

Zawartość metalicznych i niemetalicznych pierwiastków w homogenatach próbek tkankowych pobranych z amputowanych na poziomie uda z powodu miażdżycy kończyn dolnych. Doniesienie wstępne

The content of metallic and non-metallic elements in homogenates of tissue samples collected from the lower limbs amputated on the level of thigh due to atherosclerosis. Preliminary report

Damian Ziaja¹, Ewa John², Barbara Miśkoła², Andrzej Kita², Jerzy Chudek³, Dariusz Stańczyk¹, Tomasz Bolkowski¹, Urszula Mazurek⁴, Grzegorz Biolik¹, Jan Duława⁶, Piotr Szyber⁵, Celina Kruszniewska-Rajs⁴, Teresa Kowalewska-Twardela¹, Krzysztof Ziaja¹

¹Katedra i Klinika Chirurgii Ogólnej, Naczyniowej i Angiologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach (The Department and Clinic of General and Vascular Surgery and Angiology, Medical University of Silesia in Katowice, Poland)

²Zakład Chemii Analitycznej Instytutu Chemii Uniwersytetu Śląskiego w Katowicach (The Department of Analytical Chemistry, Institute of Chemistry, University of Silesia in Katowice, Poland)

³Katedra Patofizjologii Śląskiego Uniwersytetu Medycznego (Department of Pathophysiology, Medical University of Silesia in Katowice, Poland)

⁴Katedra Biologii Molekularnej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach (The Department of Molecular Biology, Medical University of Silesia in Katowice, Poland)

⁵Katedra i Klinika Chirurgii Naczyń, Ogólnej i Transplantologii Akademii Medycznej we Wrocławiu (The Department of General and Vascular Surgery and Transplantology, Wrocław Medical University, Poland)

⁶Katedra i Klinika Chorób Wewnętrznych i Metabolicznych Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach (The Department and Clinic of Internal and Metabolic Diseases, Medical University of Silesia in Katowice, Poland)

Streszczenie

Wstęp: Pierwiastki metaliczne i niemetaliczne mają wpływ na rozwój zmian w zakresie struktury i funkcji naczyń tętniczych w różnych obszarach drzewa naczyniowego. Zawartość pierwiastków w ścianach naczyń tętniczych jest różna w zależności od pochodzenia geograficznego ludzi.

Materiał i metody: Badaniu poddano próbki tkankowe pochodzące z 6 amputowanych na poziomie uda z powodu miażdżycy kończyn dolnych. Średni wiek wyniósł 69 lat (57–84). Próbkę tkankową pobierano z poziomu linii amputacji, tętnicy podkolanowej oraz tętnicy grzbietowej stopy. Po obróbce chemicznej homogenatów tkankowych oznaczano zawartość pierwiastków metodą atomowej spektrometrii emisyjnej z indukcyjnie sprzężoną plazmą (ICP-OES). Oznaczano zawartość: Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, S, Sr i Zn.

Wyniki: Jako punkt odniesienia przyjęto średnią wartość bezwzględną z 6 próbek oznaczoną na poziomie uda. Zawartość pierwiastków niemetalicznych: Ca, P i S wzrasta ku obwodowi amputowanej kończyny, osiągając kilkakrotnie wyższe wartości na poziomie tętnicy grzbietowej stopy. Zawartość niektórych pierwiastków metalicznych: Fe, Zn, K, i Sr wzrasta ku obwodowi kończyny. Gromadzenie Cu było najwyższe na poziomie tętnicy podkolanowej, natomiast Mn, Al i Mg najniższe na tym poziomie, a najwyższe w tętnicy grzbietowej stopy.

Wnioski: Wpływ zawartości poszczególnych pierwiastków na rozwój miażdżycy, a zwłaszcza zmian martwiczych, wymaga dalszych badań. Opisany problem jest jedynie doniesieniem wstępnym mającym na celu zasygnalizowanie problemu oraz sprawdzenie metody analizy składu na poziomie atomowym.

Słowa kluczowe: pierwiastki metaliczne (metale) i niemetaliczne (niemetale), miażdżycza tętnic, niedokrwienie kończyn

Abstract

Background: Metallic and non-metallic elements have influence on the development the changes within structure and function of arteries in different regions of vascular tree. The content of elements into arterial walls varies according to geographical origin of people.

Material and methods: Tissue specimens were taken from the six lower limbs amputated on the level of thigh due to atherosclerosis. The mean age was 69 (57 to 84). Tissue specimens were collected from the limbs from the level of amputation, the popliteal fossa and the dorsal artery of foot. After chemical processing of the tissues homogenates determination of the content of elements using atomic emission spectrometry method with inductively coupled plasma (inductively coupled plasma optical emission spectroscopy) was performed. The content of Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, S, Sr and Zn was determined.

Results: As a point of reference mean absolute value occurred from six specimens on the level of thigh was assumed as 100%. Content of non-metallic elements such as Ca, P and S rise towards to periphery of amputated limb reaching few times higher values on the level of dorsal artery of foot. Content of some metallic elements such as: Fe, Zn, K and Sr also rise towards to periphery of extremity. The Cu accumulation was the highest on the level of popliteal fossa, while Mn, Al and Mg concentration was the lowest on this same level and the highest in dorsal artery of foot.

Conclusions: The influence of individual elements on development the atherosclerosis especially on necrotic changes requires further investigations.

Described problem pose a preliminary report only in order to indicate the issue and to check the method of analysis.

Key words: metallic and non-metallic elements, atherosclerosis, peripheral artery disease

Polish Surgery 2010, 12, 1, 26–32

Źródło finansowania: Śląski Uniwersytet Medyczny — praca statutowa.

Wstęp

Ocena wpływu różnego rodzaju pierwiastków metalicznych i niemetalicznych na zmiany w zakresie struktury i funkcji naczyń tętniczych w różnych obszarach drzewa naczyniowego była przedmiotem licznych badań, szczególnie u pacjentów narażonych na bezpośredni z nimi kontakt. Toksyczny wpływ metali ciężkich, takich jak na przykład ołów, rtęć został dobrze udokumentowany zarówno u pracowników zakładów produkcyjnych, jak i mieszkańców okolicznych miast [1–7].

Oladunni i wsp. [8] oceniali u Afroamerykanów, osób rasy białej kaukaskiej oraz u Nigeryjczyków zawartość wapnia, cynku, magnezu, miedzi, manganu i żelaza w naczyniach ośrodkowego układu nerwowego (OUN) pobranych w czasie badania pośmiertnego mózgu. Nie spostrzegali oni znamiennych statystycznie różnic w zawartości poszczególnych pierwiastków w trzech badanych grupach, z wyjątkiem znacznie wyższego stężenia wapnia, cynku i miedzi u Afroamerykanów. Najwyższe stężenie magnezu stwierdzono u przedstawicieli rasy kaukaskiej. Natomiast u Nigeryjczyków obserwowano najniższe stężenie miedzi i magnezu oraz jednocześnie najwyższe stężenie żelaza. U Afroamerykanów stwierdzono największe nasilenie miażdżycy naczyń mózgowych, nie spostrzegając jednak bezpośredniej korelacji pomiędzy zawartością poszczególnych pierwiastków a rozwojem miażdżycy. Relatywnie wysokie stężenie miedzi i magnezu w naczyniach mózgowych Afroamerykanów i kaukazoidów może wywierać istotny wpływ na rozwój miażdżycy.

Navas-Acien i wsp. [9] stwierdzili, że stężenie kadmu i molibdenu w wydalonym moczu było znacząco wyższe

Background

The estimation of influence the various types of metallic and non-metallic elements on changes within structure and function of arteries in different regions of vascular tree was the subject of many studies, especially in patients opened to their direct contact. The toxic influence of heavy metals e.g. lead, mercury has been well substantiated both in workers of production plants and inhabitants living in surrounding towns [1–7].

Oladunni et al. [8] have established the content of calcium, zinc, magnesium, copper, manganese and iron in Afro-Americans, in white people from Caucasian race and in Nigerians in vessels from central nervous system taken from the brain during post-mortem examinations. They did not find any statistically significant changes in content of individual elements in those three examined groups, with the exception of significantly higher level of calcium, zinc and copper in Afro-Americans. The highest level of magnesium was noted in representatives from Caucasian race. However in Nigerians the lowest levels of copper and magnesium and at the same time the highest level of iron were observed. In Afro-Americans the largest intensification of atherosclerosis within cerebral vessels was diagnosed, but there was not direct correlation between content of individual elements and development of atherosclerosis. Relatively high level of copper and magnesium within cerebral vessel in Afro-Americans and Caucasians may exert significant influence on development the atherosclerosis.

Navas-Acien et al. [9] affirmed that high level of cadmium and molybdenum in urine was significantly higher in patients suffering from peripheral atherosclerosis. Moreover, they stated that low level of antimony has unambiguous relation to prevalence of peripheral atherosclerosis. In

u pacjentów z obwodową miażdżycą. Stwierdzili ponadto, że niskie stężenie antymonu ma jednoznaczny związek z częstością występowania obwodowej miażdżycy. W konkluzji stwierdzili, że kadm, molibden i prawdopodobnie antymon mają bezpośredni wpływ na rozwój obwodowej miażdżycy u mieszkańców Stanów Zjednoczonych.

Alissa i wsp. [10] oceniali wpływ zawartości selenu, miedzi, cynku w moczu i surowicy krwi, stwierdzając u mężczyzn mieszkających w Arabii Saudyjskiej związek pomiędzy powyższymi pierwiastkami i występowaniem uogólnionej miażdżycy z szczególnym uwzględnieniem miażdżycy naczyń wieńcowych. Giacconi i wsp. [11] stwierdzili, że na rozwój miażdżycy spowodowanej różnego rodzaju czynnikami prozapalnymi wpływa deficyt cynku. Wpływ suplementacji selenu i cynku na progresję miażdżycy był przedmiotem badań prospektywnych prowadzonych przez Zuerik i wsp. [12]. Trwająca 7,5 roku suplementacja selenu i cynku w grupie ponad 13 000 badanych hamowała przyrost grubości błony wewnętrznej i środkowej (IMT, *intima-media thickness*).

Zmiany w drzewie naczyniowym obejmujące napływ, przepływ i odpływ w obrębie kończyny dolnej są powodem krytycznego niedokrwienia kończyny i prowadzą u części chorych do zmian martwiczych, w konsekwencji do „zatrucia” całego organizmu (beztlenowa przemiana materii) i „wymuszają” na pacjencie i lekarzu podjęcie decyzji o ratowaniu życia. W dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono natomiast doniesień oceniających wpływ zawartości różnych metalicznych i niemetalicznych pierwiastków u chorych na miażdżycę na rozwój zmian martwiczych w kończynach dolnych będących w konsekwencji przyczyną ich amputacji.

Amputacja, a szczególnie ta powyżej szpary stawu kolanowego, musi być poprzedzona szczegółowymi badaniami obrazowymi i dokładną oceną stanu klinicznego, bowiem prowadzi do kalectwa, które u części pacjentów jest przyczyną trwałego unieruchomienia w łóżku. Amputację można proponować pacjentowi po wyczerpaniu wszelkich sposobów leczenia zachowawczego, operacyjnego (mającego na celu zarówno rekonstrukcję drzewa naczyniowego na drodze naczyniowego przeszczepienia, jak i leczenia endowaskularnego) oraz wobec nieskuteczności wszelkich alternatywnych metod leczenia.

Pacjenci oddziału leczenia chorób naczyń to szczególnie grupa chorych z ostrym, przewlekłym lub krytycznym niedokrwieniem kończyn dolnych. Większość z nich jest nałogowymi palaczami tytoniu. Są to pacjenci o około 10–20 lat starsi od tych leczonych z powodu choroby niedokrwiennej serca i naczyń doprowadzających krew do OUN. Przewlekłość procesu chorobowego, powtarzające się incydenty niedokrwienia i reperfuzji (chromanie przestankowe), mogą być przyczyną gromadzenia różnych pierwiastków metalicznych i niemetalicznych w niedokrwionej kończynie, co może powodować postęp choroby.

Celem niniejszego doniesienia wstępnego była ocena zawartości wybranych pierwiastków metalicznych i niemetalicznych badanych w homogenatach próbek pobieranych (tętnica, żyła, mięsień) na poziomie linii amputacji, na poziomie tętnicy podkolanowej oraz na poziomie stopy.

conclusion they affirmed that cadmium, molybdenum and probably antimony have direct influence on development the peripheral atherosclerosis in citizens of USA.

Alissa et al. [10] evaluated the influence of selenium, copper and zinc concentrations in urine and blood serum on atherosclerosis, and they affirmed that there is in men living in the Saudi Arabia connection between above mentioned elements and prevalence of generalized atherosclerosis in particular affecting coronary arteries. Giacconi et al. [11] stated that zinc deficit has influence on development the arteriosclerosis caused by various types of pro-inflammatory factors. An influence of selenium and zinc supplementation on atherosclerosis progression was the subject of prospective studies conducted by Zuerik et al. [12]. Supplementation with selenium and zinc lasted for seven and half year in group over thirteen thousands of participants decreased the growth of the intima-media thickness (IMT).

Changes within vascular tree including inflow, flow and outflow in lower extremities are the cause of critical limb ischemia and lead in part of patients to development necrotic lesions, in consequence result in “poisoning” total organism (anaerobic metabolism) and “force” the patient and the doctor to make a decision about saving the live. In available literature however any reports was found estimating the influence of various metallic and non-metallic elements contents in patients suffering from atherosclerosis on development the necrotic lesions within lower limbs resulting in amputations.

Amputation, especially this above the knee, has to be preceded with detailed imaging examinations and precise evaluation the clinical state, because it leads to disability that in part of patients is the cause of permanent immobilization in bed. Amputation may be suggested for the patient after all available treatment options are exhausted, including conservative, surgical (in order to reconstruction the vascular tree using by-pass or endovascular procedures) and for the ineffectiveness of all alternative treatment methods.

Patients treated in the vascular departments may be divided into three specific groups due to cause of lower limbs ischemia: acute, chronic and critical. Most of them are habitual smokers. They are around 10–20 years elders from patients treated due to coronary artery and carotid arteries diseases. Chronicity of this disease, recurrent episodes of ischemia and reperfusion — intermittent claudication, may result in accumulation various metallic and non-metallic elements in ischemic extremity; above-mentioned may be the one of the causes of disease progression.

The aim of this preliminary report was the estimation of the content of selected metallic and non-metallic elements in homogenates of tissue samples (artery, vein, muscle) collected from the amputated limb on the level of amputation, from popliteal fossa and from the foot.

Material and methods

Tissue specimens were taken from the six lower limbs amputated on the level of thigh that where purposed for disposal. The cause of amputation were irreversible nec-

Material i metody

Wycinki do badań pobrano z 6 przeznaczonych do utylizacji amputowanych na poziomie uda kończyn dolnych. Przyczyną amputacji były nieodwracalne zmiany martwicze obwodowych części kończyny i brak możliwości wykonania zabiegu rekonstrukcyjnego, w tym zabiegu endowaskularnego, po wyczerpaniu wszelkich alternatywnych sposobów leczenia.

Wszyscy pacjenci kwalifikowani do amputacji byli palaczami papierosów od wczesnej młodości. Średni wiek 69 lat (57–84 lat). Wszyscy pacjenci przebyli zawał serca oraz byli leczeni z powodu niestabilnej choroby wieńcowej, żaden nie chorował na cukrzycę. Morfologia oceniana była rutynowo przed zabiegiem operacyjnym: hematokryt — średnio 36% (32–47%), stężenie hemoglobiny — średnio 10,8 g/dl (10,1–14,7). Zawartość elektrolitów w surowicy krwi również oceniana rutynowo przed zabiegiem operacyjnym wynosiła: K^+ — średnio 3,9 mEq/l (3,7–4,6), Na^+ — średnio 137,5 mEq/l (136–143).

Wycinki obejmujące 1,5-centymetrowy odcinek tętnicy, żyły oraz 2 cm³ mięśnia pobierano na poziomie:

1. linii amputacji udowej;
2. szpary stawu kolanowego;
3. tętnicy grzbietowej stopy.

Pobrano do jałowych próbek materiał przechowywano w temp. –20°C.

Oznaczenia pierwiastków metalicznych i niemetalicznych wykonywano w homogenatach wymienionych próbek. Zawartość poszczególnych pierwiastków oznaczano w mikrogramach na gram suchego homogenatu tkankowego.

Procedura analityczna oznaczania zawartości pierwiastków metalicznych i niemetalicznych w dostarczonych próbkach tkanek ludzkich obejmowała:

1. przygotowanie odważek próbek tkanek mokrych przed liofilizacją;
2. liofilizację próbek — zachowawcze odwodnienie próbek w niskiej temperaturze (–30°C) w warunkach zmniejszonego ciśnienia. Stosowano liofilizator firmy Christ. Martin Christ model Alfa 1–2 LD oraz pompę próżniową o maksymalnym podciśnieniu 0,01 milibara;
3. przygotowanie odważek próbek po liofilizacji w celu ustalenia zawartości wody;
4. ujednolicenie próbek w moździerzu agatowym;
5. mineralizację próbek w środowisku stężonego kwasu azotowego (V) w ciśnieniowym mineralizatorze firmy Plasmatic typ UniClever.

Wykonano oznaczenia: składu jakościowego i półilościowego metodą atomowej spektrometrii emisyjnej z indukcyjnie sprzężoną plazmą (ICP-OES, *inductively coupled plasma optical emission spectroscopy*), oznaczenie ilościowe zawartości Cd, Pb, Ni metodą atomowej spektrometrii absorpcyjnej z atomizacją bezplamieniową. Analizę wykonano na spektrometrze Soolar M-6 Firmy TJA Solutions.

Na podstawie otrzymanych wyników przygotowano program pomiarowy do równoczesnego oznaczania następujących pierwiastków: Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, S, Sr i Zn. Analizę wykonano na spektrometrze emi-

rotic changes within peripheral parts of limbs and lack of possibility to perform any kind of revascularization procedure, including endovascular methods, after all alternative treatment options are exhausted.

All patients qualified for amputation were smokers from early youth. The mean age was 69 (from 57 to 84). All of them had myocardial infarct in the past and were treated due to unstable coronary artery disease, none of them was diabetic. Blood cell count were examined routinely before surgical operation and the mean haematocrit was 36% (32–47%), the mean haemoglobin concentration was 10.8 g/dL (10.1–14.7). Electrolytes levels were also tested routinely before operation and the mean level of potassium was 3.9 mEq/L (3.7–4.6) and the mean sodium level was 137.5 mEq/L (136–143).

Tissue specimens — 1.5 cm segment of artery and vein and 2 cm³ of muscle — were collected from the limbs from:

1. the level of amputation (thigh);
2. the popliteal fossa (region of popliteal joint space);
3. the foot (region of dorsal artery of the foot).

Specimens were store in sterile tubs at decreased temperature to the level of minus 20 centigrade.

Determination the content of metallic and non-metallic elements was performed in homogenates from collected specimens. The content of individual elements was estimated in micrograms per gram of dry tissue homogenate.

Analytical procedure of estimation the content of metallic and non-metallic elements in human tissue specimens:

1. preparation of weighed amounts of wet tissue specimens before lyophilisation;
2. lyophilisation of specimens — conservative dehydration of specimens at decreased temperature minus 30 centigrade in conditions with decreased pressure. Lyophilisator made by Chist company (Martin Chist model alpha 1–2 LD) and vacuum pump with maximal negative pressure 0.01 Milibar were used;
3. preparation of weighed amounts of specimens after lyophilisation for findings of water content;
4. standardisation of specimens in agate mortar;
5. mineralization of specimens in medium of fuming nitric acid (V) into pressure mineraliser type UniClever made by Plasmatic.

Performing the assay:

- determination the qualitative and the semiquantitative composition using atomic emission spectrometry method with inductively coupled plasma ICP-OES;
- on the basis of obtained results measuring program was prepared for concurrent estimation following elements: Al, Ba, Ca, Cu, Fe, K, Mg, Mn, P, S, Sr and Zn. The analysis was performed using emission spectrometer with inductively coupled plasma — Spectroflame M made by Spectro Analytical Instruments;
- determination the quantitative content of Cd, Pb, Ni using atomic absorption spectrometry with flameless atomisation. The analysis was performed using spectrometer Soolar M-6 made by TJA Solutions.

Results compiling:

- validation of applied instrumental methods for their usefulness for analysis of examined specimens;
- statistical results compiling.

syjnym z ICP-OES — Spektroflame M firmy Spectro Analytical Instruments.

Opracowanie wyników analizy obejmowało walidację stosowanych metod instrumentalnych pod kątem ich przydatności do analizy badanych próbek i opracowanie statystyczne otrzymanych wyników.

Wyniki

Ze względu na duże zróżnicowanie zawartości poszczególnych pierwiastków w homogenatach tkankowych jako punkt odniesienia przyjęto średnią wartość bezwzględną z 6 próbek oznaczoną na poziomie uda jako 100%. Do tej wartości odnoszono zawartości poszczególnych pierwiastków w próbkach pobranych na poziomie szpary stawu kolanowego oraz na poziomie tętnicy grzbietowej stopy.

Stwierdzono, że zawartość pierwiastków niemetalicznych, takich jak wapń, fosfor i siarka wzrasta ku obwodowi amputowanej kończyny (tab. I), osiągając w przypadku fosforu i wapnia 4- i 5-krotnie wyższe wartości na poziomie tętnicy grzbietowej stopy. Zawartość niektórych pierwiastków metalicznych, takich jak: żelazo, cynk, potas, bar i stront wzrastała ku obwodowi kończyny, osiągając w przypadku baru ponad 12-krotny, a w przypadku strontu ponad 5-krotny wzrost.

Gromadzenie miedzi było najwyższe na poziomie szpary stawu kolanowego, podczas gdy manganu, aluminium i magnezu najniższe na tym samym poziomie, a najwyższe na poziomie tętnicy grzbietowej stopy.

Dyskusja

Oceniając obrazy arteriograficzne kończyn dolnych u chorych na miażdżycę, najczęściej spostrzega się zmiany w obrębie kanału przywodzicieli w środkowej części uda (uwapnienie zarysu naczynia — RTG). U tych pacjentów tętnica podkolanowa i jej trójpodział ulega zakontrastowaniu poprzez krążenie oboczne. W zależności od długości niedrożnego lub istotnie zwężonego hemodynamicznie odcinka tętnicy udowej chirurg naczyniowy proponuje wykonanie naczyniowego pomostu lub leczenie endowaskularne. U części pacjentów nie uzyskuje się zakontrastowania dalszego odcinka tętnicy udowej, tętnicy podkolanowej i jej trójpodziału. W tej grupie pacjentów jest spostrzegany najwyższy odsetek obwodowych zmian martwicznych.

U pacjentów z brakiem możliwości rekonstrukcji drzewa naczyniowego pojawiające się zmiany martwiczne obwodowych części kończyny są wskazaniem do amputacji. W tej grupie pacjentów logiczny wydaje się obwodowy wzrost zawartości wapnia i fosforu w homogenatach zawierających również fragment tętnicy.

Podobną prawidłowość odnotowano dla zawartości części pierwiastków metalicznych, takich jak żelazo, cynk, potas, bar i stront. Iskra [13, 14] w swoich badaniach stwierdziła wzrost zawartości cynku, miedzi i spadek zawartości wapnia w surowicy krwi u chorych na miażdżycę przy jednoczesowym wzroście zawartości tych pierwiast-

Tabela I. Zawartość pierwiastków metalicznych i niemetalicznych
Table I. The content of metallic and non-metallic elements

Miejsce pobrania tkanek <i>The origin of specimens</i>		Zawartość [µg/g] <i>Content [µg/g]</i>	Zawartość względna (%) <i>Relative content (%)</i>
Ca	Udo <i>Thigh</i>	2636	100
	Poziom szpary stawu kolanowego <i>Popliteal fossa</i>	2549	97
	Poziom tętnicy grzbietowej stopy <i>Dorsal artery of foot</i>	15 691	595
Fe	Udo <i>Thigh</i>	61	100
	Poziom szpary stawu kolanowego <i>Popliteal fossa</i>	90	148
	Poziom tętnicy grzbietowej stopy <i>Dorsal artery of foot</i>	126	208
Mg	Udo <i>Thigh</i>	151	100
	Poziom szpary stawu kolanowego <i>Popliteal fossa</i>	132	88
	Poziom tętnicy grzbietowej stopy <i>Dorsal artery of foot</i>	358	238
K	Udo <i>Thigh</i>	2592	100
	Poziom szpary stawu kolanowego <i>Popliteal fossa</i>	3613	139
	Poziom tętnicy grzbietowej stopy <i>Dorsal artery of foot</i>	5142	198
Ba	Udo <i>Thigh</i>	0,22	100
	Poziom szpary stawu kolanowego <i>Popliteal fossa</i>	0,71	324
	Poziom tętnicy grzbietowej stopy <i>Dorsal artery of foot</i>	2,76	1267
Mn	Udo <i>Thigh</i>	0,14	100
	Poziom szpary stawu kolanowego <i>Popliteal fossa</i>	0,22	154
	Poziom tętnicy grzbietowej stopy <i>Dorsal artery of foot</i>	0,15	106
Sr	Udo <i>Thigh</i>	1,44	100
	Poziom szpary stawu kolanowego <i>Popliteal fossa</i>	2,38	165
	Poziom tętnicy grzbietowej stopy <i>Dorsal artery of foot</i>	8,21	572
Al	Udo <i>Thigh</i>	63	100
	Poziom szpary stawu kolanowego <i>Popliteal fossa</i>	50	79
	Poziom tętnicy grzbietowej stopy <i>Dorsal artery of foot</i>	77	122
Cu	Udo <i>Thigh</i>	3,74	100
	Poziom szpary stawu kolanowego <i>Popliteal fossa</i>	2,10	56
	Poziom tętnicy grzbietowej stopy <i>Dorsal artery of foot</i>	1,35	36
Zn	Udo <i>Thigh</i>	40	100
	Poziom szpary stawu kolanowego <i>Popliteal fossa</i>	61	152
	Poziom tętnicy grzbietowej stopy <i>Dorsal artery of foot</i>	94	235
P	Udo <i>Thigh</i>	3425	100
	Poziom szpary stawu kolanowego <i>Popliteal fossa</i>	4669	136
	Poziom tętnicy grzbietowej stopy <i>Dorsal artery of foot</i>	13 933	406
S	Udo <i>Thigh</i>	2594	100
	Poziom szpary stawu kolanowego <i>Popliteal fossa</i>	2637	102
	Poziom tętnicy grzbietowej stopy <i>Dorsal artery of foot</i>	5274	203

ków w ścianie naczynia w stosunku do ich zawartości w ścianie tętniaka podnerkowego aorty brzusznej. Jednak to spostrzeżenie nie tłumaczy zmian zawartości poszczególnych pierwiastków na badanych poziomach w amputowanej kończynie.

Tiber [15] u chorych ze zwężeniem naczyń wieńcowych powyżej 50% nie stwierdził korelacji zawartości cynku i miedzi ze wzrostem stężenia lipidów i lipoprotein w surowicy. Wydaje się więc, że ekstrapolacja wcześniejszych spostrzeżeń dla oceny podobnych zmian w naczyniach obwodowych jest zbyt daleko posunięta. Mendis [3] oraz Vlad [16], oceniając zawartość miedzi, cynku, chromu i żelaza w blaszkach miażdżycowych pobranych z aorty pacjentów zmarłych z powodu choroby niedokrwiennej serca i zawału serca w stosunku do zmian obserwowanych w aortach zmarłych z powodu urazu, stwierdzili znamienne niższą zawartość wymienionych pierwiastków w blaszce miażdżycowej w aorcie zmarłych z powodu zawału w stosunku do próbek pobranych od zmarłych z powodu urazu. Autorzy wysuwają hipotezę o możliwości wypłukania wymienionych pierwiastków z blaszki miażdżycowej. Natomiast brak przepływów w kończynie kwalifikowanej do amputacji może być jedną z przyczyn zmian obserwowanych w naszym doniesieniu.

Analizując wzrost stężenia żelaza i potasu od poziomu uda poprzez poziom stawu kolanowego do stopy (tab. I), jako jedną z przyczyn należy przyjąć utrzymywanie kończyny dolnej poniżej poziomu łóżka, ze względu na zmniejszenie dolegliwości bólowych spowodowane wzrostem ciśnienia hydrostatycznego i zwiększeniem napływu krwi, przy jednocześnie upośledzeniu perfuzji i często zaburzeniem odpływu. U tych chorych występuje zastój krwi na obwodzie kończyny (kończyna ma barwę sinofioletową z wypełnionymi żyłami stopy, po jej uniesieniu zmienia barwę na woskowo białą, zaś żyły zapadają się, są „puste”). Z tych względów zwiększoną zawartość żelaza i potasu można wytłumaczyć rozpadem komórkowym, w tym krwinek czerwonych, oraz zastojem krwi na obwodzie kończyny.

Nie spostrzegano tych prawidłowości dla zawartości miedzi, manganu, aluminium i magnezu (tab. I). Houston [1] krytycznie ocenia wpływ miedzi i kadmu na rozwój zmian naczyniowych prowadzących do zawału serca, udaru mózgu oraz przemijających ataków niedokrwiennych (TIA, *temporary ischaemic attacks*), nie odnosi się jednak do zmian w naczyniach obwodowych.

W przekonaniu autorów wcześniejsze spostrzeżenia wymagają dalszych badań mających na celu oddzielną ocenę poszczególnych pierwiastków metalicznych i niemetalicznych w tętnicy i żyłach w poszczególnych analizowanych lokalizacjach.

Przyjmując poziom amputacji jako poziom prawidłowego ukrwienia tkanek warunkujący wygojenie się kikuta oraz zawartość badanych pierwiastków jako wartość „prawidłową”, pozostałe obserwowane zmiany są wynikiem zaburzeń perfuzji w amputowanej kończynie oraz zmian metabolizmu tkanek z przemian tlenowych na beztlenowe.

Wpływ zwiększonej lub zmniejszonej zawartości poszczególnych metalicznych i niemetalicznych pierwiastków, zwłaszcza na rozwój zmian martwiczych, wymaga

Results

Due to huge variability of individual elements contents in tissue homogenates, as a point of reference mean absolute value occurred from six specimens on the level of thigh was assumed as 100%. Contents of individual elements in specimens taken from popliteal fossa and from the dorsal artery of the foot were referred to this value.

We affirmed, that content of non-metallic elements such as calcium, phosphorus and sulphur raised towards to periphery of amputated limb (tab. I), reaching in case of calcium and phosphorus fourfold and fivefold higher values on the level of dorsal artery of foot. Content of some metallic elements such as: iron, zinc, potassium, barium and strontium also rise towards to periphery of extremity reaching in case of barium over twelve-times and in case of strontium five-times increase.

The copper's accumulation was the highest on the level of popliteal fossa, while manganese, aluminium and magnesium concentration was the lowest on this same level and the highest in dorsal artery of foot.

Discussion

During estimation the angiographies of lower limbs in patients suffering from atherosclerosis the most often changes within adductor canal in the middle part of the thigh are present (calcification the contours of vessel — X-ray). In those patients popliteal artery and its trifurcation became contrasted through collateral circulation. Depending on the length of occlusion or hemodynamic significant stenosis within femoral artery vascular surgeon propose vascular by-pass grafting or endovascular treatment. In some group of patients' distal part of femoral artery, popliteal artery and its trifurcation do not contrast. In this group the highest proportion of necrotic changes within peripheral part of limbs is reported.

In case of patients with the lack of possibility to reconstruct the vascular tree appearing necrotic changes pose the indication for amputation. In this group of patients logical seems the peripheral increase of calcium and phosphorus concentration in homogenates containing also part of artery.

Similar regularity for some metallic elements' concentration such as iron, zinc, potassium, barium and strontium is noted. Iskra [13, 14] in her studies stated the increase of content of zinc, copper and the decrease of calcium in blood serum in patients suffering from atherosclerosis and at the same time the increase of those elements in vascular wall in comparison to their concentration within the wall of infrarenal abdominal aorta aneurysm. Above insight do not explain differences of contents of individual elements at examined levels within amputated limb.

Tiber [15] did not find any correlation between content of zinc and copper and the increase of lipids and lipoproteins in blood serum in patients with more than 50% stenosis of coronary arteries. It seems that extrapolation of above insights for estimation similar changes within peripheral blood vessels are far-fetched. Mendis [3] and Vlad [16] during evaluation contents of copper,

dalszych badań. Niewiele wnosi wyciąganie wniosków wobec małej liczby badanych chorych. Z tych względów niniejsza praca jest doniesieniem wstępnym mającym jedynie zasugerować problem oraz sprawdzić metody analizy składu na poziomie atomowym.

Piśmiennictwo (References)

1. Houston MC. The role of Mercury and cadmium heavy metals in vascular disease, hypertension, coronary heart disease, and myocardial infarction. *Pro Quest Medical Library III/IV* 2007; 128–133.
2. Kaji T, Ohkawara S, Inada M, Yamamoto Ch, Sakamoto M, Kozuka H. Alteration of glucosaminoglycans induced by cadmium in cultured vascular smooth muscle cells. *Arch Toxicol*. 1994; 68: 560–565.
3. Mendis S. Magnesium, zinc and manganese in atherosclerosis of the aorta. *Biol Trace Elem Research* 1989; 22: 151–259.
4. Uza G, Vlaicu R. Serum zinc and copper in patients with atherosclerosis and thromboangiitis obliterans. *Biol Trace Elem Research* 1989; 20: 197–206.
5. Antosiewicz-Juchniewicz J, Chlebda E, Urban J, Szymańska-Chabowska A, Andrzejak R. Wpływ manganu na układ krążenia. *Post Hig Med Dośw*. 2002; 5: 635–654.
6. Iskra M, Majewski W. Copper and zinc concentrations and the activities of ceruloplasmin and superoxide dismutase in atherosclerosis obliterans. *Biol Trace Elem Research* 2000; 73: 55–65.
7. Hamilton IM, Gilmore WS, Strain JJ. Marginal copper deficiency and atherosclerosis. *Biol Trace Elem Research* 2000; 78: 179–189.
8. Oladunni G, Williams O, Resch JA, Barber B, Jackson MA, Paulissen GA. Trace metal content of cerebral vessels in American Blacks, Caucasians and Nigerian Africans. *Stroke* 1975; 12: 684–690.
9. Navas-Acien A, Silbergeld EK, Sharret AR, Calderon-Aranda E, Selvin E, Guallar E. Metals in urine and peripheral arterial disease. *Environmental Health Perspectives* 2005; 02: 164–169.
10. Alissa EM, Bahjri SM, Ahmed WH, Al-ama N, Ferns GAA. Trace elements status in Saudi patients with established arteriosclerosis. *Journal of Trace Elements in Medicine And Biology* 2006; 20: 105–114.
11. Giacomini R, Caruso C, Malavolta M *et al.* Pro-inflammatory genetic background and zinc status in old arteriosclerotic subjects. *Ageing Research Reviews* 2008; 2: 306–318.
12. Zureik M, Galan P, Bertais S *et al.* Effects of long term daily low-dose supplementation with antioxidant vitamins and minerals on structure and function of large arteries. *Arterioscler Vasc Biol*. 2004; 24: 1485–1491.
13. Iskra M, Patelski J, Majewski W. Relationship of calcium, magnesium, zinc and copper concentrations in the arterial wall and serum in arteriosclerosis obliterans and aneurysm. *Journal of Trace Elements in Medicine And Biology* 1997; 11: 248–252.
14. Iskra M, Barańkiewicz D, Majewski W, Pioruńska-Stolzman M. Serum Magnesium, Copper and Zinc concentration changes in Lower limb ischemia and postoperative treatment. *Magnesium Research* 2005; 4: 261–267.
15. Tiber AM, Sakhaei M, Joffe CD, Ratnaparkhi MV. Relative value of plasma copper, zinc, lipids and lipoproteins as markers for coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1986; 62: 105–110.
16. Vlad M, Caseanu E, Petrescu M. Concentration of copper, zinc, chromium, iron and nickel in the abdominal aorta of patients deceased with coronary heart disease. *J Trace Elem Electrolytes Health Dis*. 1994; 8: 111–114.

zinc, chromium and iron within atherosclerotic plaques taken from the aorta of patients died due to coronary artery disease and myocardial infarction in comparison to changes found in aortic wall in patients died due to trauma noticed significantly lower concentration of mentioned elements in atherosclerotic plaque within aortic wall in patients died due to myocardial infarction in relation to patients died due to trauma. Authors propose the hypothesis about elution mentioned elements from the atherosclerotic plaque. However the shortage of blood flow within the limb qualified for amputation may be one of the causes of changes observed in our report.

Analyzing the increase of iron and potassium concentrations from the thigh through popliteal level to the foot (tab. I), it is necessary to accept as a one of the causes holding the lower limb below the level of the bed resulting in the decrease the pain through increase the hydrostatic pressure and the blood inflow with simultaneous impairment within perfusion and the outflow. In those patients it is noticed the blood stasis within the peripheral part of extremity (the lower limb is livid and violet with filled veins of the foot and after elevation the extremity it changes the colour on waxen and veins fall and became “empty”). For that reasons increased content of iron and potassium can be explained by cells dissolution, including red blood cells, and blood stasis within peripheral part of the extremity.

Above-mentioned regularities are not found in case of copper, manganese, aluminium and magnesium (tab. I). Houston [1] critically assess the influence of copper and cadmium on development the vascular changes leading to myocardial infarction, stroke and temporary ischaemic attacks (TIA), but do not pertain to changes within peripheral vessels.

Authors are convinced of the necessity of further studies concerning above-mentioned observations in order to separate estimation of individual metallic and non-metallic elements within arteries and veins in individual analyzed localizations.

Assuming the level of amputation as the level of proper tissues perfusion determining the stump healing and the content of tested elements as “correct”, observed lesions result from the disturbances in perfusion within amputated limb and from metabolic pathways’ changes from the aerobic into anaerobic.

The influence of increased or decreased content of individual metallic and non-metallic elements, especially on the development of necrotic changes, requires further investigations. Drawing the conclusions in the presence of small number of examined patients is unreliable. For that reasons described problem pose a preliminary report only in order to indicate the issue and to check the method of analysis.

Adres do korespondencji (Address for correspondence):

dr n. med. Damian Ziąja
Klinika Chirurgii Ogólnej, Naczyniowej i Angiologii ŚUM
ul. Ziołowa 45/47, 40–635 Katowice
tel.: (32) 359–82–75; 359–81–98; faks: (32) 202–95–77
e-mail: damianziąja@op.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 21.04.2010 r.