

DOKTORI ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**BIOLÓGIAI ANYAGOK NEUTRONAKTIVÁCIÓS
ELEMZÉSE**

Írta:

ÖRDÖGH MÁRIA
a kémiai tudományok kandidátusa

Din 31

Budapest, 1978.

I. Előzmények és a kitűzött feladat rövid összefoglalása

Már régebben felismerték, hogy számos nyomelem jelenléte és koncentrációja az élőszervezetek megfelelő működésénél fontos szerepet játszik. Közismert az is, hogy bizonyos nyomelemek koncentrációja a szervezetnek a normálistól eltérő működése vagy pedig terápiás beavatkozások esetében megváltozik. Ma már számos kísérleti adat áll rendelkezésre arra vonatkozóan, hogy a nyomelemek nagy koncentrációkülönbségeket mutatnak az egyes szervekben is, a nyomelemek eloszlása egy adott szerven belül nem egyenletes. Egyetlen minta analízise tehát nem reprezentálja az egész szerv nyomelembeloszlását, a lényeges nyomelemek koncentrációi jelentősen változhatnak egyetlen szerv makroszkópiusan homogén részében. Megállapították továbbá, hogy a mintavétel előtti és a latti állapot is a nyomelemek koncentrációk változásait idézi elő aszerint, hogy pl. a vérvétel éhgyomorra vagy táplálék felvétele után történt, vagy pedig, ha a vizsgált egyén a vérvétel előtt mozgott vagy egy bizonyos ideig pihent.

Biológiai anyagok nyomelemeinek vizsgálatánál az aktivációs analízis egyik legelterjedtebb módszer. Mint a fentiekből látnátó azonban, a módszer pontossága és precizitása egyre fontosabb követelmény, hiszen sok esetben 20-30%-os, esetleg még ennél is kisebb eltérés már funkcionális változás eredménye lehet; az irodalomban közölt módszerek közül sok éppen ezt a követelményt nem veszi figyelembe.

Eljárásunk kidolgozásánál tehát egyrészt a pontosság és precizitás iránti követelményt tartottuk szem előtt, elsősorban lényeges nyomelemekkel foglalkozva igyekeztünk megbízható eredményeket kapni és megvizsgáltuk, hogy pontosságuk és precizitásuk biológiai anyagok vizsgálatához kielégítő-e. Másrészt olyan komplex eljárás kidolgozására törekedtünk, amely különböző eredetű biológiai minták vizsgálatára egyaránt alkalmas. Harmadsorban pedig, minthogy a nyomfémek nagyrésze köztudomásosan enzimekhez és fehérjékhez kötve játszik fontos szerepet az élőszervezetek anyagcsere folyamataiban, az aktivációs analitikai módszernek olyannak kell lennie, amely nem csupán a nyomelemek összkoncentrációját tudja megadni, hanem pl. különböző enzimecsoportok izolálása után a nyomelemkoncentrációk mérésére a módszernek megbízhatónak kell maradnia. Az ilyen, biokémiai jellegű vizsgálatok száma a szakirodalomban ma még kevés, pedig a nyomelemkutató végző célja természetesen az, hogy segítséget nyújtson az egyes elemek funkcióinak jobb megértéséhez. Ugy gondoljuk, hogy az általunk kidolgozott komplex eljárás az említett három követelményt teljesíteni tudja.

Az értekezés első része aktivációs analitikai módszerünk ismertetését tartalmazza. Kísérleteinkhez modellanyagként a Bowen-féle kelkáposzta mintát választottuk, amely a sok éves nemzetközi összehasonlító vizsgálatok eredményeként biológiai anyagokra vonatkozóan standard referens anyagnak tekinthető. Egyes esetekben azonban, amikor egy-egy nyomaleme kisebb koncentrációban fordul elő, mint a kelkáposztában, a módszert más biológiai anyagok, így teljes vér vagy szérum

analízisével is ellenőriztük vagy módosítottuk. Rendszeres méréseknel meghatároztunk néhány nem nyomelemet is, minthogy a gamma-spektrumból jól kiértékelhetők és megnézük, hogy ezen elemek meghatározására az aktivációs analízis cél-szerűen használható-e vagy sem.

Aktivációs analitikai eljárásunkat a legkülönbözőbb gyakorlati feladatok megoldására alkalmaztuk, elsősorban különböző klinikák megkeresésére, velük szoros együttműködésben. Ezeknek a vizsgálatoknak ismertetését tartalmazza az értekezés második része.

II. Kísérleti eszközök és módszerek

A biológiai mintákat a VVR-Sz atomreaktorban sugá-roztuk be, a minta pozíciójától függően $2-4 \cdot 10^{13} \text{ cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ neutronfluxus sűrűséggel. Rövid, néhány perces besugárzási idők esetében a mintákat a reaktor egyik függőleges csator-nájába beépített pneumatikus mintatovábbító berendezés segít-ségével juttattuk a besugárzás helyére. A berendezés automa-tikusan működtethető, a besugárzás befejeztével a minta kb. 5 s. alatt érkezik vissza a laboratóriumba.

A gamma-spektrumok felvételéhez Nuclear Enterprises 3×3 in. NaI/Tl/, Nuclear Diodes 45 cm^3 Ge/Li, végül Canberra 80 cm^3 Ge/Li detektort használtunk a feladat természetétől függően. A detektornak kezdetben 512, majd 1024, később 4096 csatornás analízátor csatlakozott.

A gamma-spektrumok kiértékelése ICT-1905 számoló-gépen, megfelelő programok segítségével történt.

III. Az új tudományos eredmények összefoglalása

Biológiai anyagok vizsgálatára kidolgozott eljárásunk részben roncsolásmentes, részben néhány nyomelem meghatározására megfelelő kémiai elválasztási lépéseket alkalmaztunk. Tisztán műszeres eljárással a következő elemeket határoztuk meg: nátrium, klór, kálium, mangán, magnézium, vanádium, kalcium, antimon, szkandium, rubidium, vas, cink és kobalt. Azon elemek esetében, amelyeknél a roncsolásmentes eljárás vagy egyáltalán nem volt keresztülvihető, vagy pontossága nem volt kielégítő, kémiai elválasztást alkalmaztunk. Ilyenkor szelektív vagy közeli szelektív kémiai reakciókat igyekeztünk választani abban a reményben, hogy 1-2 lépéssel megfelelő tisztaságot érünk el. Ezek, a klasszikus kémiából ismert, de kísérleteink szerint gyors radiokémiai elválasztásokra is sikeresen alkalmazható kémiai reakciók a következők voltak: réz meghatározására a réz/I/-tiocianát alakban, mangánra a mangán-ammónium-foszfát monohidrát alakban történő lecsapás, molibdén esetében az α -benzoin-oxim reagenssel történő lecsapás bizonyult alkalmasnak. Hasonlóan jó eredményt értünk el a kálium meghatározásának esetében inaktív kálium-tetrafenil-borát csapadékon történő szelektív megkötéssel.

Az általunk kapott eredményeket a Bowen által összegyűjtött adatokból származó aktivációs analitikai "nagy-átles"-szel összehasonlítva az alábbi következtetéseket vonhatjuk le:

1. Néhány elem esetében módszerünk pontossága és

precizitása az általunk kitűzött célok megvalósításához igen jó, ezek réz, vas, mangán, rubidium, cink, molibdén; valamennyien lényeges nyomelemek. Az igen jó pontosság mellett méréseink precizitása gyakran valamivel jobb, mint a Bowen által adott értékek.

2. Mivel elegendően nagy számú elemzést végeztünk, megfelelő pontosságot értünk el néhány nem nyomelem, a kalcium, kálium és nátrium esetében; a nátriumnál a szórás is kicsi, a másik két elemnél azonban nagyobb, mint $\pm 10\%$. Mivel ilyen nagy mennyiségek esetében más analitikai módszerekkel nagyobb pontosság érhető el, a kálium és kalcium meghatározására a lángfotometria vagy az atomabszorpciós spektroszkópia bizonyára megbízhatóbb. Pontos eredmény érhető el a káliumra a fentebb említett kémiai elválasztásos eljárással, amelynek alkalmazása nyommenyiségű kálium esetében célszerű.

3. Nagy értéket kaptunk a szkandium esetében. Mindkét fotocsúcsának kiértékelését zavarja egyrészt a cink-65 izotóp közel azonos energiájú fotocsúcsa, másrészt ugyanezen izotóp Compton-éle. Gépi kiértékelés segítségével a szétválasztás megoldható, de a szkandiumra elég nagy hibát kapunk. Egyes biológiai mintákban azonban nagyobb szkandium mennyiségek is előfordultak és ilyenkor igen megbízható eredményeket kaptunk.

4. A biológiai anyagok kobaltot általában igen kis mennyiségben tartalmaznak, a gamma-spektrometriás mérés gépi kiértékelése meglehetősen nagy hibával jár; az általunk megadott eredmény magasnak tűnik. Becker és munkatársai a mi eredményünkhöz igen hasonló értéket kaptak és úgy gondolják,

hogy a Bowen-féle átlagérték túlságosan kicsi.

5. A magnézium és vanádium esetében véleményünk szerint a neutronaktivációs analízis gyors, áttekinthető mérésekre alkalmas.

Eljárásunk megbízhatóságának igazolására résztvettünk a Nemzetközi Atomenergia Ügynökség által 1972/73-ban szervezett nemzetközi összehasonlító vizsgálatsorozatban szárított burgonyapor és kizsolt és porított állati csont elemzésével. A kelkíposztára kapott eredmények, valamint ez az összehasonlító vizsgálat azt bizonyítja, hogy az általunk kidolgozott eljárás megbízható, a célul kitűzött hármas követelményt teljesíteni tudja.

Eljárásunk különböző, elsősorban orvostudományi kutatások céljaira került felhasználásra. Egyik ilyen munkánk a belsőfül folyadékok nátrium- és káliumtartalmának meghatározása volt. Ebben az esetben az aktivációs analízis alkalmazását a minta rendkívül csekély mennyisége indokolta.

Állati vérminták nyomelemeinek vizsgálatára módszerünk változtatás nélkül alkalmazható. Vérminták analízisére csak a liofilizált vért találtuk alkalmasnak. Ennek a rendkívül fontos biológiai anyagnak nyomelemösszetételére az irodalomban található adatok még ma is meglehetősen nagy szórással rendelkeznek, így vizsgálata jelentős.

Normál és szürkehályogos szemlencsék nyomelemtartalmának vizsgálatánál módszerünket csupán annyiban módosítottuk, hogy a kívánt 8 nyomelem meghatározása három szemlencséből történt, mivel a biológiai anyagoknál jól kezelhető 0,1 g száraz minta helyett - egyetlen szemlencsét anali-

zálva - csak mintegy ötször kisebb mintamennyiség állt rendelkezésünkre. Ezért a réz és mangán megbízható meghatározása céljából külön-külön lencsét használtunk. Nagyszámú szemlencse vizsgálatával kellőképpen megbízható eredményekhez jutottunk, amely segítséget nyújthat az irodalomban található rendkívül ellentmondó adatok értelmezéséhez. Különösen figyelemre méltó az a megállapításunk, hogy a rubidium a szürkehályog progressziója során a káliumhoz hasonlóan viselkedik.

Kombinált neutronaktivációs és spektrofotometriás módszert dolgoztunk ki emberi nyirokcsomók szilíciumtartalmának meghatározására azért, hogy segítséget nyújtsunk a szilikózis megbetegedés korai stádiumban történő diagnosztizálásához. Egészséges emberek és szilikotikus betegek nyirokcsomóit vizsgáltuk és a kapott eredményeket különböző szempontok szerint dolgoztuk fel.

Végül eljárásunk roncsolásmentes változatát sikeresen alkalmaztuk levegőminták szervesetlen összetevőinek elemzésére. Ez a vizsgálat sorozat biológiai szempontból azért tekinthető fontosnak, mert a környezet szennyezettségének fokozódásával egyes fémek az élőszervezetekben feldúsulhatnak és eddig még kevésbé tisztázott, de feltehetően kedvezőtlen hatást fejtenek ki. A levegőmintákat egy éven keresztül analizáltuk, tehát mind a négy évszak meteorológiai viszonyainak hatását megfigyelhettük.

IV. Az értekezés anyagával kapcsolatos közlemények és elő-
adások

Közlemények

1. Ürdögh, M., Miriszlai, E.: Determination of Sodium and Potassium by Neutron Activation Analysis for the Investigation of the Electrolyte Balance of the Inner Ear. Preprint /1967/-SM-91/54.
2. Ürdögh, M., Miriszlai, E.: Electrolyte Balance of the Inner Ear Investigated by Neutron Activation Analysis of the Sodium and Potassium Content. Proc. of Symp. on "Nuclear Activation Techniques in the Life Sciences". IAEA, Vienna 479 /1967/.
3. Miriszlai, E., Ürdögh, M.: Adatok a belsőfül folyadék biokémiai meghatározásához emlőseken. Fül-, orr-, és szemgyógyászat, 17, 247 /1971/.
4. Miriszlai, E., Ürdögh, M., Bodánszky, H.: Experimentelle Untersuchungen bei Flüssigkeitsverlusten an Perilymphe bei Säugetieren. Wiss. Z. Univ. Halle, XX*71 M, H.1. 140.
5. Orbán, É., Ürdögh, M., Szabó, E., Miskovits, G., Dubay, M.: Szilícium, aluminium és foszfor meghatározása biológiai anyagokban neutronaktivációs és spektrofotometriás módszerrel. KFKI Közlemények, 17, 39 /1969/.
6. Miskovits, G., Orbán, É., Dubay, M., Appel, J., Ürdögh, M., Szabó, E.: Comparative Determination of Silicon in Lymph Nodes by Neutron Activation and Spectrophotometry. Acta Morphologica Acad. Sci. Hung., 18, /1/ 73 /1970/.
7. Miskovits, G., Orbán, É., Dubay, M., Appel, J., Ürdögh, M., Szabó, E.: Szilícium meghatározása neutronaktivációs analízissel angulus venosus nyirokcsomókban. Munkavédelem,

XVI, 1-3 45 /1970/.

8. Orbán,É., Ördögh,M., Szabó,E., Miskovits,G., Dubay,M.: Analysis of Silicon, Aluminium and Phosphorus in Biological Samples by Neutron Activation and Spectrophotometry. *Biochemical Medicine*, 3, 221 /1969/.
9. Miskovits,G., Orbán,É., Ördögh,M., Appel,J.: Die vergleichende Untersuchung der mediastinalen und der Halslymphknoten auf Siliziumgehalt. *Zbl. allg. Path.*, 116, 204 /1972/.
10. Ördögh,M., Csath,G., Szabó,E.: Chemical Separation Methods for the Determination of Trace Elements in Blood by Neutron Activation Analysis. A III. Conferinta Nationala de Chimie Analitica. IV, 35 /1971/.
11. Ördögh,M., Orbán,É., Miskovits,G., Appel,J., Szabó,E.: Lymph Node Test for Silicosis by Activation Analysis Combined with Spectrophotometry. *Int. J. Appl. Radiation and Isotopes*, 25, 61 /1974/.
12. Miskovits,G., Orbán,É., Appel,J., Ördögh,M.: Nyirokcsomók szilíciumtartalmának meghatározása neutronaktivációs analízissel. *Tuberk. és tüdőbetegs.*, XXIV, /11/ 322 /1971/.
13. Ördögh,M., Kálmán,L.: Neutron Activation Analysis of Airborne Inorganic Pollutants. Report KFKI-75-3.
14. Ördögh,M., Rácz,P.: Investigations on Inorganic Elements in Human Lenses of Normal and Senile Cataractous Character. Proc. of 1976 Int. Conf. on "Modern Trends in Activation Analysis", 1, 291 /1976/.

- 14a. Ördögh, M., Rácz, P.: Investigations on Inorganic elements in Human Lenses of Normal and Senile Cataractous Character. Journ. Radioanal. Chem., 37, 451 /1977/.
15. Rácz, P., Ördögh, M.: Investigations on Trace Elements in Normal and Senile Cataractous Lenses. Albrecht v. Graefes Arch. Klin. exp. Ophthalm., 204, 67 /1977/.
16. Ördögh, M.: Biológiai anyagok aktivációs elemzése. A kémia Újabb eredményei 1976. Akadémiai Kiadó, Budapest.
17. Ördögh, M.: A Complex Method for the Neutron Activation Analysis of Biological Materials. Report KFKI 1978-36.
18. Sziklai-László, I., Ördögh, M.: Retention of ^{32}P activity Interfering with the Neutron Activation Analysis of Trace Elements in Biosamples. Report KFKI-1978-46.
19. Ördögh, M.: A Complex Neutron Activation Method for the Analysis of Biological Materials. J. Radioanal. Chem., 46, /1/ 1978.

Előadások

1. Ördögh, M., Miriszlai, E.: Determination of Sodium and Potassium by Neutron Activation Analysis for the Investigation of the Electrolyte Balance of the Inner Ear. Symp. on "Nuclear Activation Techniques in the Life Sciences". Amsterdam, 1967.
2. Ördögh, M.: Biológiai anyagok vizsgálatával kapcsolatos kémiai elválasztási problémák. Radiokém. Elvél. Koll. Mátrafüred, 1967.
3. Miriszlai, E., Opletal, A., Bodánszky, H., Ördögh, M.: Fraktionierte Untersuchungen mit Neutronenaktivierungsanalyse in den Innenohrflüssigkeiten. Konferenz über auserwählte Fragen der Physiologie und Pathologie des inneren Ohres. Prága, 1968.
4. Miriszlai, E., Ördögh, M., Bodánszky, H.: Experimentelle Untersuchungen bei Flüssigkeitsverlusten an Perilymphe bei Säugetieren. II. Internationales Symp. "Gegenwärtiger Stand der Cochleaforschung". Halle, 1968.
5. Ördögh, M.: Biológiai anyagok vizsgálata neutronaktivációs analízissel. Akt. Anal. Tanfolyam. BME, 1968.
6. Ördögh, M.: Beszámoló a reaktoros aktivációs analitikai kutatásokról. Radioanalitikai Munkabizottság ülése. Budapest, 1970.
7. Appel, J., Ördögh, M., Orbán, E., Miskovits, G.: Nyirokcsomók szilíciumtartalmának meghatározása neutronaktivációs analízissel. A Magyar Pathológusok Társasága és a Magyar Anatómusok, Histológusok és Embriológusok Társasága Kongresszusa. Pécs, 1971.

8. Ürdögh, M., Csath, G., Szabó, E.: Chemical Separation Methods for the Determination of Trace Elements in Blood by Neutron Activation Analysis. A III. Conferinta Nationala de Chimie Analitica. Brasov, 1971.
9. Ürdögh, M.: A neutronaktivációs analízis újabb alkalmazásai biológiai anyagok vizsgálatára. Analitikai Ankét, Budapest, 1971.
10. Ürdögh, M., Kálmán, L.: Neutron Activation Analysis of Inorganic Pollutants in the Environment. IV. Polska Konferencja Chemii Analitycznej. Warszawa, 1974.
11. Ürdögh, M.: Nyomelemek neutronaktivációs analitikai meghatározása biológiai anyagokban. Összefoglaló előadás a "Magyon kis koncentrációk /ppm-ppb nagyságrend/ mérésé" c. tanfolyamon. Dobozkő, 1974.
12. Ürdögh, M., Kálmán, L.: Levegőszennyezés meghatározása aktivációs analízissel. "Radioaktív módszerek a környezetvédelemben". MTA Radioanalitikai Munkabizottsága és a MKE Radioanalitikai Szakcsoportja tudományos ülészaka, Miskolc, 1975.
13. Ürdögh, M., Rácz, F.: Investigations on Inorganic Elements in Human Lenses of Normal and Senile Cataractous Character. Int. Conf. on "Modern Trends in Activation Analysis". München, 1976.
14. Ürdögh, M.: Humán eredetű biológiai anyagok nyomelemeinek neutronaktivációs elemzése. Összefoglaló előadás az Országos Sugárbiológiai Intézetben. Budapest, 1977.
15. Ürdögh, M.: Komplexszűj neijtrono-aktivacionnój metod dija opregyelényija szogyerzsanyija szledov elementov v biologicseszkih materialah. IV. Vezeszojuznae Szovescsanyije po Aktivacionnomu Analizu. Tbiliszi, 1977.

Kiadja a Központi Fizikai Kutató Intézet
Felelős kiadó: Krén Emil
Példányszám: 270 Törzsszám: 78-730
Készült a KFKI sokszorosító üzemében
Budapest, 1978. augusztus hó