podporovaného v rámci grantovej úlohy č. 1 / 4299/07 grantovou agentúrou MŠ SR VEGA.

LITERATÚRA

1. Fairweather-Tait, S., Hurst, R.: Am. J. Clin. Nutr., 2009; 89, 927–928.
2. Guo, L., Jury, W. A., Frankerberger, W. T., Zhang, Y. Q.: J. Environ. Qual., 2000; 29, 1041–1048.
3. Lu, J., Holmgren, A.: J. Biol. Chem., 2009; 284, 723–727.
4. Štiková, O. et al.: Výskumný ústav zemédělské ekonomiky pro Výskumný ústav potravinářsky. Bratislava, Praha 1998.
5. Kajaba, I., Šimončič, R., Ginter, E. a kol.: Vestník MZ SR, 45, čiastka 7–8, zo dňa 28. 04. 1997.
6. Hlava, P., Žemberyová, M., Kovács a kol.: Čs. Pediat., 1996; 51, 444–446.
7. Yoshinaga, J., Shirasaki, T., Oishi, K., Morita, M.: Anal. Chem., 1995; 67, 1568–1574.
8. Haid, J., Planková, A., Kolibášová, K., Havránek, E.: Čes.-slov. Derm., 2006; 81, 217.
9. Ranjbar A., Pizzulli A.: Int. Pediatrics, 2002; 16, 96–104.
10. Ou L. S., Goleva E., Hall C., Leung D. Y.: J. Allergy Clin. Immunol., 2004; 113, 756–763.
11. Kahay, J., Haid, J., Kočíšová, M.: Nežiadúce účinky liekov na kožu. Martin: Osveta 1992, s. 173.
12. Haid, J., Danilla, T., Lidaj, J.: Dermatovenerologická propedeutika, e-learning. Bratislava: SZU, 2008.
13. Bóznér, A.: Farmakologická propedeutika. Osveta: Martin 1988, s. 274.
14. Konvalina, J., Vytřas, K.: Chem. Listy, 2001; 95, s. 344–352.
15. EcaSenzor. Metodická príručka. Istran s.r.o., Bratislava, 1998, s. 43.
16. Matusiewicz, H., Sturgeon, R. E., Berman S. S.: J. Anal. At. Spectrom., 1991; 6, 283–287.
17. Madarič, A., Kadrabová, J.: Farm. Obzor, 1997, LXVI; 259–262.
18. Eckschlager, K., Horsák, I., Kodejš, Z.: Vyhodnocování analytických výsledků a metod. Praha: SNTL 1980, s. 243.

NOVÉ KNIHY

Ackermann G. (ed.): **Antibiotika und Antimykotika. sv. 8 „Medizinisch-pharmakologisches Kompendium“**. Stuttgart: Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, 2009; 3. přepracované a rozšířené vydání, 560 s., cena 64 €

Nové vydání monografie o antibiotikách a antimykotikách, které sepsal autor s týmem předních odborníků, a jejíž druhé vydání vyšlo v roce 1995 pod názvem „Antibiotika und Chemoterapeutika“, odráží významné pokroky a změny, ke kterým v této oblasti terapie protiinfekčních chorob v uplynulých letech došlo.

Za obecným úvodem a farmakokinetice, farmakodynamice, problematice imunitních reakcí a rezistence, nejrozsáhlejší první část podává aktuální informace o antibiotikách (včetně antituberkulotik) a antimykotikách, které má současná terapie k dispozici. V rámci jednotlivých kapitol za obecnými

pokyny následují stručné monografie hlavních zástupců, které podávají potřebné informace o spektru jejich účinku, farmakokinetických vlastnostech, indikacích včetně rezistence, kontraindikacích a vedlejších projevech. Zvláště podrobně je probírána skupina přírodních i syntetických antibiotik, naproti tomu o antituberkulotikách a antimykotikách je pojednáno stručněji.

V klinicky orientované druhé části tématem 22 kapitol je léčení jednotlivých druhů bakteriálních a plísňových infekcí a ve speciální třetí části vedle terapie sepsu je to léčení hlavních orgánů (srdce, dýchací, zažívací a urogenitální trakt, kůže aj.) včetně tuberkulózy. Kapitoly závěrečné, páté části se zabývají problematikou terapie infekcí novorozenců a dětí, těhotných žen a pacientů s poruchami ledvin

Publikaci uzavírá bohatá literatura obecného charakteru i speciálně k jednotlivým skupinám léčiv a typů infekcí.

A. Borovanský