

De identificatie van kristallijnen stoffen in het menschelijk lichaam met behulp van Röntgenstralen

door dr. W. G. Perdok.

Conservator aan het Kristallografisch Instituut der Rijks-Universiteit te Groningen

Inleiding.

In een vorig artikel ¹⁾ werd het principe besproken van de methode om met behulp van röntgenstralen de structuur van kristallen te bepalen. De mogelijkheid van vervanging der hydroxylionen door fluorionen in het kristalrooster bleek een verklaring te kunnen geven van de beschermende invloed van fluoriden tegen tandcaries. Door gebruik te maken van een precisietechniek voor het bepalen van atoomafstanden volgens de methode van De bij e-Scherrer kan worden beslist, of bij de wisselwerking tussen fluoride en tandglazuur inderdaad fluorapatiet ontstaat, of dat er een andere fluoorverbinding (b.v. fluoriet) optreedt. Over het resultaat van een dergelijk onderzoek, dat thans in bewerking is, zal later een nadere mededeling verschijnen; in deze studie wordt eerst een overzicht gegeven van de De bij e-Scherrer-methode in zijn eenvoudigste vorm en de toepassing ervan op medisch en tandheelkundig terrein.

In 1895 ontdekte Wilhelm Conrad Röntgen de naar hem genoemde straling. Een van de eerste experimenten, welke hij met zijn „X-stralen” uitvoerde, was het „doorlichten” van zijn hand. Hij zag daarbij de beenderen als donkere schaduwen op de lichtend groene ondergrond van zijn fluorescerend scherm.

De medische wetenschappen maakten van deze belangrijke toepassingsmogelijkheid direct gebruik. Eerst vrijwel alleen voor het opsporen van vreemde voorwerpen in het lichaam, maar later ook steeds meer bij de diagnose van gezwellen en andere pathologische veranderingen in de weefsels.

In fysisch opzicht is het doorlichtingsproces zeer eenvoudig; van

¹⁾ Tijdschrift voor Tandheelkunde 54 (1947) no. 3.

de objecten, welke de röntgenstralen absorberen, ontstaat een schaduwbeeld op ongeveer natuurlijke grootte als de fotografische plaat of het fluorescerende scherm zich dicht achter de patiënt bevinden, evenals een lamp op een wand een (ongeveer) natuurgetrouw schaduwbeeld geeft, wanneer het voorwerp dicht bij deze wand is. In beide gevallen wordt het duidelijk, dat de röntgenstralen resp. lichtstralen zich rechtlijnig voortplanten.

De physica had echter al ontdekt, dat het licht een golfbeweging was en dat de rechtlijnige voortplanting alleen optrad als het door openingen ging, die groot waren ten opzichte van zijn golflengte. Passeert het licht een opening, die niet veel groter is dan de golflengte (deze is 0.0006 mm), dan wordt het in vele richtingen afgebogen en zien we op een scherm achter deze opening, rondom het door de rechtdoorgaande stralen gevormde lichtvlekje, een aantal ringen van (volgens een bepaalde wet) toenemende diameter en afnemende intensiteit. (Fig. 1a). In het laboratorium voert men dergelijke proeven uit met een zgn. tralie van Rowland; in principe een glaasje, waarop met behulp van een fijne diamantspits en een uiterst nauwkeurig werkende machine evenwijdige krasjes zijn getrokken op precies gelijke afstanden van elkaar. Een goed tralie heeft enige honderden van deze krasjes per millimeter. Het buigingseffect kan gemakkelijk worden waargenomen, als men b.v. 's avonds door een fijn weefsel (zakdoek) naar een straatlantaarn kijkt; men ziet dan in de richtingen van schering en inslag een tiental gekleurde buigingsbeeldjes van de lantaarn. De kleuren ontstaan, doordat de grootte van de afbuiging samenhangt met de golflengte van het licht, zodat het buigingsverschijnsel met kleurschifting gepaard gaat. Ook de kleuren van parelmoer en van pauweveren b.v. berusten op de buiging van het licht door regelmatige, fijne structuren in het oppervlak van het materiaal.

Vrij spoedig na de ontdekking van de röntgenstraling vermoedden de physici, dat deze straling analoog was met het licht, dat het dus een electromagnetische golfbeweging was, zich slechts onderscheidend van het licht door een ongeveer 1000 maal kleine golflengte. Het buigingsverschijnsel, dat deze stralen als golfbeweging moesten vertonen, kon echter niet gemakkelijk experimenteel worden gedemonstreerd, omdat men niet in staat was langs mechanische weg een tralie te vervaardigen met enkele honderdduizenden krasjes per millimeter.

Toch konden H a g a en W i n d in 1899 reeds de buiging van röntgenstralen door een wigvormige spleet aantonen. Zij vonden daarbij de goede orde van grootte voor de golflengte. Deze fundamentele onderzoeken, die in het fysisch laboratorium der Rijksuniversiteit te Groningen werden uitgevoerd, zijn overstraald door de hierna vermelde ontdekking en kregen daardoor niet de belangstelling die ze verdienden.

In 1912 kwam M. v o n L a u e op de geniale gedachte, kristallen te gebruiken als buigingstralie voor röntgenstralen. De onderzoekers op kristallografisch gebied waren reeds lang tot de voorstelling ge-

komen, dat gekristalliseerde stoffen opgebouwd moesten zijn uit elementaire deeltjes (atomen, ionen, moleculen), die op uiterst regelmatige wijze in de ruimte waren gerangschikt. Als men zich de atomen voorstelt als harde bolletjes, dan is de rangschikking vergelijkbaar met die van een hoeveelheid knikkers van gelijke grootte in een doos, die zolang geschud is, dat deze knikkers zo dicht als mogelijk op elkaar liggen. We zien dan het volgende beeld (fig. 2). De knikkers liggen in zuiver rechte rijen gerangschikt, zowel van links naar rechts als van voren naar achteren en van boven naar beneden. In sommige rijen raken ze elkaar aan en is het direct duidelijk, dat de knikkers zich op precies gelijke afstanden van elkaar herhalen. Dit beeld nu is typisch voor de rangschikking van de atomen in een kristal; gaan we van een bepaald atoom naar een ander en vervolgen we deze weg in een rechte lijn, dan vinden we op deze lijn steeds weer soortgelijke atomen terug op precies gelijke afstanden van elkaar. De analogie met de krasjes op het tralie van Rowland, die eveneens op gelijke afstanden van elkaar getrokken zijn, is wel heel duidelijk. De afstanden tussen de atomen zijn echter niet 0,001 mm, maar ongeveer 0,000001 mm, dus duizend maal zo klein. Daar de golflengte der röntgenstralen nu ook duizend maal kleiner moest zijn dan die van het licht, lag het voor de hand een kristal als buigingsstralie voor deze stralen te gaan gebruiken.

In 1912 echter, toen zowel van het karakter der röntgenstralen als van de structuur der kristallen nog niets met zekerheid bekend was, vereiste het wel een buitengewoon helder inzicht om een proef te bedenken, die beide problemen tegelijkertijd zou kunnen oplossen. Het experiment door V o n L a u e en zijn medewerkers uitgevoerd, had het verwachte resultaat: op de fotografische plaat ontstond rondom de centrale vlek van de rechtdoorgaande straal een buigingspatroon van zwarte stippen, dat slechts door de regelmatige rangschikking der atomen in het doorstraalde kristal kon zijn veroorzaakt. ²⁾ Zo bewees hij met één enkele proef, 1e. dat de röntgenstraling een electromagnetische golfbeweging was en 2e. dat de kristallen volgens een regelmatig patroon waren opgebouwd.

Het onderzoek van kristallen met röntgenstralen is in ruim 30 jaren uitgegroeid tot een zeer veel omvattende tak van wetenschap. Men kan tegenwoordig voor een bepaalde groepering van atomen gemakkelijk berekenen, hoe het röntgenbuigingsbeeld eruit zal zien en, omgekeerd, ook uit de buigingsbeelden de rangschikking der atomen in het kristal afleiden. Er zijn velerlei speciale methoden van rekenen en opnametechniek ontwikkeld om de „fijnstructuur“ der kristallen te bepalen.

We zullen ons verder echter houden met de meest eenvoudige techniek n.l. met de röntgenfoto's van poedervormige kristallijne stof-

²⁾ Zie ook het onder 1) geciteerde artikel; fig. 2 aldaar is een reproductie van een der foto's welke V o n L a u e verkreeg.

fen. Laat men n.l. röntgenstralen van een bepaalde golfenlge op een kristalpoeder vallen, dan ontstaan op een fotografische plaat achter het poederpreparaat een aantal ringen van verschillende diameter en intensiteit, een beeld dus, (fig. 1b), dat heel veel doet denken aan dat van de buiging van het licht door een klein rond gaatje. Hoewel de techniek simpel is (fig. 3) speelt deze methode van röntgenbuigingsfoto's een belangrijke rol, omdat dergelijke „poederfoto's" zeer karakteristiek zijn. Datgene, waardoor foto's van verschillende stoffen zich van elkaar kunnen onderscheiden, zal natuurlijk de grotere of kleinere diameter en de meerdere of mindere zwarting der ringen zijn. De diameter der ringen wordt beheerst door de afstanden der atomen in het kristal en de zwarting door het atoomgewicht, dus de aard dezer atomen. Daar in 't algemeen in iedere chemische verbinding de aard der atomen en in elk geval de rangschikking (isomeren) ervan weer een andere is, zal een bepaalde chemische verbinding ook ringen van een bepaalde diameter en zwarting en dus een karakteristieke poederfoto geven. Een röntgenbuigingsfoto van een kristalpoeder (naar de ontdekkers, Debye-Scherrerfoto genoemd) is dus karakteristiek voor een verbinding in zijn kristallijne vorm m.a.w. een vaste stof kan aan zijn Debye-Scherrerfoto worden herkend. Men kan dus een onbekende stof identificeren door op de foto ervan de diameter en de zwarting der ringen te bepalen en deze te vergelijken met dezelfde gegevens van foto's van bekende stoffen. Het is zelfs mogelijk, onbekende stoffen te determineren op deze manier. In Amerika is daartoe een practisch systeem ontwikkeld, dat de foto's van stoffen, waarvan de gegevens bekend zijn, op een eenvoudige manier classificeert. Men zoekt n.l. van een Debye-Scherrerfoto de drie het sterkst gezwarte ringen op en meet daarvan de diameter.³⁾ Deze komt overeen met bepaalde afstanden tussen de atomen, welke gemakkelijk te berekenen zijn. Er wordt nu een kaart geschreven, waarop alle ringen van de foto met hun zwarting en hun corresponderende atoomafstand voorkomen en men rangschikt deze kaarten in een systeem naar de afstand van de „sterkste ring". Een groep kaarten met dezelfde sterkste lijn wordt weer gerangschikt naar de afstand van de tweede sterkste ring en groepen met eenzelfde eerste en tweede lijn naar de derde.

Wil men nu met behulp van dit systeem een onbekende vaste stof determineren, dan wordt deze tot poeder gewreven en van dit poeder een röntgenbuigingsfoto gemaakt. Men meet de ringen op de foto en zoekt de kaart uit het systeem met dezelfde drie sterkste ringen. Blijkt de rest van de ringen op de foto ook nog met die op de kaart overeen te komen, dan heeft men met zekerheid aangetoond, dat de onbekende stof dezelfde is als die, waarvoor de kaart is geschreven en heeft men dus de stof gedetermineerd. Het belangrijkste voordeel van deze

³⁾ Om zoveel mogelijk ringen te registreren neemt men in plaats van een vlakke plaat een film, die het poeder cilindrisch omgeeft (fig. 4).

methode is, dat men slechts enkele milligrammen van de te onderzoeken substantie nodig heeft en dat deze daarbij niet verloren gaat. Het poeder kan nadat de foto is gemaakt, in zijn oorspronkelijke staat worden teruggewonnen, terwijl het bij een chemische analyse door oplossen, verbranden e.d. verloren gaat. Deze manier van „röntgenografische chemische analyse” heeft speciaal voor anorganische verbindingen zeer grote waarde en wordt dan ook in het fabriekslaboratorium b.v. steeds meer toegepast.

Toepassingen van de methode.

We willen hier verder alleen wijzen op de mogelijkheden, die deze methode van röntgenonderzoek aan de geneeskunde en tandheelkunde biedt, waar men dikwijls voor het probleem komt te staan, de identiteit te moeten bepalen van een kleine hoeveelheid ergens in het lichaam voorkomende vaste stof.

Het menselijk lichaam bestaat wel voor het grootste deel uit sterk waterhoudende, slappe weefsels, die in hoofdzaak uit organische verbindingen zijn opgebouwd, maar er komen toch ook harde, stevige bestanddelen voor, zoals beenderen en tanden, die uit kristallijn anorganisch materiaal zijn samengesteld. Naast de normaal in het lichaam voorkomende kristallijne stoffen, treden er bij pathologische toestanden soms kristallijne stoffen op in de vorm van verkalkingen en stenen. Er doen zich verkalkingen voor b.v. van slagaders, van de ooglens, van tuberculeuze haarden en van kraakbeen, er komen b.v. nier- en blaasstenen, galstenen en speekselstenen voor en er kunnen zich b.v. jichtknobbels vormen, alle bestaande uit gekristalliseerde verbindingen. De kristalletjes kunnen soms een submicroscopische grootte bezitten, zodat ze met het microscoop niet als zodanig kunnen worden herkend, maar voor de röntgenpoedermethode maakt dit geen verschil; men wrijft immers ook de grotere kristallen tot een fijn poeder! Speciaal bij de kristallijne stoffen, die van buitenaf in het lichaam geraken, is dit van belang. We denken hierbij natuurlijk niet aan het inslikken van voorwerpen of aan kogels, die op de gewone manier bij het „doorlichten” (röntgenshaduwfoto's) gemakkelijk kunnen worden ontdekt, maar aan kleine hoeveelheden uiterst fijn verdeeld stof in de longen (silicose), waarvan men door röntgenbuigingsfoto's volgens de poedermethode gemakkelijk de identiteit kan vaststellen. Ook vaste stoffen, die men evt. bij een vergiftigingsgeval in de maag zou vinden, kunnen volgens deze werkwijze worden geïdentificeerd.

Hieronder volgt een bespreking van enkele in dit verband belangrijke voorbeelden:

De beenderen van het gezonde skelet bestaan uit fosforzure kalk. Deze heeft echter niet de formule van het tertiaire calciumfosfaat $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, maar bevat nog een OH-groep en komt in samenstelling overeen met het mineraal hydroxylapatiet $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$. De röntgenpoederfoto's van dit materiaal zijn volkomen gelijk aan die van de beenderensubstantie (fig. 5), wat tevens bewijst, dat de beenderen

uit kleine kristalletjes zijn opgebouwd. Noch met het blote oog, noch met het microscoop zijn in de beenderenstructuur afzonderlijke kristalletjes waar te nemen, maar het röntgenbuigingsbeeld bewijst de regelmatige rangschikking der atomen in de submicroscopische hydroxylapatiet-kristalletjes der beenderen. Het enige verschil tussen de foto's van hydroxylapatiet en beenderen is, dat de laatste minder scherpe ringen vertonen, juist als gevolg van de kleine afmetingen der kristallieten (ongeveer 0.1μ). Verhit men de beenderen op b.v. 500 C° dan worden deze groter (rekristallisatie) en de ringen op de foto scherper. De bewering van *Dallemagne* en *Brasseur*, dat hierbij carbonaatapatiet zou ontstaan in plaats van hydroxylapatiet, moet als ongegrond worden beschouwd.

Pathologische veranderingen in het beenderenstelsel blijken nooit gepaard te gaan met een verandering van de kristalletjes. Niet alleen de chemische samenstelling, maar ook de afmetingen en de regelmatigheid der atomaire kristalbouw blijven dezelfde, want de foto's van „zieke” beenderen onderscheiden zich in geen enkel opzicht van die van gezonde.

Ook de harde delen van de tand bestaan uit hydroxylapatiet. ⁴⁾ Het glazuur, de hardste stof die in het lichaam voorkomt, bestaat voor 98 % uit hydroxylapatiet. De grootte der kristallieten is ongeveer 0.03μ . Ze zijn ongeveer even lang als breed en hoog, anders dan bij de beenderen, waar de kristalletjes in één bepaalde richting een grotere lengte bezitten. De dentine bevat eveneens als anorganische stof hydroxylapatiet, echter slechts voor 72 %. Hier zijn de kristallieten nog een factor 10 kleiner dan in het glazuur, terwijl ook de regelmatigheid van de opbouw minder perfect is.

Harde afzettingen in de mondholte als tandsteen of speekselstenen blijken eveneens uit hydroxylapatiet te bestaan.

Het is zeer merkwaardig, hoe gemakkelijk het menselijke ⁵⁾ lichaam hydroxylapatiet afscheidt. Terwijl men bij verkalkingen bijna altijd denkt aan koolzure kalk (calciumcarbonaat) worden in ons lichaam bijna uitsluitend verkalkingen gevonden, die uit fosforzure kalk (in de vorm van hydroxylapatiet) bestaan. *Brandenberger* en *Schinz* ⁶⁾, vonden bij de volgende verkalkingen alleen maar hydroxylapatiet: ⁷⁾ lymfeklieren, een verkalkte oog lens, een verkalkte aorta, aderen, speekselstenen, prostaatstenen, urinezand, een steen uit chronische bursitis, een steen uit een tuberculeuze longtophaard, verkalkt ribkraakbeen, een osteoëen sarkoom, een verkalkte placenta. De grootte der kristallieten varieerde sterk bij deze verkalkingen: nu eens waren microscopisch afzonderlijke kristalletjes waar te nemen, dan weer waren ze nog kleiner dan in de beenderen.

⁴⁾ l.c. fig. 3.

⁵⁾ Algemeen: het lichaam der gewervelde dieren.

⁶⁾ *E. Brandenberger* en *H. Schinz*: *Bull. Schw. Ak. Med.* 3 (1948) p. 262.

⁷⁾ Calciumcarbonaat vonden ze slechts bij pancreasstenen en bij één galsteen.

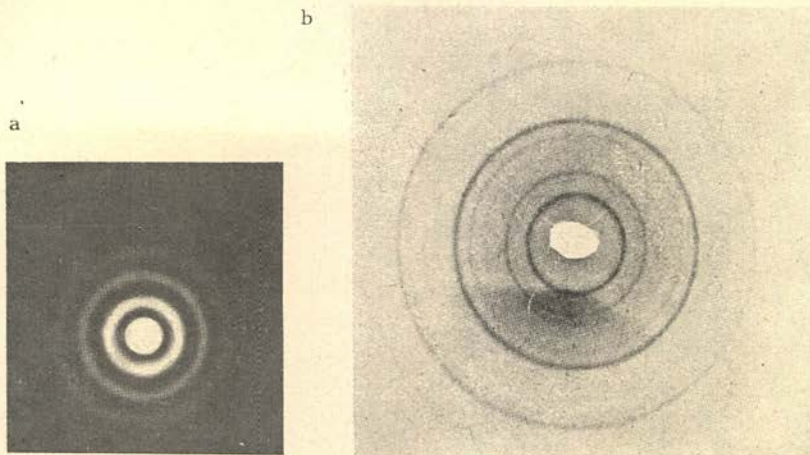


Fig. 1a. Buiging van lichtstralen door een klein rond gaatje.
 Fig. 1b. Buiging van röntgenstralen door een kristalpoeder.

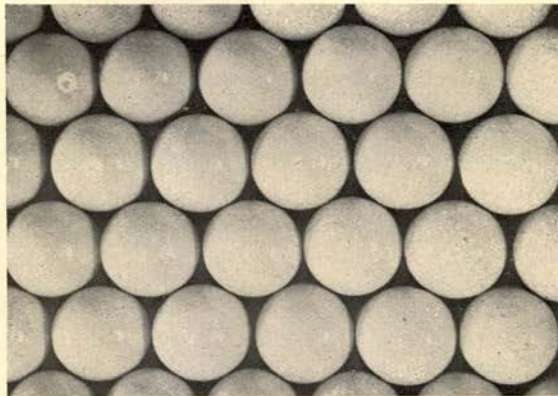


Fig. 2a. Dichte pakking van houten bollen.

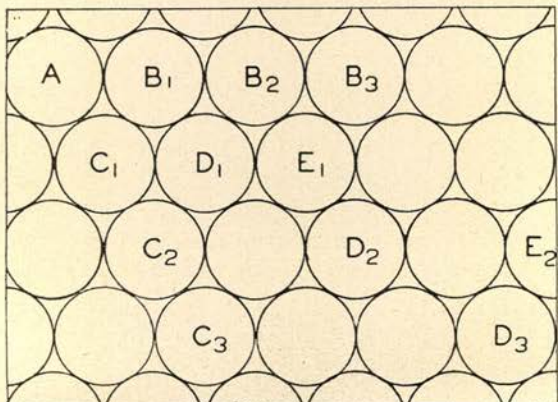


Fig. 2b. De bollen $AB_1B_2B_3$; $AC_1C_2C_3$; $AD_1D_2D_3$; AE_1E_2
 liggen op rechte rijen op gelijke afstanden van elkaar

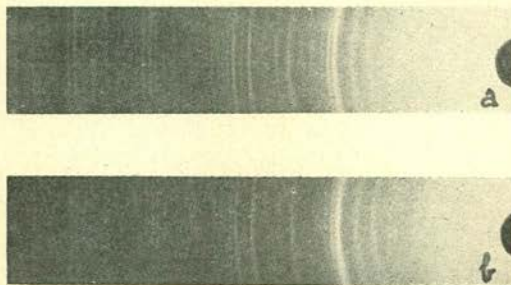
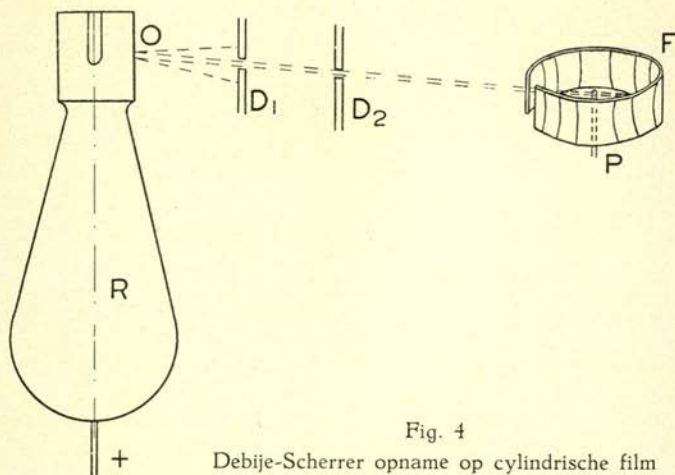
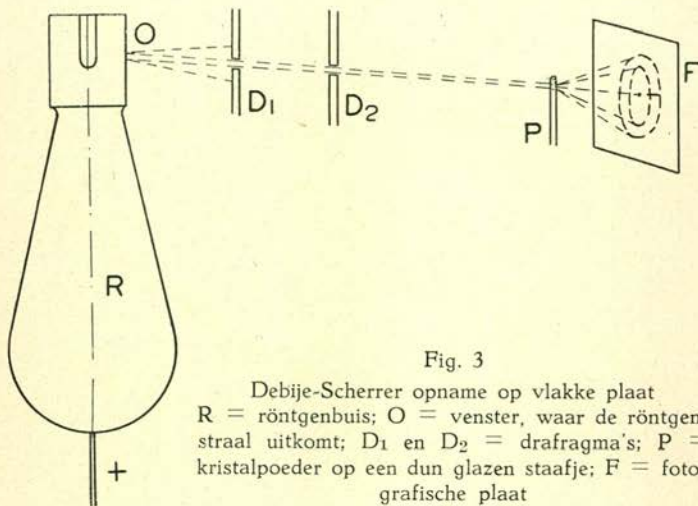


Fig. 5. a. D.S. opname van hydroxylapatiet; b. D.S. opname van gegloeide beenderen

Interessante kristallijne objecten zijn de gehoorsteentjes (otolietten). Zij bestaan niet uit calciumfosfaat, maar uit calciumcarbonaat. Deze verbinding komt in twee verschillende kristalvormen voor, calciet en aragoniet, die zich niet van elkaar onderscheiden door de chemische samenstelling, maar slechts door de rangschikking der atomen in het kristal. Deze verschillende rangschikking der atomen komt natuurlijk niet tot uiting bij een chemische analyse, maar demonstreert zich onmiddellijk in de röntgenbuigingsfoto's. Bij de mens nu bestaan de otolietten uit calciet, bij de kikvors uit aragoniet, bij de kip vindt men weer calciet, bij de snoek daarentegen aragoniet.

De kalkafzetting der ongewervelde dieren zijn bijna altijd calciumcarbonaat en hier is ook de afwisseling van calciet en aragoniet zeer merkwaardig. Het slakkenhuis van de wijngaardslak b.v. bestaat uit aragoniet, het winterdeksel uit calciet, de „liefdespijl” uit aragoniet en de eierschaal weer uit calciet, ofschoon alles zich microscopisch als amorfe kalk voordoet. De gewervelde dieren kunnen in 't algemeen alleen maar hydroxylapatiet vormen en slechts op enkele speciale plaatsen calciumcarbonaat, dat typisch is voor de verkalkingen van ongewervelde dieren.

Interessante objecten zijn de nier- en blaasstenen, doordat hier een vrij grote variatie in samenstelling optreedt. Behalve het hydroxylapatiet wordt hier voornamelijk gevonden urinezuur, maar ook wel magnesiumammoniumfosfaat ($Mg NH_4 PO_4 \cdot 6H_2O$, het mineraal struviet) en calciumoxalaat, terwijl in enkele gevallen nog andere stoffen zijn gevonden.

Als voorbeeld van de identificatie van een jichtknobbel als het zure natriumzout van urinezuur, geven we het volgende tabelletje. ⁸⁾ R is de uit de diameter der ringen berekende afstand der atomen in het kristal, Z de zwarting der ringen, de het sterkst gezwarte ringen krijgen het cijfer 5, de zwakste 1.

jichtknobbel		mononatriumuraat	
R	Z	R	Z
4.66	3	4.66	3
4.16	2½	4.16	3
3.77	2	3.77	2½
3.48	2½	3.49	3
3.14	4	3.13	5
3.01	1	3.02	2
2.88	1	2.87	2½
2.66	2½	2.66	3
	enz.		enz.

Men is er hierbij van uitgegaan, dat de jichtknobbel wel eens mononatriumuraat zou kunnen zijn en heeft ook van deze stof een poeder-

⁸⁾ E. Brandenberger, F. de Quervain en H. R. Schinz: Schweiz. Med. W. 77 (1947) 642.

foto gemaakt. Vervolgens zijn beide foto's uitgemeten. Het is duidelijk, dat deze identiek zijn, het verschil in zwarting ontstaat doordat de verbinding in de jichtknobbel met allerlei stoffen vermengd is.

Als voorbeeld van het onderzoek van een kristallijne stof, die van buiten af in het lichaam is geraakt, willen we tenslotte nog de silicose behandelen. Bij deze z.g.n. steenhouwersziekte dringt zeer fijn steenstof de longen binnen en het is vaak voor verzekeringskwesties van belang te kunnen aantonen, dat zich bij overlijden inderdaad mineraal stof in de longen bevindt. Meestal zijn deze hoeveelheden zo klein, dat een chemische analyse onuitvoerbaar is en in dit geval geeft de röntgenbuigingsfoto van de resten van het veraste weefsel de enige identificatiemogelijkheid. Van bijzonder belang hierbij is nog, dat de röntgenfoto niet alleen de chemische samenstelling van het stof verraadt, maar ook de kristalsoort. Zo komt het kiezel-dioxyde (SiO_2 , vaak kiezelzuur genoemd) voor in verschillende vormen n.l. als chystaliet, tridymiet en kwarts en het blijkt juist de kwarts te zijn, die het gevaarlijkste is als verwekker van silicose. A. v. Albertini, E. Brandenberger en J. R. Rüttner⁹⁾ vonden juist kwarts op de plaatsen, waar het silicotische proces nog actief is. In silicotische knobbeltjes uit oudere stadia in long en pleura konden zij geen kwarts vinden, wel hydroxylapatiet: in hiluslymphekliertjes konden ze duidelijk kwarts aantonen door middel van röntgenbuigingsfoto's van de veraste weefsels, terwijl zij in de abdominale lympheklieren zeer veel kwarts aantreffen. Het is echter waarschijnlijk, dat in de oudere stadia het kwarts door zooveel kalk (hydroxylapatiet) omgeven is, dat het niet meer kan worden aangetoond door een röntgenfoto. Wordt de as n.l. met salpeterzuur behandeld en de kalk opgelost, dan blijkt de rest soms toch uit kwarts te bestaan.

Naast kwarts kon ook nog het stof van glimmer, veldspaat, magnetiet (Fe_3O_4) en haematiet (Fe_2O_3) met zekerheid in silicotische longen worden geïdentificeerd. Vooral in deze laatste gevallen is de weg van de „röntgenografische chemische analyse” vaak de enige, die snel tot een ondubbelzinnige definiëring der stofsoort voert.

SUMMARY

A brief survey has been given of the simplest principles of crystal structure and X-ray diffraction. The Debye-Scherrer technique has been treated into some details in connection with the identification of small amounts of inorganic crystalline material. Attention has been drawn to the applications of this „X-ray crystallochemical analysis” in the medical and dental field and a number of examples has been given, e.g. the investigation of bone, teeth, calcifications in tissues, stones in organs, otolites and silicotic lungs.

⁹⁾ A. v. Albertini, E. Brandenberger en J. R. Rüttner: Z. Unfall med. und Berufskr. 39 (1946) no. 4.