



Określenie składu pierwiastkowego surowicy krwi osób z rakiem żołądka metodą rentgenowskiej analizy fluorescencyjnej z całkowitym odbiciem wiązki padającej TXRF

Regina Stachura ^{1*}, Dariusz Banaś ^{2,3}, Ilona Stabrawa ^{2,3},
Aldona Kubala-Kukuś ^{2,3}, Urszula Majewska ^{2,3}, Jolanta Wudarczyk-Moćko ^{2,3}



¹ SKN Fizyków KWANT, Instytut Fizyki, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, ul. Świętokrzyska 15, 25-406 Kielce

² Instytut Fizyki, Uniwersytet Jana Kochanowskiego w Kielcach, ul. Świętokrzyska 15, 25-406 Kielce

³ Świętokrzyskie Centrum Onkologii, ul. Artwińskiego 3, 25-734 Kielce

Wstęp

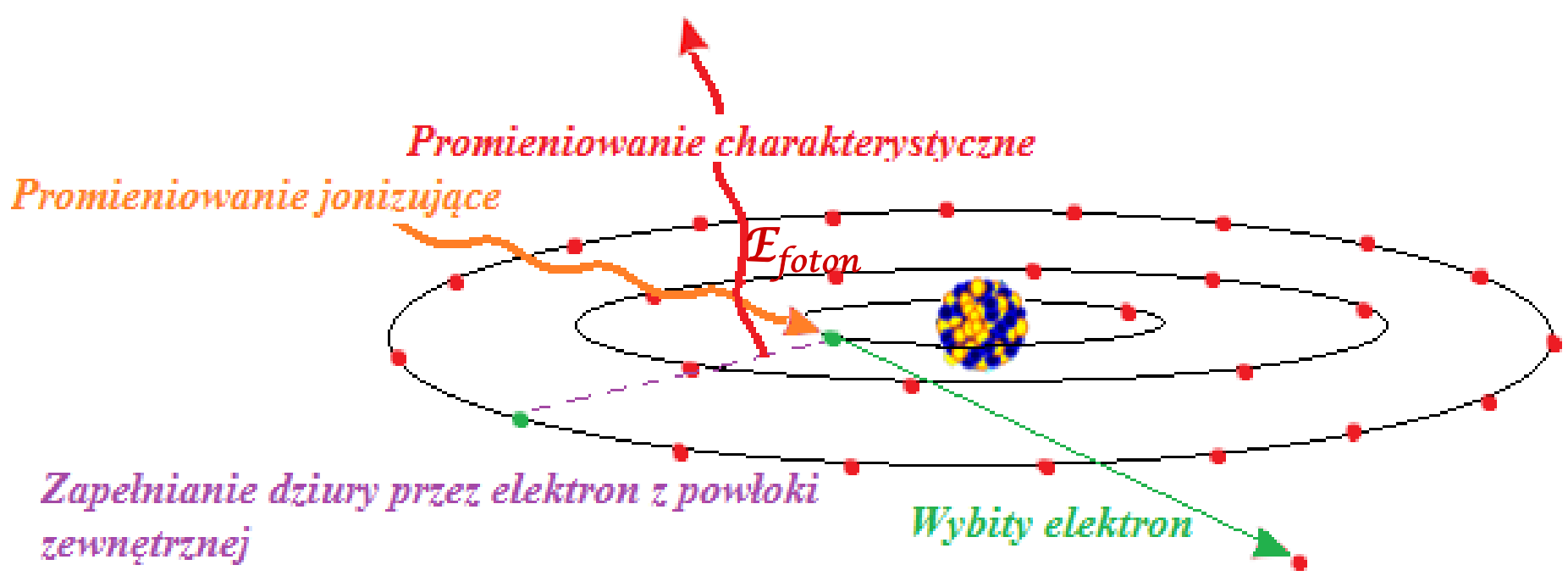
Pierwiastki odgrywają istotną rolę w licznych procesach fizjologicznych, więc w konsekwencji wpływają na życie i zdrowie człowieka. Nadmiar lub niedobór określonego pierwiastka może zakłócić poprawne funkcjonowanie ludzkiego organizmu, co może doprowadzić do wielu zaburzeń. Określenie stężeń pierwiastków, zarówno makroelementów, jak i mikroelementów w tkankach czy płynach ustrojowych człowieka może być pomocne w stawianiu diagnozy i kontroli procesu leczenia i powinno stać się rutynową praktyką [1].

Cel pracy

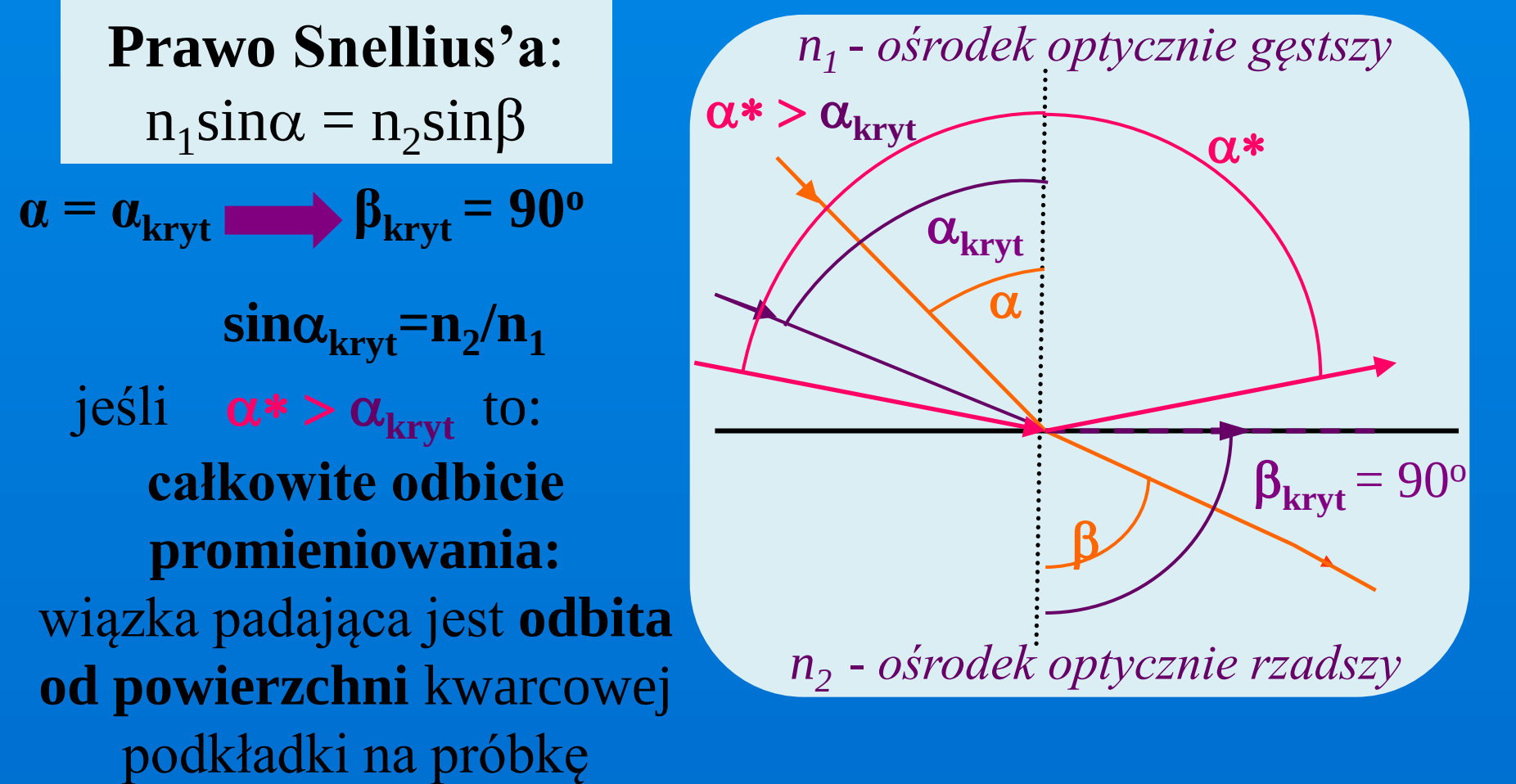
Celem prezentowanej pracy było określenie koncentracji **10 pierwiastków** (P, S, K, Ca, Cl, Fe, Cu, Zn, Se, Br) w surowicy krwi pacjentów chorujących na **raka żołądka**. Krew, z której wykonano analizowaną surowicę, pobrano od 34 pacjentów: 23 mężczyzn i 11 kobiet, leczonych w Wojewódzkim Szpitalu Specjalistycznym im. Mikołaja Kopernika w Łodzi. Część eksperymentalna badania została przeprowadzona w Instytucie Fizyki Uniwersytetu Jana Kochanowskiego w Kielcach.

Rak żołądka jest to nowotwór złośliwy (C-16), który występuje pod różnymi postaciami. Jest on jednym z najczęściej występujących nowotworów na świecie. Pierwotnie pochodzi od nabłonka błony śluzowej żołądka. Rak ten jest bardzo trudny do zdiagnozowania w początkowym stadium choroby, ponieważ jego objawy mogą być mylone z niestrawnością, chorobą wrzodową, zapaleniem błony żołądka bądź refluksem. Przez to śmiertelność jest bardzo wysoka, szczególnie u mężczyzn, którzy chorują znacznie częściej niż kobiety. Najczęstszą metodą diagnostyki nowotworu jest badanie radiologiczne (RTG, CT), badanie endoskopowe oraz badanie histopatologiczne, które potwierdzi obecność zmian.

Metoda XRF – fizyczne podstawy



Rentgenowska analiza fluorescencyjna z całkowitym odbiciem wiązki padającej wykorzystuje zjawisko całkowitego odbicia promieniowania X na granicy powietrze – szkło:



Układ eksperymentalny

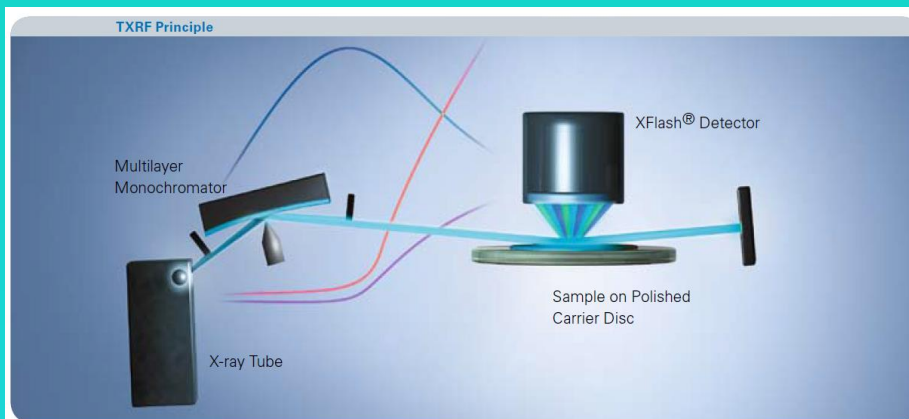
Spektrometr S2 Picofox Bruker AXS Microanalysis GmbH



Lampa rentgenowska:
❖ metalowo-ceramiczna,
❖ z anodą Mo, chłodzona powietrzem,
❖ max. napięcie 50 kV,
max. prąd 0.6 mA, 30 W.

Krzemowy detektor dyfuzyjny

(XFlash® Detector) o energetycznej zdolności rozdzielczej dla linii Mn-Kα < 160 eV dla 10 000 zliczeń/sek.



Wielowarstwowy monochromator nadaje kształt wiązce i „przepuszcza” tylko kwanty Mn-Kα o energii 17.5 keV (spełniające warunki Bragga) [2].



Pobranie krwi

1. Najpierw pobrano próbkę krwi (około 1 ml) w godzinach porannych z żyły łokciowej wszystkich pacjentów.
2. Każdy badany był na czczo, po 12 godzinach bez posiłku.
3. Krew umieszczono w sterylnych probówkach do analizy pierwiastków śladowych.

Preparatyka surowicy



1. Po pobraniu krew odwirowano, w celu oddzielenia surowicy krwi od krwinek czerwonych przy użyciu wirówki MPW-350E, przez 10 minut.
2. Oddzieloną surowicę krwi przeniesiono do probówek Eppendorf i zamrożono w temperaturze około –25°C.
3. Przewieziono je w specjalnej zamrażarce laboratoryjnej do Laboratorium Metod Rentgenowskich UJK. Przed analizą surowica została rozmrożona w temperaturze pokojowej.
4. Po rozmrożeniu surowicy następnym krokiem było sporządzenie roztworu składającego się surowicy oraz roztworu galu: **800 μl surowicy + 50 μl Ga (100 ppm)**.

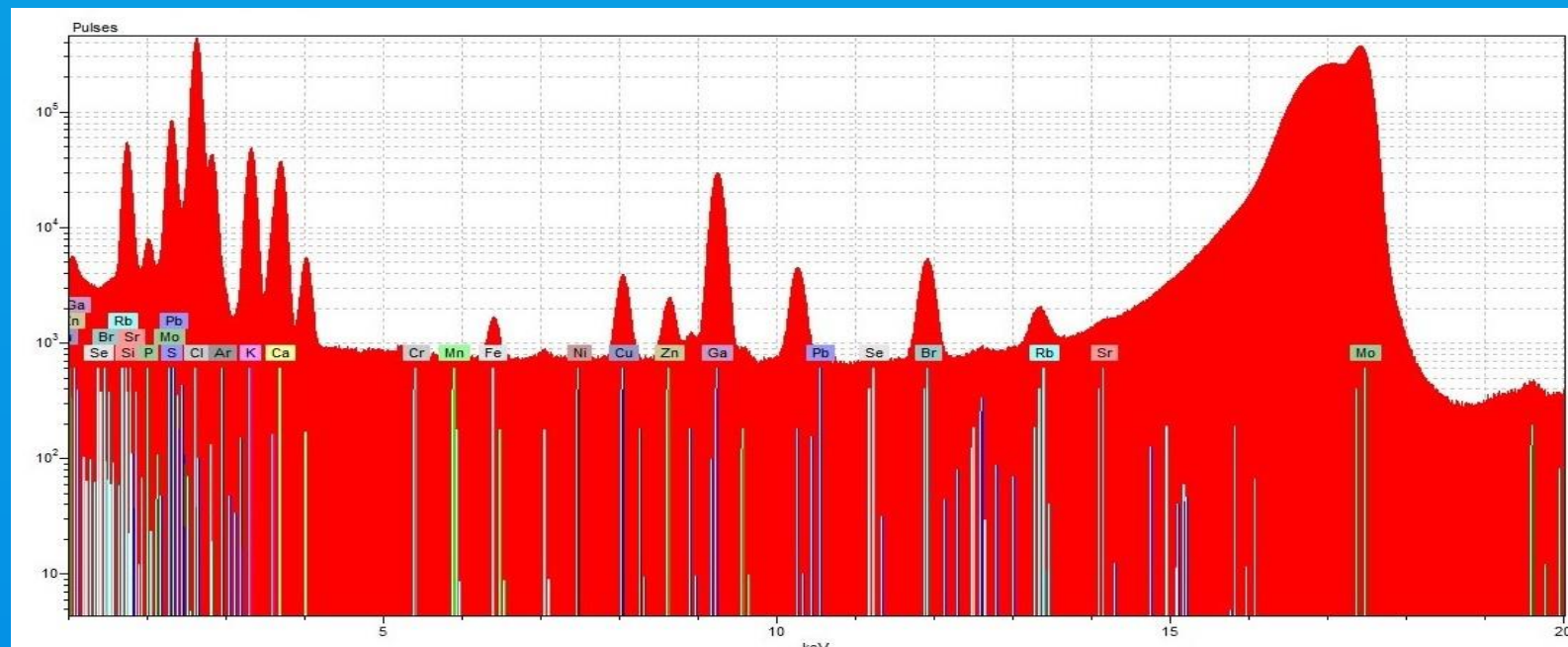
Ga (100 ppm) – roztwór galu o stężeniu galu 100μg/l, dodany do surowicy jako wzorzec wewnętrzny w celu przeprowadzenia analizy ilościowej (metoda TXRF jest metodą porównawczą).

Pomiar próbek i analiza widma

- ✓ nakropienie 2μl roztworu surowicy na podkładkę,
- ✓ wysuszenie próbki na płycie grzejnej w temp. 38°C,
- ✓ naświetlenie próbki prom. X w spektrometrze Picofox przez 1h i zebranie widma promieniowania charakterystycznego próbki,
- ✓ opracowanie jakościowe i ilościowe widm przy użyciu aplikacji SPECTRA 7,
- ✓ przeliczenie koncentracji pierwiastków w roztworze moczu/włosów na „suchą” masę surowicy (uwzględnienie objętości roztworu Ga).

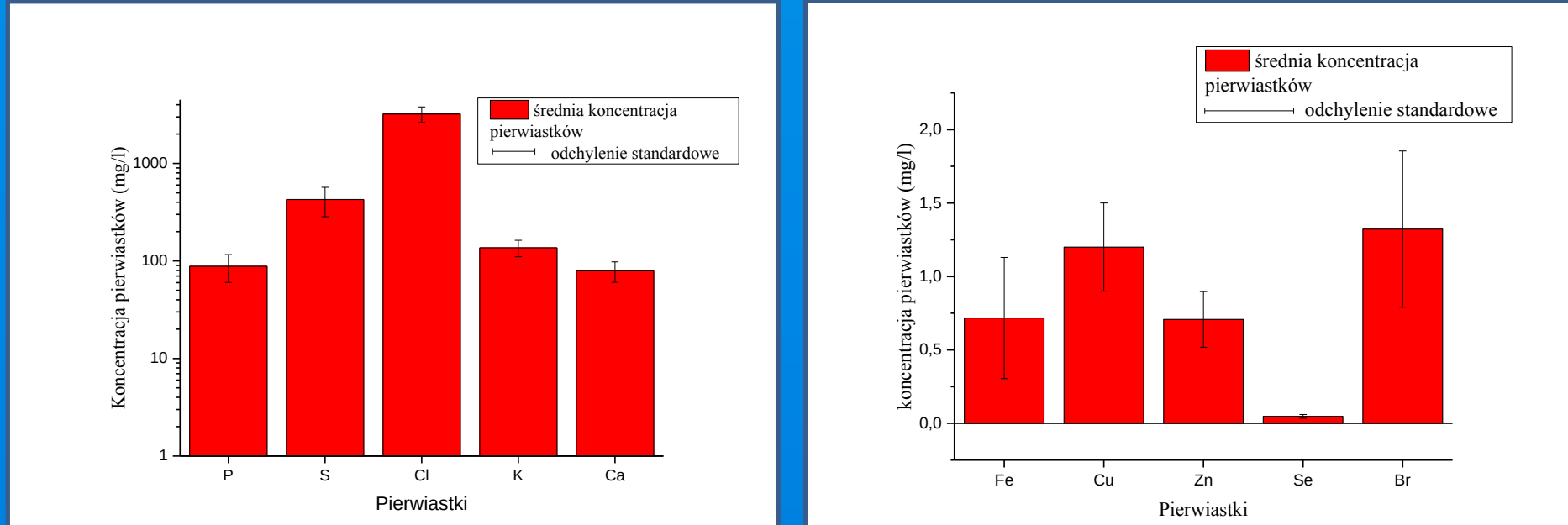


Widmo surowicy krwi

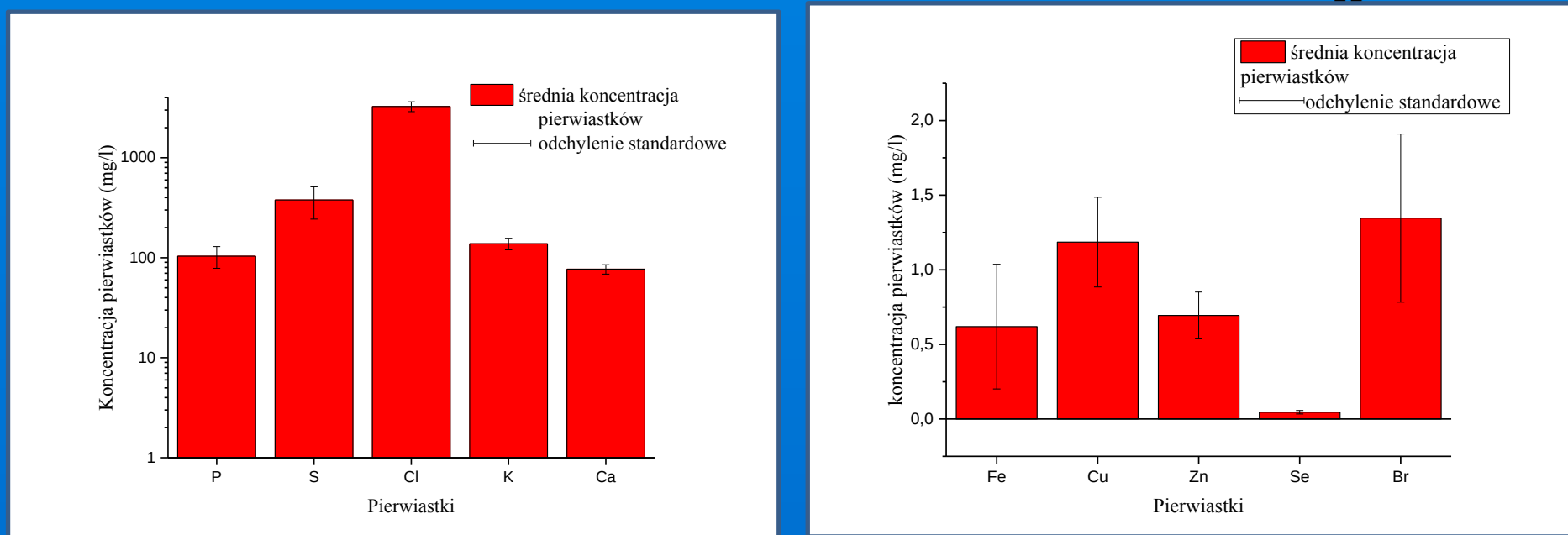


Wyniki i dyskusja

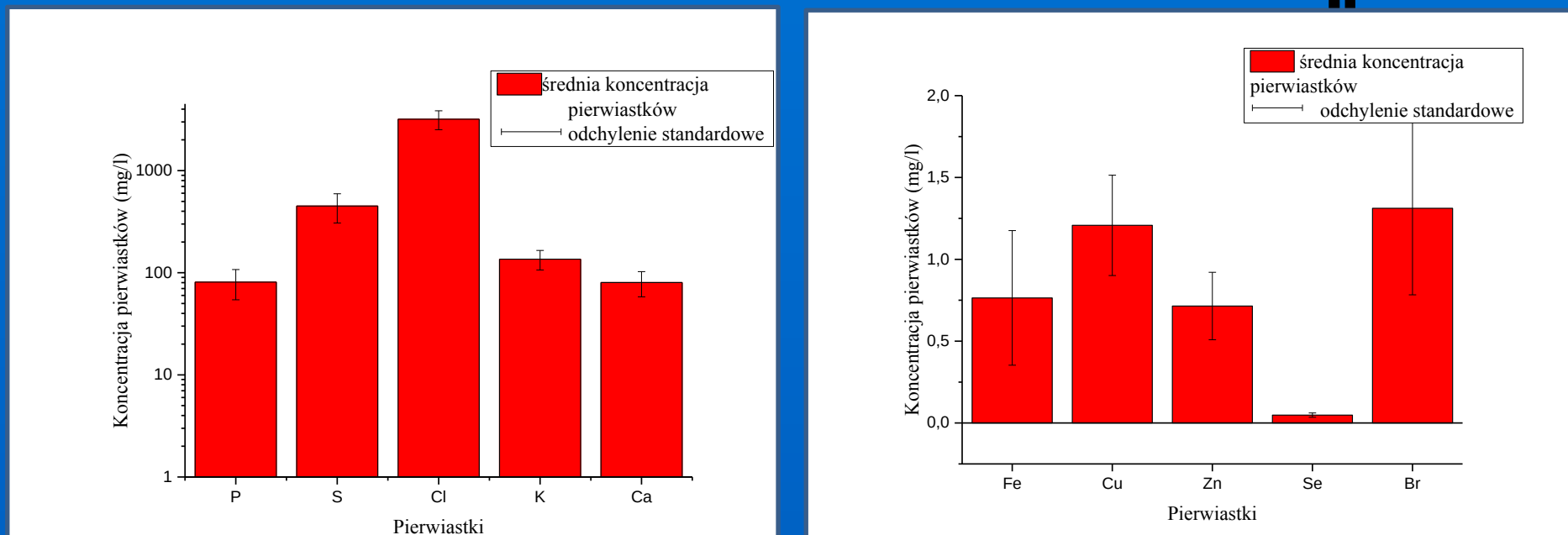
Analiza pierwiastkowa w grupie kobiet i mężczyzn



Analiza pierwiastkowa w grupie kobiet



Analiza pierwiastkowa w grupie mężczyzn



Analiza statystyczna

Przykład wartości koncentracji i niepewności pomiarowych dla wybranego pacjenta.

	Koncentracja (mg/l)	Niepewność przypadkowa (mg/l)	Niepewność systematyczna (mg/l)	Niepewność całkowita (mg/l)	Względna niepewność całkowita [%]
P	88,7	0,72	16,9	16,9	19
S	656	1,41	121	121	18
Cl	3509	5,63	645	645	18
K	128	0,31	23,8	23,8	18
Ca	86,1	0,22	15,9	15,9	18
Fe	2,12	0,009	0,421	0,422	19
Cu	1,11	0,007	0,209	0,211	19
Zn	0,839	0,006	0,211	0,212	19
Se	0,037	0,003	0,014	0,012	28
Br	1,42	0,006	0,213	0,213	18

Przykład wartości koncentracji i niepewności pomiarowych dla wybranego pacjentki.

	Koncentracja (mg/l)	Niepewność przypadkowa (mg/l)	Niepewność systematyczna (mg/l)	Niepewność całkowita (mg/l)	Względna niepewność całkowita [%]
P	97,3	0,741	18,4	18,4	19
S	581	1,31	107	107	18
Cl	3448	5,53	634	634	18
K	135	0,34	25,1	25,1	18
Ca	84,9	0,209	15,6	15,6	18
Fe	0,619	0,008	0,119	0,119	21
Cu	1,71	0,008	0,314	0,308	18
Zn	1,14	0,006	0,242	0,236	19
Se	0,042	0,002	0,011	0,011	27
Br	2,43	0,008	0,423	0,417	19

Statystyka opisowa wszystkich pacjentów

	Średnia (mg/l)	Odchylenie standardowe	Minimum (mg/l)	Moda (mg/l)	Maksimum (mg/l)
P	88,2	27,9	25,4	85,2	147
S	426	142	216	395	710
Cl	3210	584	1169	3278	4487
K	136	26,2	55,2	137	174
Ca	79,1	18,7	56,8	76,7	172
Fe	0,718	0,439	0,214	0,613	2,14
Cu	1,21	0,336	0,718	1,11	2,12
Zn	0,714	0,212	0,396	0,622	1,13
Se	0,042	0,012	0,017	0,041	0,083
Br	1,33	0,518	0,308	1,32	2,72

Statystyka opisowa wszystkich kobiet

	Średnia (mg/l)	Odchylenie standardowe	Minimum (mg/l)	Moda (mg/l)	Maksimum (mg/l)
P	103	25,4	72,4	97,3	147
S	377	134	219	383	605
Cl	3258	368	2321	3291	3740
K	138	18,41	111	135	167
Ca	76,8	8,29	63,5	77,8	91,3
Fe	0,588	0,421	0,188	0,486	1,52
Cu	1,18	0,328	0,743	1,11	1,69
Zn	0,613	0,211	0,492	0,634	1,12
Se	0,041	0,013	0,021	0,042	0,055
Br	1,32	0,542	0,286	1,41	2,32

Statystyka opisowa wszystkich mężczyzn

	Średnia (mg/l)	Odchylenie standardowe	Minimum (mg/l)	Moda (mg/l)	Maksimum (mg/l)
P	80	26,4	25,4	77,1	134
S	450	143	216	397	710
Cl	3186	670	1169	3261	4487
K	135	29,5	55,2	138	174
Ca	80,2	22,2	56,8	76,4	172
Fe	0,737	0,393	0,324	0,643	2,23
Cu	1,19	0,321	0,647	1,123	2,12
Zn	0,749	0,187	0,424	0,743	1,09
Se	0,044	0,009	0,021	0,042	0,128
Br	1,33	0,456	0,567	1,23	2,68

Podsumowanie

Wartości średniej koncentracji pierwiastków i moda nie różnią się znacząco w grupie kobiet i mężczyzn. Różnią się natomiast zakresy koncentracji: minimalna wartość koncentracji P, Cl i K jest dużo niższa w grupie mężczyzn niż w grupie kobiet, a dla Fe obserwujemy efekt odwrotny. Maksymalna wartość koncentracji Cu i Se jest znacząco wyższa w grupie mężczyzn, a w przypadku Ca i Fe jest znacząco niższa w grupie kobiet. Analiza pierwiastkowa surowicy krwi może stać się pomocniczym badaniem diagnostycznym w celu określenia potencjalnego zagrożenia chorobą raka żołądka.



[1] U. Majewska, P. Łyżwa, K. Łyżwa, D. Banaś, A. Kubala-Kukuś, J. Wudarczyk-Moćko, I. Stabrawa, J. Braziewicz, M. Pajek, G. Antczak, B. Borkowska, S. Gózdź, Spectrochim. Acta B 122, 56 (2016).

[2] S2 Picofox, Benchtop TXRF Spectrometer, Bruker Nano GmbH, Berlin Germany.