

STRESZCZENIE

Drugą co do częstości występowania przyczyną zgonów są choroby nowotworowe, wśród których dużą część stanowią nowotwory mózgu. Charakteryzują się one niską przeżywalnością pacjentów, z których większość żyje krócej niż rok od momentu postawienia diagnozy. Aby móc skutecznie zwalczać choroby niezwykle cenna jest wiedza na temat mechanizmu ich powstawania. Uważa się, że pierwiastki śladowe odgrywają istotną rolę w procesach nowotworzenia. Żelazo jest szczególnie ważnym pierwiastkiem ponieważ poprzez udział w reakcji Fentona, bierze udział w powstawaniu reaktywnych form tlenu mogących uszkadzać lipidy oraz DNA. Z kolei miedź oraz cynk, obecne w centrach aktywnych dysmutazy ponadtlenkowej (SOD1), odgrywają rolę przy ochronie przed anionorodnikami ponadtlenkowymi. Pozostałe pierwiastki obecne w tkance mózgu również są ważne dla jej prawidłowego funkcjonowania. Z tego powodu informacja dotycząca różnic ich stężeń oraz form chemicznych w jakich występują w nowotworowej oraz zdrowej tkance może przyczynić się do wzrostu wiedzy na temat reakcji biochemicznych towarzyszących procesowi nowotworzenia. Może być ona również przydatna we wspomaganiu diagnostyki histopatologicznej.

Pośród badanych próbek obecne były próbki nowotworów reprezentujących różne typy histopatologiczne oraz różne stopnie złośliwości wyróżnione zgodnie z klasyfikacją sporządzoną przez Światową Organizację Zdrowia (WHO). Jako próbki kontrolne wykorzystano ścianę ropnia mózgu oraz tkanki pobrane pośmiertnie. Badania zostały zatwierdzone przez komisję bioetyczną Uniwersytetu Jagiellońskiego. Na cele mapowania, próbki przygotowano w postaci cienkich skrawków suszonych w ujemnej temperaturze. W badaniu stopni utlenienia wykorzystano próbki mrożone, ponieważ taki sposób preparatyki zapewnia spowolnienie zachodzenia procesów chemicznych, np. utleniania pierwiastków zawartych w tkance. Badania dystrybucji przestrzennej pierwiastków prowadzono przy użyciu technik μ XRF oraz μ PIXE. Określanie stopni utlenienia prowadzono natomiast przy użyciu spektroskopii absorpcji promieniowania X.

Analiza XRF pokazała istotny statystycznie spadek stężenia Ca, Fe, P oraz S w tkance nowotworowej względem tkanki kontrolnej, natomiast stężenie Zn było wyższe. Z kolei analiza PIXE pokazała istotny statystycznie wzrost stężenia Na, K, Cu oraz Zn w tkance nowotworowej. Wyniki uzyskane w oparciu o te metody nie są zgodne dla większości badanych pierwiastków. Prawdopodobnie spowodowane jest to przez różnice w gęstościach poszczególnych próbek. Sprzężenie pomiarów PIXE z pomiarami STIM pozwoliło na uwolnienie się od wpływu tego czynnika. Wyniki uzyskane obiema stosowanymi metodami zgodne są tylko dla Zn i pokazują wzrost jego stężenia w tkankach nowotworowych w porównaniu do tkanek kontrolnych. Interesujące zmiany zostały również zaobserwowane w dystrybucji pierwiastków. Zauważono, że wraz ze wzrostem stopnia złośliwości nowotworu spada korelacja przestrzenna pierwiastków. Najsilniejsza zależność została zaobserwowana dla pierwiastków przejściowych np. miedzi i cynku. Zależności te zostały zaobserwowane w jednorodnych obszarach próbek. Ponadto pomiary zostały wykonane na różnych strukturach obecnych w tkance. Pokazano, że w pobliżu zwapnień tkanka zawiera znacznie podwyższone ilości wapnia, natomiast w pobliżu naczyń krwionośnych, w odległości nawet do 100 μ m stężenie niektórych pierwiastków jest wyraźnie wyższe. Wzięcie pod uwagę stężeń wszystkich badanych pierwiastków równocześnie oraz zastosowanie statystycznej analizy wielowymiarowej pozwoliło na skuteczną klasyfikację próbek do poszczególnych typów nowotworów. Zastosowana metoda pozwoliła na poprawne zaklasyfikowanie ponad 90% próbek. Wśród pierwiastków mających największe znaczenie dla poprawnej klasyfikacji znalazły się Cu, K, Fe, Ca oraz Zn.

Analiza stopni utlenienia wykazała ciekawe zmiany dla żelaza. W wszystkich badanych tkankach żelazo było obecne zarówno w postaci Fe^{2+} jak i Fe^{3+} , natomiast w próbkach mrożonych zauważono wzrost zawartości Fe^{2+} w stosunku do Fe^{3+} wraz ze wzrostem stopnia złośliwości nowotworu reprezentowanego przez próbkę. Otrzymane wyniki sugerują, że obniżony stopień utlenienia żelaza może być wskaźnikiem

tkanek nowotworowych. Dla próbek suszonych w ujemnych temperaturach nie zaobserwowano podobnej zależności. Rozbieżności między wynikami uzyskanymi w tych dwóch różnych podejściach pokazują, że warunki kriogeniczne dają dobre rezultaty w badaniu próbek biologicznych. W takich warunkach próbki znajdują się w postaci zbliżonej do tej w której znajdują się w organizmie człowieka, nie zmienionej znacznie w procesie preparatyki. Analiza stopni utlenienia miedzi pokazała natomiast mały wzrost zawartości Cu^{2+} w stosunku do zawartości Cu^{1+} wraz ze wzrostem stopnia złośliwości nowotworu.

Wyniki przeprowadzonych badań pokazują jak duży jest wpływ preparatyki próbek oraz warunków pomiarowych na rezultaty. Podkreślają one również wagę pierwiastków przejściowych w procesach patologicznych. Otrzymane wyniki mogą przyczynić się do zwiększenia wiedzy dotyczącej procesów biochemicznych zachodzących w procesie nowotworzenia oraz do wzrostu wiedzy na temat jednego z mniej poznanych nowotworów. Być może mogą być one również kolejnym krokiem w rozwoju komplementarnych do analizy histopatologicznej metod identyfikacji typów nowotworu.