

116. BADANIA LUDZKICH KAMIENI ŻÓŁCIOWYCH PRZY UŻYCIU MIKROSKOPU SIŁ ATOMOWYCH - OSIĄGNIĘCIA I TRUDNOŚCI

IWONA MRÓZ, BOGDAN BARWIŃSKI, KLAUDIA MATYKA,
ANTONI CISZEWSKI

INSTYTUT FIZYKI DOŚWIADCZALNEJ, UNIWERSYTET WROCŁAWSKI
PLAC MAXA BORNA 9, 50-204 WROCŁAW
IMROZ@IFD.UNI.WROC.PL

[*Inżynieria Biomateriałów*, 47-53,(2005),116-117]

Proces tworzenia się kamieni żółciowych w organizmie ludzkim nie został do końca poznany. Wydaje się, że informacji dotyczących powstawania kamieni może dostarczyć analiza ich budowy. Na powierzchni i na przekrojach niektórych kamieni można bowiem zaobserwować charakterystyczne struktury warstwowe w postaci pierścieni koncentrycznych o różnych barwach i składzie chemicznym [1,2]. Powstawanie takich pierścieni próbuje się wyjaśniać w oparciu o teorię Lieseganga [3], opisującą krystalizowanie się periodycznych struktur w warunkach dalekich od równowagi. Głównymi składnikami chemicznymi kamieni żółciowych są: cholesterol, substancje białkowe barwniki żółciowe (bilirubina) i ich pochodne oraz węglany wapnia. Spotyka się też domieszki nieorganiczne i materiał pochodzenia biologicznego (np. bakterie). Od zawartości głównych składników zależy barwa kamienia oraz obecność i układ pierścieni. Według jednej z klasyfikacji, stosowanej do celów praktycznych, wyróżnia się kamienie białe, brązowe i czarne [4]. Kamienie żółciowe po wyjęciu z pęcherzyka żółciowego pacjenta posiadają wilgotne jądro o niejednorodnej strukturze, otoczone warstwą zewnętrzną (skorupą) twardniejącą w miarę oddalania się od jądra. W obrębie skorupy mogą występować pierścienie. Z czasem jądro wysycha i w części centralnej kamienia może utworzyć się pusta przestrzeń. Dokładne zbadanie rozmieszczenia przestrzennego składników kamienia w obrębie całego kamienia oraz w obrębie poszczególnych pierścieni (określenie mikrostruktury pierścieni) może przyczynić się do wyjaśnienia sposobu formowania się kamieni. Badania takie powinny objąć, oprócz analizy chemicznej, analizę rozkładu przestrzennego elementów strukturalnych (m.in. obecności i wielkości mikrokryształów, które mogą być tworzone przez różne substancje chemiczne).

Celem naszych badań było określenie różnic w mikrostrukturze kamieni różnych typów pod kątem analizy elementów strukturalnych oraz wykazanie zróżnicowania przestrzennego w obrębie tego samego kamienia (pomiędzy jądem, skorupą oraz pierścieniami skorupy). Wykorzystując mikroskopy sił atomowych Nanoscope E i Nanoscope IIIa, Veeco, analizowaliśmy rozmiary elementów strukturalnych oraz badaliśmy związek pomiędzy wielkością tych elementów a ich rozmieszczeniem w obrębie kamieni. Pomiary wykonywaliśmy głównie w trybie kontaktowym. Badaliśmy również możliwości obrazowania kamieni przy użyciu trybu quasi-niekontaktowego (tapping mode) i wykorzystania trybu obrazowania fazowego.

Obrazowanie prowadziliśmy dla kamieni świeżych i suchych białych, brązowych i czarnych. Kamienie były poddane procedurze łupania w celu odsłonięcia przekroju. Badano powierzchnie przekrojów niezmodyfikowane oraz poddane obróbce mechanicznej (wygładzanie) i chemicznej. Powierzchnie przekroju obrazowano systematycznie od jądra

LAFM INVESTIGATIONS OF HUMAN GALLSTONES - ACHIEVEMENTS AND DIFFICULTIES

IWONA MRÓZ, BOGDAN BARWIŃSKI, KLAUDIA MATYKA,
ANTONI CISZEWSKI

INSTITUTE OF EXPERIMENTAL PHYSICS, UNIVERSITY OF WROCŁAW
PLAC MAXA BORNA 9, 50-204 WROCŁAW, POLAND
IMROZ@IFD.UNI.WROC.PL

[*Engineering of Biomaterials*, 47-53,(2005),116-117]

The mechanism of human gallstones formation has not been fully understood. Wide analyses of chemical composition and morphology of the gallstones seem useful to explain this process. In particular: on the surfaces and cross-sections of some gallstones characteristic concentric rings of various colours and chemical composition are observed. It is supposed that the existence of such ring patterns could be explained with Liesegang theory [3] of periodic patterns formation in non-equilibrium conditions.

Human gallstones are composed mainly of cholesterol, proteins, bile pigments (bilirubin and its derivatives) and calcium carbonate. Inorganic admixtures and some biological material (eg. from bacteria) are also observed. Different colours of the gallstones and the existence of ring patterns result from the proportion of their main chemical components. According to one of the gallstone classifications, used for practical purposes, white, brown and black gallstones are distinguished [4]. Gallstones, freshly removed from a gallbladder, have a damp interior and a hard external shell. The structure of the interior is heterogeneous. Sometimes, as a result of drying process, the interior may become empty. Coloured rings can be observed in the shell. Detailed analysis of spatial distribution of the components in gallstone should include not only chemical, but also microstructural investigations (i.e. analyses of structural elements like microcrystals, their sizes and spatial positions in the gallstones).

The aim of the presented investigations was to describe differences in structural elements for various gallstones and to observe spatial differentiation of the elements within the same gallstone (differences between the interior and the shell, including the rings of the shell). The measurements were performed with atomic force microscopes Nanoscope E and Nanoscope IIIa, Veeco. We analyzed sizes of structural elements of the gallstones. The relation between the structural elements of given sizes and their spatial distribution within the gallstone was also investigated. We worked mainly in contact mode, but we also discussed advantages and disadvantages of using the AFM tapping mode and phase imaging for gallstones' investigations.

AFM imaging was performed for cross-sections of white, brown and black gallstones. We used fresh and dry gallstones. The surfaces of the cross-sections were non modified, mechanically modified (polished) and chemically modified. The images were taken systematically from the interiors of the gallstones to the external parts of the shells. The results show that the microstructures of gallstones of various types are different. The shells of white gallstones are more homogeneous than the shells of brown gallstones. In brown gallstones we observe greater amount of shapeless substance than in white gallstones. Some examples of

do zewnętrznej warstwy skorupy. Uzyskane wyniki pozwalały stwierdzić istnienie różnic zarówno pomiędzy kamieniami różnych typów jak i w obrębie tego samego kamienia. Skorupy kamieni białych są mniej zróżnicowane pod względem strukturalnym niż skorupy kamieni brązowych. W kamieniach brązowych występuje wiele substancji bez-

RYS. 1. Różnice w mikrostrukturze pasm występujących na powierzchni przekroju kamienia białego.

FIG. 1. Different parts of a cross-section of a white gallstone imaged with AFM.

postaciowej. Przykłady różnic zaobserwowanych kamienia białego przedstawia RYS.1: w obrębie ciemnego jądra obserwujemy struktury drobne, większe gromadzą się w warstwie zewnętrznej kamienia.

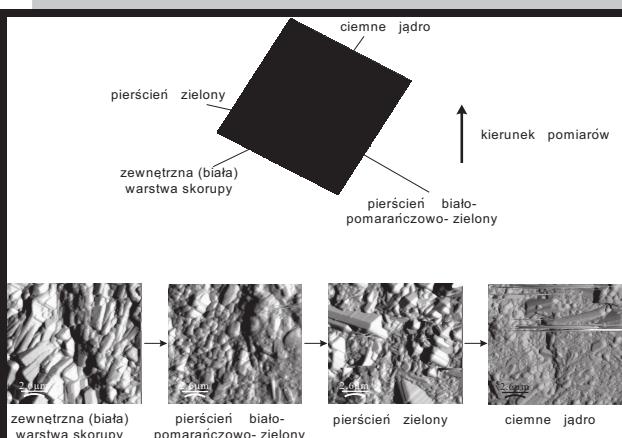
Badanie kamieni żółciowych przy pomocy AFM stwarza trudności pozwalające pogłębić zrozumienie ograniczeń zastosowanej metody pomiarów. Prezentujemy typowe artefakty, które pojawiają się przy obrazowaniu AFM nierównych powierzchni przekroju kamieni.

Podziękowania

Autorzy pragną podziękować prof. dr hab. Piotrowi Szyberowi (Akademia Medyczna we Wrocławiu) za udostępnienie kamieni żółciowych oraz p. dr Jolancie Puniewskiej za okazaną życzliwość.

Piśmiennictwo

- [1] X.S.Zhou, G.R.Shen, J.G.Wu, W.H.Li, Y.Z.XU, S.F.Weng, R.D.Soloway, X.B.Fu, W.Tian, Z.Xu, T.Shen, G.X.Xu, E.Wentrup-Byrne, A spectroscopic study of pigment gallstones in China, *Biospectroscopy*, 3, 371 (1997).
- [2] A.S.Loginov, S.M.Chebanov, A.V.Peterkov, G.V.Saparin, S.K.Obyden, P.V.Ivannikov, Investigation of cholesterol, bilirubin, and protein distribution in human gallstones by color cathodoluminescence scanning electron microscopy and transmission electron microscopy, *Scanning*, 20, 17 (1998).



microstructural differentiation within the same gallstone are presented in FIG.1. Small-sized structural elements are located in the interior of the gallstone. Bigger elements occupy the external part of the shell.

AFM investigations of human gallstones are difficult but fruitful. They lead to deeper understanding the limitations of the method. We present typical artificial effects that may occur during imaging rough surfaces of gallstone cross-sections.

Acknowledgements

The authors thank prof. Piotr Szyber (Wrocław Medical University) for gallstones and dr Jolanta Puniewska for kindness.

References

- [3] Q. Peng, J.-G. Wu, R.D. Soloway, T.-D. Hu, W.-D. Huang, Y.-Z. Xu, L.B. Wang, X.F. Li, W.-H. Li, D.-F. Xu, G.-X. Xu, Periodic and chaotic precipitation phenomena in bile salt system related to gallstone formation, *Biospectroscopy*, 3, 195 (1997).
- [4] O.Kleiner, J.Ramesh, M.Huleihl, B.Cohen, K.Kantarovich, Ch.Levi, B.Polyak, R.S.Marks, J.Mordehai, Z.Cohen, S.Mordechai, A comparative study of gallstones from children and adults using FTIR spectroscopy and fluorescence microscopy, *BMC Gastroenterology* 2, 3 (2002).

OSADZANIE CIENKICH WARSTW Z HYDROKSYAPATYTU METODĄ LASEROWEJ ABLACJI

W. MRÓZ*, B. MAJOR**, R. MAJOR**, A. PROKOPIUK*,
T. WIERZCHON***

*INSTYTUT OPTOELEKTRONIKI, WOJSKOWA AKADEMIA TECHNICZNA,
01-489 WARSZAWA, UL. KALISKIEGO 2

**INSTYTUT METALURGII I INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ, PAN,
30-059 KRAKÓW, UL. REYMONTA 25

***WYDZIAŁ INŻYNIERII MATERIAŁOWEJ,
POLITECHNIKA WARSZAWSKA,
02-507 WARSZAWA, UL. WOŁOSKA 141

Streszczenie

Nowoczesne technologie laserowe, w tym metoda osadzania warstw metodą laserowej ablacji (pulsed laser deposition - PLD), są coraz szerzej wykorzysty-

DEPOSITION OF HYDROXYAPATITE THIN FILMS USING LASER ABLATION METHOD

W. MRÓZ*, B. MAJOR**, R. MAJOR**, A. PROKOPIUK*,
T. WIERZCHON***

*INSTITUTE OF OPTOELECTRONICS, MILITARY UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, 2 KALISKIEGO STR., 01-489 WARSAW, POLAND

**INSTITUTE OF METALLURGY AND MATERIALS SCIENCE, POLISH ACADEMY OF SCIENCES, 25 REYMONTA STR., 30-059 CRACOW,

***DEPARTMENT OF MATERIALS AND SCIENCE ENGINEERING, WARSAW UNIVERSITY OF TECHNOLOGY,
141 WOŁOSKA STR., 02-507 WARSAW, POLAND

Abstract

Modern laser technologies, including layers deposition method by pulsed laser beam (pulsed laser