X-RAY MICROTOMOGRAPHY AS A TECHNIQUE FOR MINERALOGICAL ANALYSIS OF URINARY CALCULI

RENTGENOVÁ MIKROTOMOGRAFIE V MINERALOGICKÉ ANALÝZE MOČOVÝCH KAMENŮ

Štěpánková K.[1], Novotný K.[1, 2], Kaiser J.[3], Procházková K.[3], Kanický V.[1, 2], Mancini L.[4]

[1]Department of Chemistry, Faculty of Science, Masaryk University, Kotlářská 2, 611 37 Brno, Czech Republic

[2]CEITEC - Central European Institute of Technology, Masaryk University, Kamenice 5, 625 00 Brno, Czech Republic

[3]X-ray Micro CT and Nano CT Research Group, CEITEC - Central European Institute of Technology, Brno University of Technology, Technická 2896/2, 616 69 Brno, Czech Republic

[4]Sincrotrone Trieste S.C.p.A., Strada Statale 14, km 163.5 in AREA Science Park, Basovizza, 34149 Trieste, Italy

E-mail: Katerina.Proksova@seznam.cz

ABSTRACT

The aim of this study is to present synchrotron radiation X-ray microtomography (SR-μCT) as the technique for investigation of the mineralogical composition of urinary calculi fragments in the non-destructive manner at very high resolution. SR-μCT is proved to be an effective technique for determination of texture, 3D microstructure and composition of kidney stones. Since this technique is non-destructive, traditional analytical methods can also be performed. The comparison of the results obtained by SR-μCT analysis with those derived from current standard analytical approaches are in a good agreement. As the comparative method was used laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry.

Key words: Synchrotron radiation, X-Ray microtomography, urinary calculi

Acknowledgments: We acknowledge the Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic for supporting the research projects ME08002, ME10061 and the Czech Science Foundation for the project GA203/09/1394. This work was also supported by "CEITEC – Central European Institute of Technology" (CZ.1.05/1.1.00/02.0068) project from the European Regional Development Fund.

ÚVOD

Počítačová mikrotomografie (μCT) využívá rentgenové záření k získání trojrozměrné informace o vnitřní struktuře močových kamenů ve vysokém rozlišení [1]. Často se používá rentgenové synchrotronové záření (SR- μCT) díky svým výjimečným vlastnostem. Synchrotronový zdroj poskytuje úzký svazek záření o velmi vysoké intenzitě s širokým rozsahem volitelné vlnové délky, což umožňuje zachytit velmi jemné detaily ve struktuře materiálu [2]. Cleveland et al. poprvé aplikovali μCT na močové kameny pro stanovení destrukce pomocí rázové vlny [3]. Brzy nato bylo zaznamenáno, že různé minerální látky mohou být rozlišeny pomocí μCT, což popsal ve svých studiích Zarse et al. [4,5]. Od té doby použilo několik autorů μCT pro nedestruktivní analýzu močových kamenů [6-11].

Nedestruktivní 3D vizualizace vzorku s vysokým rozlišením je důležitá pro následné využití analytických metod, které nám mohou poskytnout údaje o koncentraci prvků na příslušném řezu močového kamene. Těmito metodami jsou například spektrometrie laserem buzeného mikroplazmatu (LIBS) [12,13] a laserová ablace s indukčně vázaným plazmatem s hmotnostní nebo optickou emisní detekcí (LA-ICP-MS/OES) [14,15]. Analýza mineralogické struktury vzorku močového kamene je důležitá proto, aby mohly být tyto metody efektivně využity, a to hlavně pro výběr optimálních parametrů laserové ablace, např. průměru laserového paprsku nebo volby techniky prvkového mapování (liniový sken, řada nebo rastr bodů) [16].

Cílem této studie bylo pomocí SR-μCT zachytit malé odchylky v chemickém složení vzorku a lokalizaci zřetelné koncentrické textury uvnitř močového kamene, v tomto zájmovém místě vzorku močového kamene následně provést řez a pomocí metody LA-ICP-MS provést prvkové mapování a ověřit mineralogické složení.

MATERIÁL A METODIKA

Vzorky močových kamenů

Všechny vzorky močových kamenů byly z těla pacienta vyjmuty chirurgicky. Po vyjmutí byl kámen opláchnut v destilované vodě a vysušen. Z povrchu byla odebrána reprezentativní část vzorku pro infračervenou analýzu. Pomocí infračervené spektroskopie byly určeny hlavní složky močového kamene. Výsledky byly zaneseny do databáze a poslány i s evidenčním číslem na univerzitu. Všechny vzorky pochází ze sbírky Prof. Ing. Petra Martince, CSc. z Ústavu geoniky AV ČR v Ostravě.

SR-μCT vzorků

SR-μCT měření na vzorcích močových kamenů byla prováděna na SYRMEP beamline synchrotronu Elettra Light Laboratory, Trieste (Itálie). Rentgenové záření bylo získáváno pomocí ohnutého magnetu ve vzdálenosti asi 23 m od zdroje. Získalo se tak monochromatické rentgenové záření s laminárním průřezem s maximální plochou 160×5 mm^2 při 20 keV.

Pro SR-μCT měření byly vzorky připevněny na otáčivý držák s vysokým rozlišením a osvětlovány monochromatickým zářením. Jako detektor byla použita vodou chlazená 16bitová CCD kamera (Photonic Science Hystar) ve vzdálenosti 50 cm od vzorku. Vzdálenost mezi vzorkem a detektorem byla zvolena tak, aby se dalo pracovat v režimu fázového kontrastu pro μCT [17]. Pro každý vzorek bylo pořízeno 1440 projekcí vždy tak, že vzorkem bylo otočeno o 180° a jednotlivé úhly byly rovnoměrně rozloženy.

Laserový ablační systém

Laserová ablace vzorků byla prováděna s ablačním systému UP 213 (New Wawe, USA) vybaveným ablační komorou SUPERCELL o objemu 18 cm^3. Vestavěné posuvy umožňují pohyb komory v osách x, y, z a povrch vzorku je snímán CCD kamerou. Součástí zařízení je nanosekundový Nd:YAG laser emitující záření 213 nm na páté harmonické frekvenci. Délka laserového pulzu je 4,2 ns.

Průtok nosného plynu (helia) proudícího ablační komorou byl nastaven na 1,0 l min^{-1} a byl řízen průtokoměrem Brooks. ICP-MS je spojeno s ablačním systémem pomocí polyurethanových hadiček od firmy LEGRIS. Ablatovaný materiál s heliem je před vstupem do ICP-MS smíchán s argonem o průtoku 0,6 l min^{-1}.

ICP-MS

Ablatovaný materiál byl analyzován pomocí ICP-MS spektrometru Agilent 7500ce (Agilent, Japonsko), (znázorněno na Obr. 16.). Uspořádání spektrometru je horizontální s kolizně-reakční celou, kvadrupólovým analyzátorem a elektronovým násobičem. U přístroje Agilent 7500ce je kolizně-reakční cela tvořena oktapólovým reakčním systémem (ORS). K odstranění polyatomických interferencí bylo využito heliového i vodíkového módu s průtoky 2,0 ml min^{-1} He a 1,0 ml min^{-1} H_2.

Podmínky měření pro laserovou ablaci

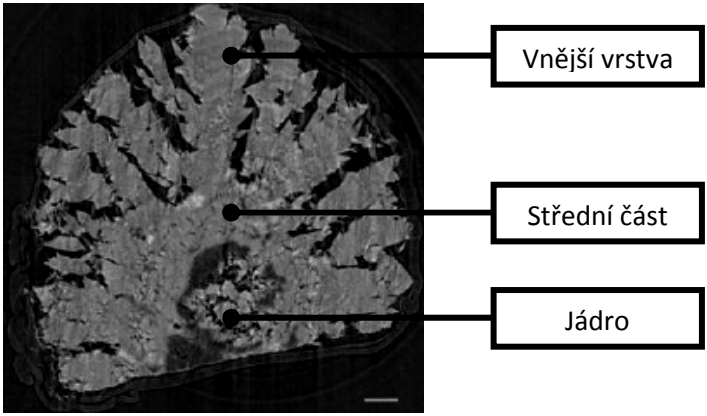
V případě liniových skenů byla zvolena frekvence laseru 5 Hz s hustotou zářivé energie 7 J cm^{-2}. Vzorek byl posouván rychlostí 40 μm s^{-1}. Mapování bylo provedeno s průměrem laserového paprsku 65 μm a jednotlivé linie byly umístěny ve vzdálenosti 100 μm. Mapování vzorků močových kamenů pomocí rastru bodů bylo provedeno s frekvencí laseru 10 Hz a průměrem laserového paprsku 65 μm. Ablace do daného bodu probíhala po dobu 6 s a mezi body byla zvolena časová prodleva 8 s pro vypláchnutí ablační cely a dostatečný pokles signálu. Vzdálenost mezi krátery v ose x i y byla 65 μm. Hustota zářivé energie byla nastavena na stejnou hodnotu jako

v případě liniových skenů. Matriční prvky byly měřeny s použitím kratšího integračního času (~0,01 s). Pro stopové prvky byl použit delší integrační čas (~0,1 s), pro získání vyšší hodnotu intenzity signálu.

VÝSLEDKY A DISKUZE

Mineralogické složení vzorku močového kamene s číslem 11684 bylo následující: 40 % weddellit ($CaC_2O_4 \cdot 2\,H_2O$), 30 % whewellit ($CaC_2O_4 \cdot H_2O$), 20 % apatit ($Ca_5(PO_4,CO_3)_3(OH)$) a 10 % kyselina močová ($C_5H_4N_4O_3$).

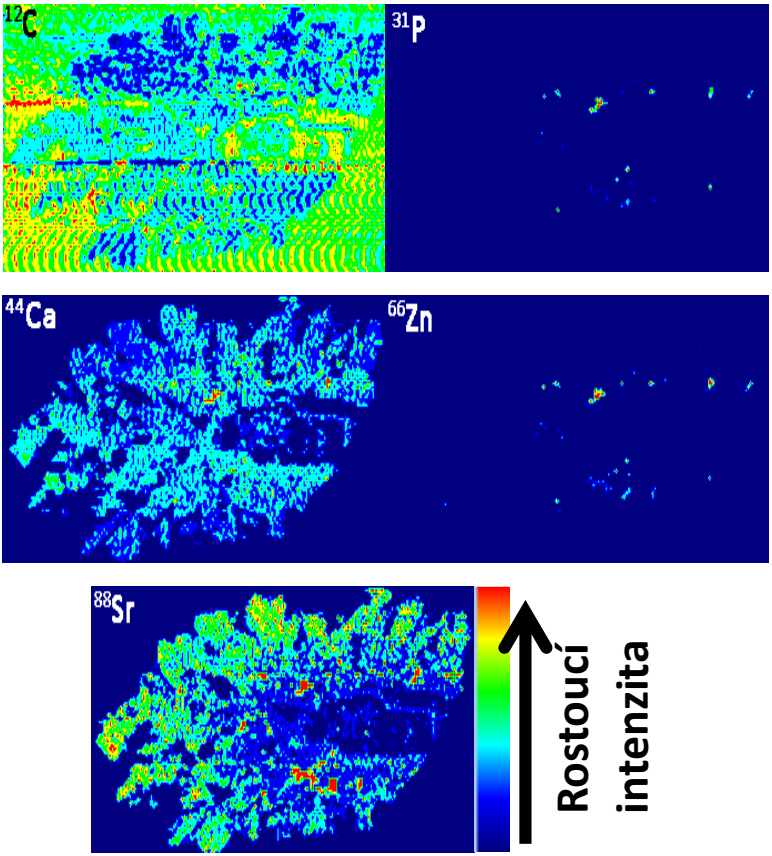
Obr. 1. Rekonstruovaný řez vzorku 11684 z SR-μCT měření.



Na Obr. 1. můžeme vidět řez 050 vzorku 11684 získaný pomocí SR-μCT měření. Vzorek je rozdělen na tři části, a to jádro, střední část a vnější vrstvu. Ve vnější vrstvě můžeme pozorovat světle šedou barvu, která reprezentuje krystaly whewellitu nebo weddellitu. Ve střední části jsou zřetelně viditelné bílé tečky, které patří minerálu apatitu. V jádře můžeme pozorovat všechny minerály obsažené v tomto vzorku močového kamene. Tmavě šedá barva náleží kyselině močové, světle šedá barva whewellitu nebo weddellitu a bílé tečky apatitu.

Obr. 2. Fotografie vzorku močového kamene 11684 po ablaci

Obr. 3. 2D distribuční mapy pro vzorek močového kamene 11684.



Na Obr. 2. je fotografie vzorku močového kamene s viditelnými ablačními liniemi. Analyzován byl celý vzorek, což nám umožňuje zobrazit prostorovou distribuci prvků v celém řezu. Z vytvořených 2D intenzitních map lze odvodit korelace mezi prvky, které nám poskytnou informaci o mineralogickém složení. V jádře vzorku je vysoká intenzita uhlíku, což naznačuje přítomnost kyseliny močové. Ve vnější vrstvě a centrální části je intenzita uhlíku nižší oproti jádru, což je vysvětleno procentuálním zastoupením uhlíku ve whewellitu a weddellitu nebo v kyselině močové. 2D intenzitní mapa pro fosfor ukazuje výskyt apatitu. V intenzitní 2D mapě pro vápník jsou viditelné oblasti se zvýšenou intenzitou, což dokazuje přítomnost apatitu. Podle distribuční mapy pro zinek je jasně patrné, že tento prvek se vyskytuje v návaznosti apatitu. V 2D intenzitní mapě pro stroncium jsou taktéž patrné oblasti se zvýšenou intenzitou, které jsou v korelaci s apatitem, oblasti se sníženou intenzitou (v jádře) naznačují obsah kyseliny močové a okrajová vrstva naznačuje obsah whewellitu nebo weddellitu.

ZÁVĚR

SR-μCT je metoda s vysokým prostorovým rozlišením. Tato technika umožňuje nedestruktivní analýzu močových kamenů a zároveň nám pomůže bez narušení struktury kamene určit rovinu řezu, kde má být provedena následná chemická analýza. Z výsledků vyplývá, že výsledky mineralogického složení z SR-μCT jsou ve shodě s přímou analytickou metodou laserové ablace s hmotnostní spektrometrií v indukčně vázaném plazmatu.

LITERATURA

1. Ruegsegger P., Koller B., Muller R. (1996): A microtomographic system for the nondestructive evaluation of bone architecture. Calcif. Tissue. Int., 58(1): 24-29.

2. Hrdý J. (1992): Synchrotronové záření. Pokroky matematiky, fyziky a astronomie, 37(3): 140-150.

3. Cleveland R. O., McAteer J. A., Müller R. (2001): Time-lapse nondestructive assessment of shock wave damage to kidney stones in vitro using micro-computed tomography. J. Acoust. Soc. Am., 110(4): 1733-1736.

4. Zarse C. A., McAteer J. A., Sommer A. J., Kim S. C., Hatt E. K., Lingeman J. E., Evan A. P., Williams J. C. Jr. (2004): Nondestructive analysis of urinary calculi using micro computed tomography. BMC Urol., 4, doi:10.1186/1471-2490-4-15

5. Zarse C. A., McAteer J. A., Tann M., Sommer A. J., Kim S. C., Paterson R. F., Hatt E. K., Lingeman J. E., Evan A. P., Williams J. C. Jr. (2004): Helical CT accurately reports urinary stone composition using attenuation values: In vitro verification using high resolution micro CT calibrated to FT-IR microspectroscopy. Urology 63(5): 828-833.

6. Miller N. L., Gillen D. L., Williams J. C. Jr, Evan A. P., Bledsoe S. B., Coe F. L.,Worcester E. M., Matlaga B. R., Munch L. C., Lingeman J. E. (2009): A formal test of the hypothesis that idiopathic calcium oxalate stones grow on Randall's plaque. BJU Int. 103(7): 966-971.

7. Pramanik R., Asplin J. R., Jackson M. E., Williams J. C. Jr (2008): Protein content of human apatite and brushite kidney stones: significant correlation with morphologic measures. Urol. Res. 36(5): 251-258.

8. Primak A. N., Fletcher J. G., Vrtiska T. J., Dzyubak O. P., Lieske J. C., Jackson M. E., Williams J. C. Jr, McCollough CH. (2007): Non-invasive differentiation of uric acid versus non-uric acid kidney stones using dual-energy CT. Acad. Radiol. 14(12): 1441-1447.

9. Williams J. C. Jr, Matlaga B. R., Kim S. C., Jackson M. E., Sommer A. J., McAteer J. A., Lingeman J. E., Evan A. P. (2006): Calcium oxalate calculi found attached to the renal papilla: Preliminary evidence for early mechanisms in stone formation. J. Endourol. 20(11): 885-890.

10. Williams J. C. Jr, Zarse C. A., Jackson M. E., Witzmann F. A., McAteer J. A. (2006): Variability of protein content in calcium oxalate monohydrate stones. J. Endourol. 20(8): 560-564.

11. Kaiser J., Holá M., Galiová M., Novotný K., Kanický V., Martinec P., Sčučka J., Brun F., Sodini N., Tromba G., Mancini L., Kořistková T. (2010): Investigation of the microstructure and mineralogical composition of urinary calculi fragments by synchrotron radiation X-ray microtomography – a feasibility study. Urolog. Res. 39(4): 259-267.

12. Galiova M., Kaiser J., Novotny K., Samek O., Reale L., Malina R., Palenıkova K., Liska M., Cudek V., Kanicky V., Otruba V., Poma A., Tucci A. (2007): Utilization of laser induced breakdown spectroscopy for investigation of the metal accumulation in vegetal tissues. Spectrochim. Acta B 62(12): 1597–1605

13. Kaiser J., Samek O., Reale L., Liska M., Malina R., Ritucci A., Poma A., Tucci A., Flora F., Lai A., Mancini L., Tromba G., Zanini F., Faenov A., Pikuz T., Cinque G. (2007): Monitoring of the heavymetal hyperaccumulation in vegetal tissues by X-ray radiography and by femto-second laser induced breakdown spectroscopy. Microsc. Res. Tech. 70(2): 147–153.

14. Farrell A. P., Hodaly A. H., Wang S. (2000): Metal analysis of scales taken from arctic grayling. Arch. Environ. Toxicol. 39(4): 515–522.

15. Flem B., Moen V., Grimstvedt A. (2005): Trace element analysis of scales from four populations of Norwegian Atlantic Salmon (Salmo salar l.) for stock identification using laser ablation inductively coupled plasma mass spectrometry. Appl. Spectrosc. 59(2): 245–251.

16. Proksova K., Novotny K., Galiova M., Vaculovic T., Kuta J., Novackova M., Kanicky V. (2012): Study of Elemental Distribution in Urinary Stones by Laser Ablation Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, Chem. listy 106(3): 229-235.

17. Cloetens P., Pateyron-Salome M., Buffiere J. Y., Peix G., Baruchel J., Peyrin F., Schlenker M. (1997): Observation of microstructure and damage in materials by phase sensitive radiography and tomography. J. Appl. Phys. 81(9): 5878–5886.