

5.7 Vergleich der Elementverhältnisse in Abhängigkeit von der Art der Probenvorbereitung - Aufschlußtechnik versus Mikrotomschnitttechnik

Der in den Kapiteln 5.2 - 5.6 beschriebenen Analyse der Humangewebeproben liegt als Methode der Probenvorbereitung der oxidative Naßaufschluß in einem Autoklavensystem zugrunde. Die Ergebnisse der mittels TRFA bestimmten Probenlösungen liefert die Massengehalte der Elemente, angegeben in $\mu\text{g/g}$ Feuchtgewebe.

Alternativ zu dieser Probenvorbereitungstechnik können die biologischen Proben auch auf einem *direkten* Weg analysiert werden. Dazu ist die Verwendung eines Gefrierschnittmikrotoms erforderlich. Die Vorgehensweise bei der direkten Bestimmung der Elementkonzentrationen mittels TRFA durch Vermessung der Gewebeschnitte unterscheidet sich deutlich von der des Probenaufschlusses. Ausführlich ist die Probenvorbereitung mittels eines Gefrierschnittmikrotoms und die anschließende Bestimmung von Elementgehalten mittels TRF-Spektrometers für verschiedene Gewebematerialien in [66] - [68] und in [126] beschrieben.

VON CZARNOWSKI untersuchte in [126, 127] dieselben Humangewebeproben aus dem Verdauungstrakt. Da es bei Gewebeschnitten aufgrund der geringen Masse des jeweiligen Schnitts nur bedingt möglich ist, die Ergebnisse in Masseneinheiten ($\mu\text{g/g}$ Feuchtgewebe) anzugeben, erfolgte die Angabe der Elementgehalte in Konzentrationseinheiten ($\mu\text{g}/0,1 \text{ cm}^3$), d.h. als Masse bezogen auf ein definiertes Volumen des Gewebeschnitts ($0,1 \text{ cm}^3$). Ein direkter Vergleich der ermittelten Elementgehalte von normalem und malignem Gewebe in Aufschlüssen mit den in Gewebeschnitten bestimmten Konzentrationen ist daher nicht durchführbar. Ein Vergleich der Elementverhältnisse von Tumorgewebe versus Normalgewebe, d.h. der TG/NG-Quotienten, beider Probenvorbereitungsmethoden ist möglich.

Die folgenden Abbildungen 5.40 - 5.45 zeigen einen Vergleich der Mittelwerte der TG/NG-Quotienten in Abhängigkeit von der Art der Probenvorbereitung für die untersuchten Magen-, Kolon- und Rektumproben. Wie bereits in Kap. 5.2.2 auf Seite 59 beschrieben, sind als visuelle Hilfe in den folgenden Abbildungen horizontale Linien zur Markierung der Schwellenwerte für eine signifikante Akkumulation (bei 1.5 bzw. 0.66)

bzw. tendenzielle Anreicherung (bei 1.25 bzw. 0.8) sowie das Elementverhältnis von 1:1 (d.h. gleiche Konzentration in normalem und tumorösem Gewebe) eingezeichnet.

Für die untersuchten Elemente sind in allen drei Probenarten unterschiedliche Übereinstimmungen der Verhältniswerte festzustellen. In den Magenproben sind die TG/NG-Quotienten der Elemente Ca, As und Sr fast identisch (siehe Abb. 5.40a). Zusätzlich stimmen die Elementverhältnisse von K und Cr in ihrer Tendenz zur Akkumulation im Tumorgewebe, sowie von Ni (Anreicherungstendenz im Normalgewebe) überein (Abb. 5.40b). Für die übrigen Elemente können keine Übereinstimmungen in den Verhältniswerten festgestellt werden; hier sind die Abweichungen zum Teil recht groß, wie Abb. 5.41 zeigt.

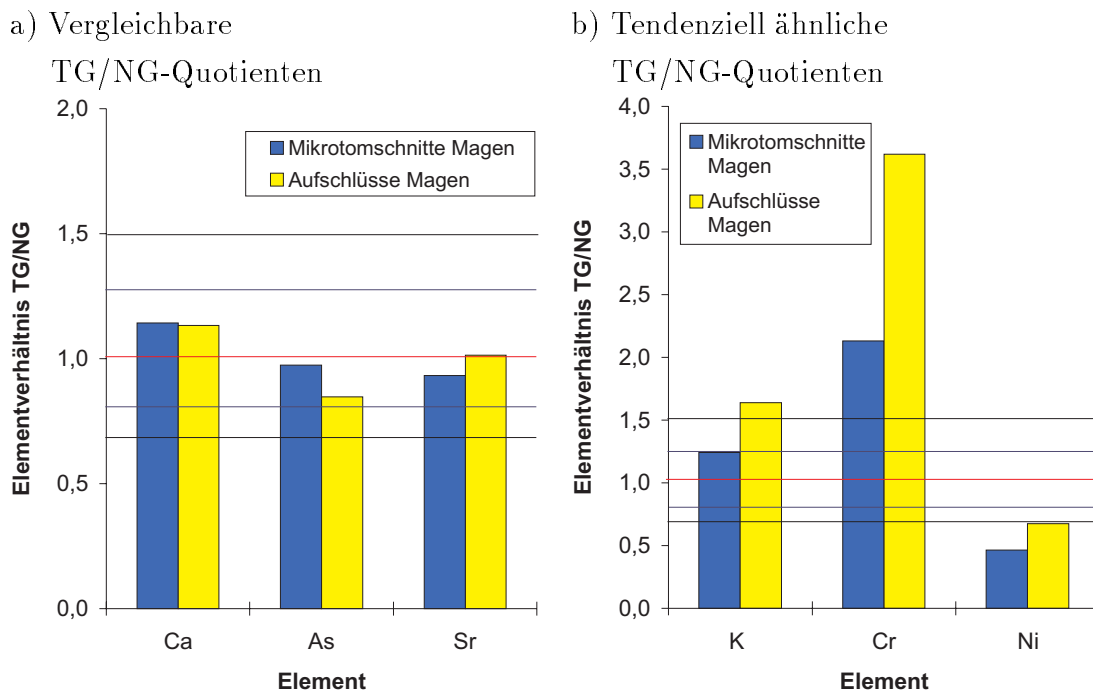


Abbildung 5.40: Magenproben: Vergleich der mittleren Elementverhältnisse in Aufschlußlösungen und Gewebeschnitten – a) vergleichbare, b) tendenziell ähnliche TG/NG-Quotienten

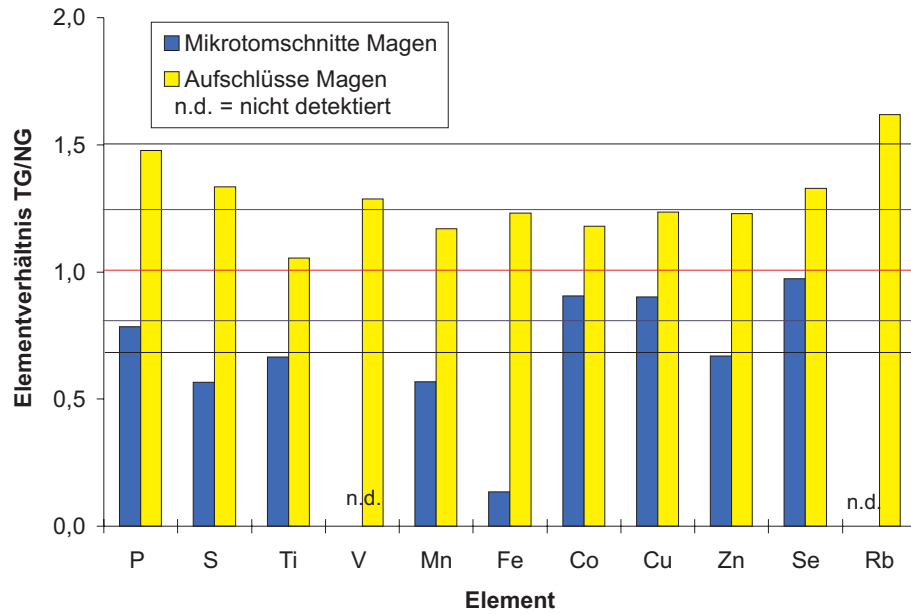


Abbildung 5.41: Magenproben: Vergleich der Elementverhältnisse der in Aufschlußlösungen und Gewebeschnitten – Differierende mittlere Elementverhältnisse in Aufschlußlösungen und Gewebeschnitten

Im Vergleich aller drei Probenarten finden sich für die Kolonproben die meisten Übereinstimmungen der Verhältniswerte für signifikant klassifizierte Elemente: Sehr gut korrelieren die Gehalte von S (Tendenz zur Anreicherung im Tumorgewebe), Ni (Akkumulation im Normalgewebe), Fe und Cr mit Verhältniswerten nahe Eins (wie in Abb. 5.42a dargestellt). Die Elemente P, Ti und Cu stimmen in der Tendenz ihrer TG/NG-Quotienten überein (Abb. 5.42b).

Alle weiteren Elemente zeigen keine Übereinstimmungen in ihren mittleren Verhältniswerten (siehe Abb. 5.43).

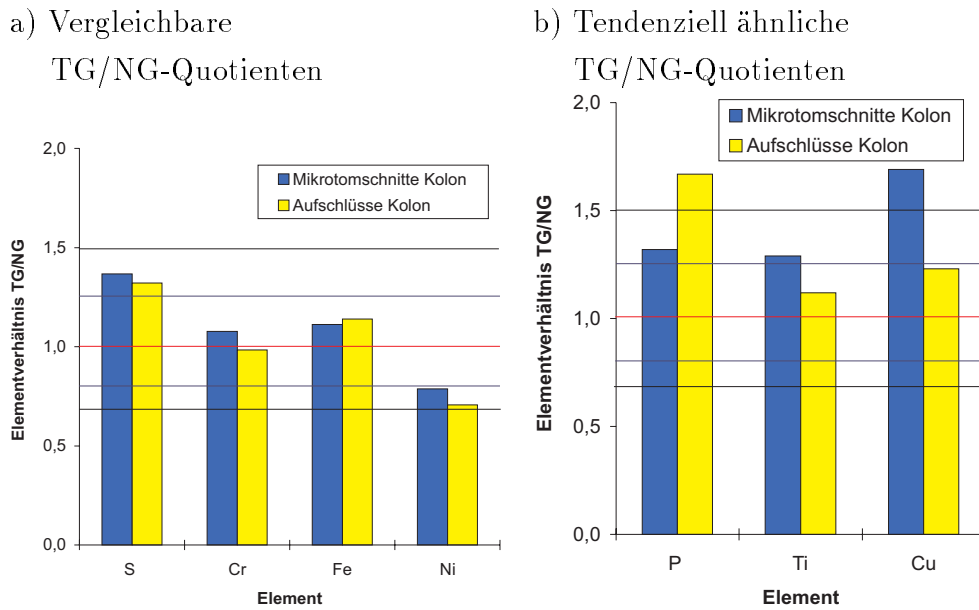


Abbildung 5.42: Kolonproben: Vergleich der mittleren Elementverhältnisse in Aufschlußlösungen und Gewebeschnitten – a) vergleichbare, b) tendenziell ähnliche TG/NG-Quotienten

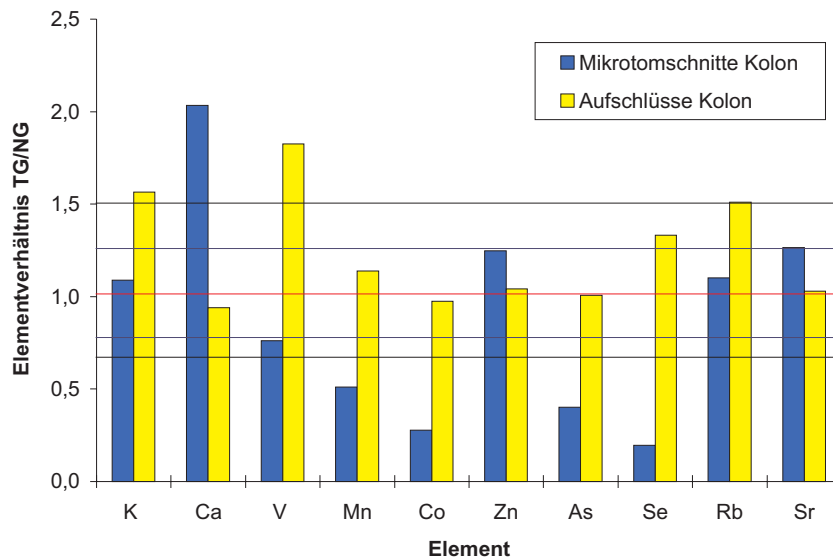


Abbildung 5.43: Kolonproben: Vergleich der mittleren Elementverhältnisse in Aufschlußlösungen und Gewebeschnitten – Differierende mittlere Elementverhältnisse in Aufschlußlösungen und Gewebeschnitten

Die analysierten Rektumproben sind, wie Abb. 5.44a zeigt, durch recht gute Korrelationen der TG/NG-Quotienten der Elemente Ca, Mn, Ni, As und Sr (TG/NG-Quotienten nahe 1,0) gekennzeichnet. Ferner entsprechen sich tendenziell noch die mittleren Elementverhältnisse von K, Ti (tendenzielle Anreicherung im Tumorgewebe) und Co (Tendenz zur Akkumulation im Normalgewebe), wie in Abb. 5.44b dargestellt.

Abb. 5.45 zeigt die übrigen Elemente, die keine übereinstimmenden mittleren Elementverhältnisse von malignen gegenüber normalen Geweben in Aufschlußlösungen und Mikrotomschnitten aufweisen.

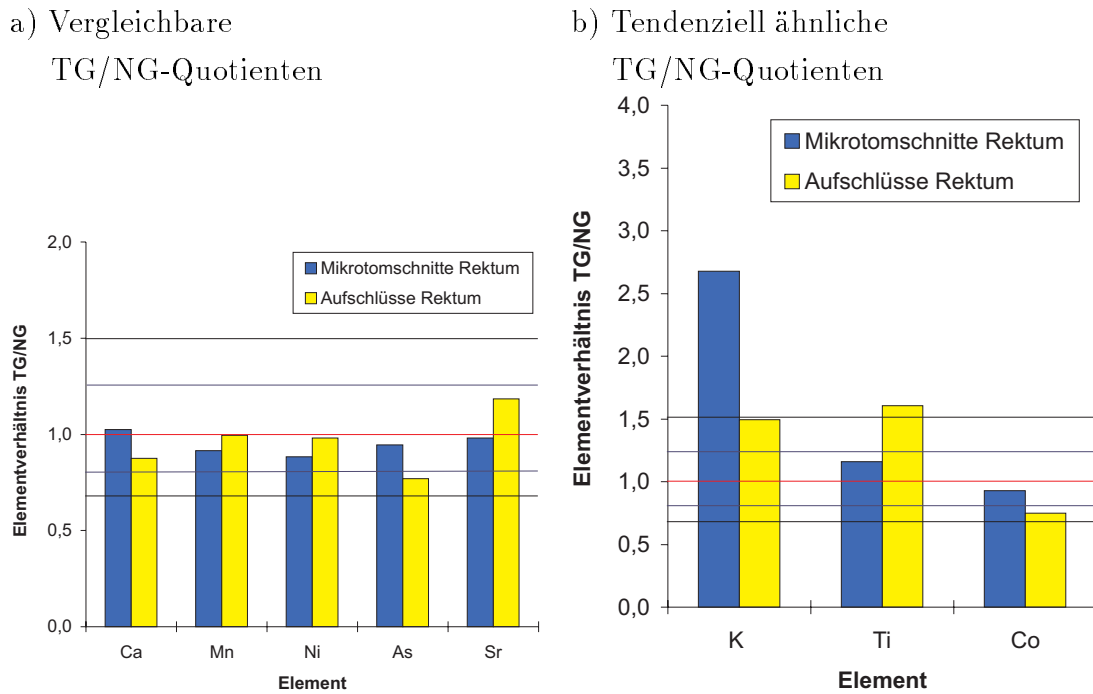


Abbildung 5.44: Rektumproben: Vergleich der mittleren Elementverhältnisse in Aufschlußlösungen und Gewebeschnitten – a) vergleichbare, b) tendenziell ähnliche TG/NG-Quotienten

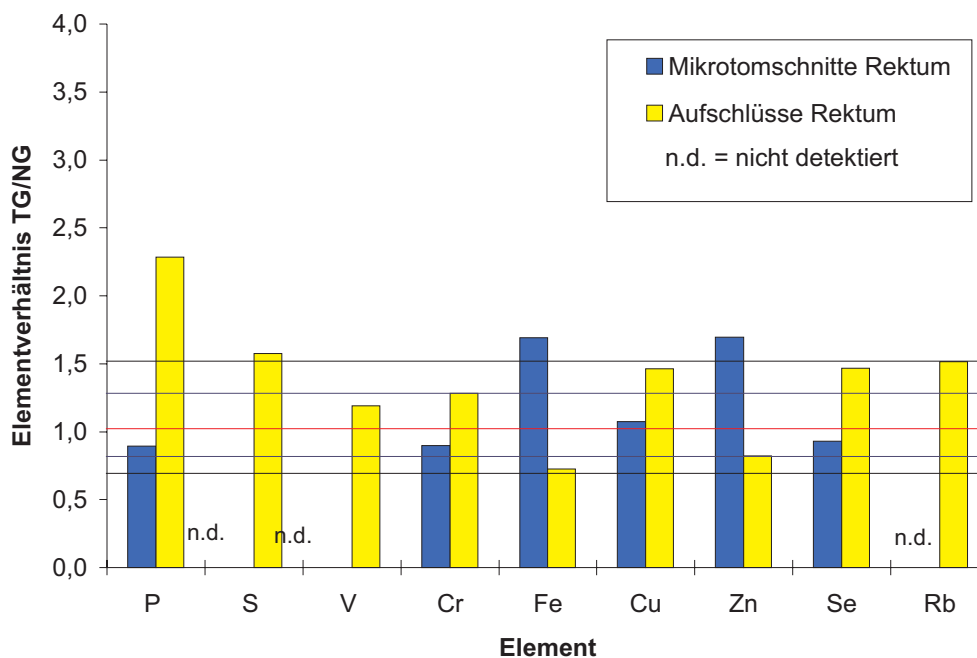


Abbildung 5.45: Rektumproben: Vergleich der mittleren Elementverhältnisse in Aufschlußlösungen und Gewebeschnitten – Differierende mittlere Elementverhältnisse in Aufschlußlösungen und Gewebeschnitten

Tabelle 5.6 faßt die Ergebnisse des Vergleiches der Probenvorbereitungsmethoden zur Bestimmung der Elementgehalte in den untersuchten Magen-, Kolon- und Rektumproben in einer Übersicht zusammen.

Die Vergleiche der Elementmuster zeigen deutlich, daß die ermittelten Verteilungen sowohl im normalen wie im malignen Gewebe z.T. stark voneinander abweichen. Hier kommen zwei Faktoren zum Tragen: zum einen die eingesetzte Probenmenge und zum anderen die Inhomogenität des Humangewebes.

Die Gewebeschnitte haben einen Durchmesser von 3,5 mm und eine Dicke von nur 10 μm . Kalkuliert man die durchschnittliche Größe von Humangewebezellen von etwa 10 - 100 μm mit ein, so werden bei Anwendung des Gefrierschnittmikrotoms und anschließender direkter TRF-Analyse nahezu *Zellschichten* vermessen. Schätzt man weiterhin die Masse eines Gewebeschnitts auf etwa 50 μg und berücksichtigt die eingesetzte Probenmenge für einen Druckaufschluß (ca. 400 mg Feuchtgewebe), so ist diese Einwaage 8000 mal so groß. Die Analyse eines Druckaufschlusses liefert folglich einen Durch-

Tabelle 5.6: Übersicht der Elemente mit übereinstimmenden Verhältniswerten in Aufschlußlösungen und Gewebeschnitten

Gewebeart	vergleichbarer TG/NG-Quotient	tendenziell ähnlicher TG/NG-Quotient	differierender TG/NG-Quotient
Magen	Ca, As, Sr	K, Cr, Ni	P, S, Ti, V, Mn, Fe, Co, Cu, Zn, Se, Rb
Kolon	S, Ni, Cr	P, Ti, Cu	K, Ca, V, Mn, Fe, Co, Zn, As, Se, Br, Rb, Sr
Rektum	Ca, Mn, Ni, As	K, Ti, Co	P, S, V, Cr, Fe, Cu, Zn, Se, Rb, Sr

schnittswert eines „Gewebebereiches“, der Akkumulation verschiedener Zellen. Bei derartig großen Relationen sind unterschiedliche Ergebnisse der Totalreflexionsröntgenfluoreszenzanalyse von Gewebeschnitten und Gewebeaufschlüssen verständlich.

Differenzen in den Elementverhältnissen von Tumor- zu Normalgewebe werden durch Berücksichtigung des zweiten Faktors, der inhomogenen Verteilung der Elemente im Gewebe, plausibel. Obwohl eine genaue pathologische Differenzierung des Humangewebes für Laien nur sehr schwer möglich ist, kann in einigen Fällen der Gewebeschnitt selektiv aus dem Tumorkern, der in seiner Konsistenz härter als das umgebende Gewebe ist, entnommen werden. Unter der Annahme, daß sich malignes Gewebe von diesem Tumorzentrum in das umliegende Normalgewebe ausbreitet, sollte die Elementverteilung im Tumorkern sich am stärksten von der Elementzusammensetzung des Normalgewebes unterscheiden.

Zieht man zu dem Vergleich der Elementverhältnisse in Abhängigkeit des eingesetzten Probenvorbereitungsverfahrens noch die Anzahl der analysierten Gewebeproben hinzu, so werden sich bei größer werdender Stichprobenmenge die Verhältniswerte weiter annähern. Eine erste Tendenz zeigt sich hier in der Anzahl übereinstimmender TG/NG-Quotienten der Kolon-Gewebeproben.

Insgesamt betrachtet bieten beide Verfahren, sowohl die Probenvorbereitung mittels oxidativem Druckaufschluß als auch die direkte Bestimmung getrockneter Mikrotomschnitte, charakteristische Vorteile: Mit Hilfe der Druckaufschlüsse können z.T. Elemente bestimmt werden, deren Elementmassenkonzentration nahe der Nachweisgrenze des Bestimmungsverfahrens liegen, wie z.B. V oder Rb. Andererseits treten die Unterschiede in den Elementgehalten bei der Analyse von Mikrotomschnitten durch Vermessung von „Zellschichten“ aus gesundem und tumorösem Gewebe deutlicher hervor als bei der Analyse eines „Gewebebereichs“.