

Twee moderne methoden van histologisch onderzoek. II. Radioactieve isotopen

door Dr. M. T. Jansen

Een goede tien jaar geleden behoorden de radioactieve isotopen nog practisch geheel tot het domein van de physicus, slechts een enkele vooruitziende bioloog deed het toen mogelijke met de geringe hem ten dienste staande middelen. De sindsdien opgetreden verandering heeft aan de biologie een heel nieuw onderzoeksterrein met eigen beloften (en grenzen) toegevoegd en ook de histologie is zich op haar gebied van de veelbelovende techniek van het onderzoek met isotopen gaan bedienen.

Waaraan is deze opgang te danken? Eensdeels aan het feit, dat de techniek (mede om buiten de wetenschap gelegen redenen!) zich zeer intensief met atoomkernproblemen is gaan bemoeien en ons radioactieve isotopen verschafte, in redelijke hoeveelheden en verscheidenheid, mét de middelen deze stoffen op de voet te volgen, anderdeels aan de steeds toenemende behoefte van de biologie meer nadruk te leggen op het dynamische aspect van het levensproces. De dynamica van de stofwisselingsprocessen ontgaat ons echter zolang wij niet in staat zijn de bij deze processen betrokken stoffen in heel hun doen en laten te observeren. Daartoe nu bieden de radioactieve isotopen, zoals blijken zal, een tevoren ongekende gelegenheid. Wij zullen het gebruik van de isotopen toelichten na een overzicht gegeven te hebben van de hiervoor belangrijke eigenschappen van deze stoffen.

Men kan de bouw van een atoom voorstellen door het beeld van de atoomkern omcirkeld door een aantal electronen. In de atoomkern zetelt de hoofdmassa van de stof, het atoomgewicht. De chemische eigenschappen van het element worden evenwel niet bepaald door de kern, doch door de configuratie van de deze kern omgevende electronen. Bij een bepaalde constellatie van deze electronen hoort een bepaald stel chemische eigenschappen. Vóór men dit wist had men reeds de elementen op grond van hun chemische eigenschappen ingedeeld in een schema, het periodieke systeem. (Periodiek, omdat zekere chemische eigenschappen in dit schema op gezette afstanden weerkeren). Naarmate nu de inzichten over de bouw van de electronen-„schillen” buiten de atoomkernen vorderden, kon men allengs vaststellen, dat het periodieke systeem evengoed kon gelden als een systeem van electronenconfiguraties en dat elke configuratie een eigen welomschreven en vaste plaats in dat systeem had. Met de bouw van de atoomkern zelf heeft dit systeem niets te maken, de kernstructuur openbaart zich niet in de chemische eigenschappen van de stof. Althans niet direct. Indirect zeker en wel op de volgende wijze: Een electron is een electrisch negatief geladen deeltje dat zich slechts zolang in vaste banen om de atoomkern blijft bewegen als deze kern een overeenkomstige

positieve lading bezit. Waar voor ieder electron buiten de kern een positieve eenheid van lading in de kern vereist wordt, bepaalt de kernlading het totaal aantal electronen. Daar bij elk electronenaantal een bepaalde *configuratie* behoort heeft de atoomkern dus langs de omweg van de positieve kernlading wel invloed op de chemische eigenschappen van de stof. De atoomkern bepaalt dus door zijn massa het atoomgewicht van de stof en door zijn lading indirect de chemische eigenschappen. Men kan nu de elementen nummeren naar het aantal electronen buiten de kern (of wat dus op het zelfde neerkomt, naar het aantal eenheden positieve kernladingen) en krijgt dan een zinvolle nummering van de plaatsen in het schema van het periodieke systeem.

Een element met een zeker atoomnummer hoort op een zeer bepaalde plaats in dat systeem en de chemische identiteit van een element ligt evenzeer vast in het atoomnummer als in de plaats in het periodieke systeem. Tot op zekere hoogte gaan nu atoomgewicht en atoomnummer parallel, doch slechts in zoverre, dat hoge atoomnummers gewoonlijk samengaan met hoge atoomgewichten. Een eenvoudige en absolute correlatie is er niet. Dit hangt samen met het feit, dat de kern niet alleen is opgebouwd uit elementaire deeltjes met eenheidsmassa en eenheidslading doch ook nog uit andere geladen en ongeladen deeltjes.

Het is nu mogelijk, dat twee atoomkernen verschillende aantallen van deze componenten bevatten zo, dat de resulterende positieve ladingen gelijk zijn doch de kernmassa's verschillend. Deze kernen zullen zich omhullen met gelijke electronenconfiguraties (immers hun positieve ladingen zijn gelijk) en dus chemisch identieke atomen vormen. Niettemin zijn de gewichten van deze atomen verschillend: wij hebben hier te maken met twee atoomsoorten, verschillend in atoomgewicht, doch van gelijke chemische eigenschappen, behorend op *dezelfde plaats* in het periodieke systeem: met *isotopen* (isos (Grieks) = gelijk; topos (Grieks) = plaats). Men duidt zulke atoomsoorten aan met het symbool van het (chemische) element en voegt in kleine cijfers toe het atoomnummer (onderaan) en het atoomgewicht (bovenaan). Zo is koolstof ${}_6\text{C}^{14}$ een isotoop van ${}_6\text{C}^{12}$. Heel vaak ook laat men het atoomnummer weg omdat dit al volgt uit het chemische symbool: C^{14} en C^{12} .

De isotopen kunnen niet alle over één kam geschoren worden. Er zijn stabiele isotopen, die naast elkaar in de natuur aangetroffen worden en slechts door verfijnde methoden op grond van het verschil in atoomgewicht gescheiden kunnen worden. Andere isotopen zijn in het geheel niet stabiel. De atoomkernen van deze isotopen is geen lang leven beschoren: vroeger of later vindt in deze kernen een catastrofe plaats, die o.a. leidt tot een hoogst belangrijk gebeuren: de uitzending van (corpusculaire of electromagnetische) straling. Zulke isotopen noemt men radioactief. De atomen van radioactieve isotopen gedragen zich dus chemisch als de normale atomen van het betreffende element tot op het moment van de catastrofe in de atoomkern. Na de catastrofe is een andere kern ontstaan met andere lading en dus andere electronenconfiguratie: een ander element. De gemiddelde levensduur van radioactieve atomen kan, afhankelijk van de soort, een fractie van een

seconde tot duizenden jaren bedragen. Van veel gebruikelijke elementen zijn isotopen bekend waarvan de helft al na enige uren of dagen verdwenen is.

Geen wonder, dat men deze isotopen pas goed heeft leren kennen toen het mogelijk was in cyclotrons en uraniumzuilen steeds weer nieuwe hoeveelheden ervan te bereiden.

Essentieel is dus van de atomen van een radioactieve isotoop, dat zij chemisch niet te onderscheiden zijn van de „gewone” atomen van het chemische element totdat zij vroeger of later onder uitzending van straling desintegreren. Die straling nu is van beslissende betekenis voor de biologische toepassing van deze stoffen omdat wij ervoor zeer gevoelige ontvangers bezitten. Wanneer wij dus in de darm van een dier radioactieve calcium brengen en met onze detector na een half uur straling constateren in de beenderen of in de dentine is het bewijs geleverd dat de resorptie en het transport van het calcium in die tijd kan plaats vinden. Vroeger kon men slechts zelfs met de grootste inspanning een nog maar zeer ongewisse indruk krijgen over deze en dergelijke ogenschijnlijk zo simpele vragen!

De door de desintegratie van radioactieve atoomkernen vrijkomende straling kan worden aangetoond en gemeten door twee methoden, die elk hun voor en tegen hebben. De elektrische methode biedt als groot voordeel de mogelijkheid tot werkelijk meten van het aantal radioactieve atomen in een monster doch leent zich veel minder tot het scherp localiseren van kleine ophopingen van radioactieve stoffen. De photographische techniek is minder geschikt voor quantitatief werk maar juist aangewezen voor gevallen, waarin men de radioactieve stoffen zo nauwkeurig mogelijk wil localiseren in weefsels.

Bijna al het histologische werk met radioactieve isotopen is dan ook uitgevoerd met de photographische emulsie als detector. De gang van zaken kan het beste aan de hand van een voorbeeld toegelicht worden. Uit dit voorbeeld (ontleend aan de practijk van een Amerikaans onderzoek¹⁾ zal ook blijken wat voordelen (en grenzen) van de methode zijn.

Men veronderstelt, dat ureum iets met caries prophylaxe te maken heeft. In het kader van een onderzoek hiernaar is het wenselijk te weten of en hoever ureum vanuit de mondholte in het glazuur kan doordringen.

Vroeger zou men voor de beantwoording van deze vraag uit twee noodoplossingen hebben kunnen kiezen: of wel de proeven doen met een duidelijk zichtbare stof, zodat men op slijppraeparaten kon zien hoever deze stof binnendringt (nadeel: deze zichtbare stof is geen ureum en de resultaten met deze stof mogen niet zonder meer op ureum worden overgedragen); of wel na de applicatie van ureum op de glazuurkap het glazuur in lagen afslijpen en in de laagsgewijze gescheiden slijppoedermonsters ureum chemisch bepalen (nadeel: de localisatie is

¹⁾ W. W. Wainwright and F. A. Lemoine. Rapid diffuse penetration of intact enamel and dentin by carbon¹⁴-labeled urea. I.A.D.A. 41; 135 (1950).

zeer ruw en als glazuur van huis uit al enig ureum bevat, wordt een en ander al heel bezwaarlijk).

Nu men over radioactieve isotopen beschikt kan dit soort proeven echter veel eleganter uitgevoerd worden. Hiertoe bereidt men radioactief ureum door bij de synthese van deze chemische verbinding radioactieve koolstof C^{14} te gebruiken. Een geringe hoeveelheid van dit radioactieve ureum wordt nu gemengd met gewoon ureum en het mengsel geapliceerd op tanden. Na enige tijd worden van de tanden slijppreparaten gemaakt en deze in het donker op een photographische plaat of film gelegd. Indien in het glazuur ureum is doorgedrongen zal zeker ook een aantal radioactieve ureummoleculen zijn meegegaan (deze moleculen zijn immers chemisch geheel identiek aan de „gewone”). Van de radioactieve koolstofatomen in deze moleculen zullen echter telkens hier en daar kernen desintegreren onder uitstraling van energie in de vorm van verschillende soorten straling. De photographische plaat is voor deze stralen gevoelig en wanneer de C^{14} -concentratie groot genoeg is en de expositietijd voldoende lang zal op de photographische plaat een patroon van zwarte stipjes ontstaan dat overeenkomt met de verdeling van het ureum over het slijppreparaat (zie figuur 1.) Men noemt zo'n opname een autoradiographie. Daar de zwartheid van de photographische emulsie sterker is naarmate de stralingshoeveelheden groter, geeft deze methode niet alleen een indruk over de plaatsen in het glazuur (en de dentine) waar het ureum is doorgedrongen doch ook over de concentratie waarin het wordt aangetroffen. Deze methode verenigt dus de voordelen van beide oplossingen in zich en heeft niet de nadelen.

Toch heeft ook deze methode zijn beperkingen, die wij moeten kennen opdat wij niet ten onrechte van deze wijze van onderzoek een af-

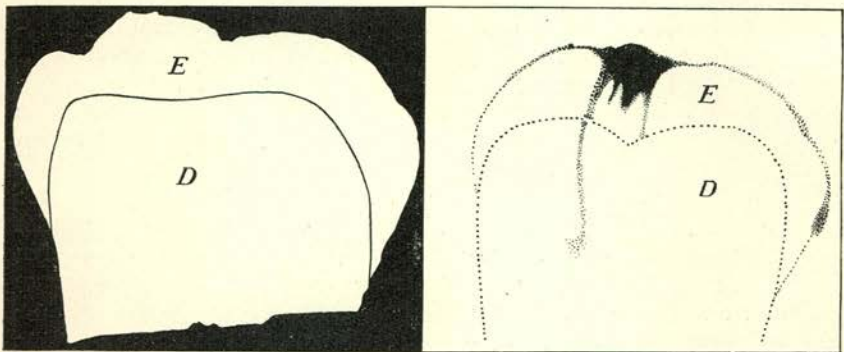


Fig. 1. Links een slijppreparaat van een molaar bij opvallend licht. E: glazuur, D: dentine. Rechts een autoradiographie van een dergelijk slijppreparaat, de (bijgetekende) stippellijn tussen D en E dient ter oriëntatie. Radioactief ureum over het oppervlak van de tand verdeeld en occlusaal binnengedrongen, op één plaats tot ver in de dentine. (Naar afbeeldingen in het op blz. 273 genoemde artikel van Wainwright en Lemoine).

doend antwoord verwachten op alle vragen, die door vroegere methodes niet tot een oplossing gebracht konden worden.

In de eerste plaats is de localisatie van de radioactieve stof niet zeer precies. Dit wordt duidelijk, wanneer wij het schema in figuur 2 bezien. Hierin is a een doorsnede door het slijppraeparaat en b die door de gevoelige photographische laag; c tenslotte is een doorsnede door de film of de plaat. De radioactieve straling, afkomstig uit een deel P van a kan elke denkbare richting hebben. De film registreert slechts de er op vallende stralen en zal op den duur onder P doch ook in een steeds vager wordende hof om dit veld heen gezwart worden. Strooiing van de straling in slijppraeparaat, emulsie en film versterkt dit effect nog. Het gevolg is een relatief onscherpe weergave van de veronderstelde circumscripte ophoping van radioactieve stof in P. Het oplossend vermogen van de methode is hierdoor niet zo groot als we bij voorbeeld gewend zijn van onze microscopen. In het onderhavige geval is er dan ook geen sprake

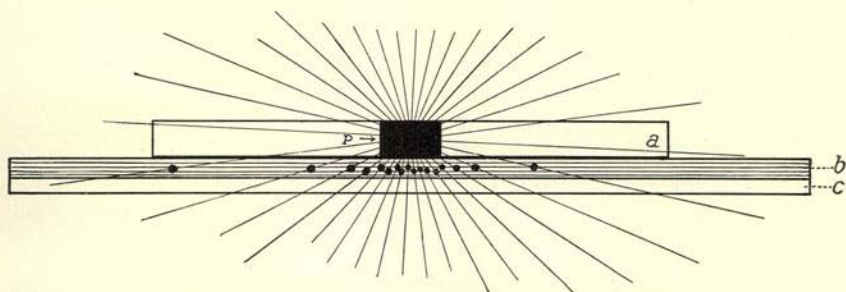


Fig. 2. Schema ter verduidelijking van de aan een autoradiographie inhaerente onscherpte. a: slijppraeparaat met P: radioactief deel hiervan; b: photographische emulsie waarin een ongeveer met de uitbreiding van P overeenkomende zwarte vlek ontstaat; c: onderlaag van de emulsie (film of plaat).

van dat wij in staat zijn uit te maken of de radioactieve ureum zich bevindt in de prismascheden of in de prisma's of de interprismatische stof.

Een ander, veel ernstiger, bezwaar vindt zijn grond in het feit, dat niet het hele ureummolecuul radioactief is doch slechts één bouwsteen eruit, een koolstofatoom. Het is namelijk niet uitgesloten, dat vele van de in ons voorbeeld geapliceerde ureummoleculen nog vóór het binnendringen in de tand ontleed worden en dat wij dus niet het binnendringen volgen van ureummoleculen doch van ontledingsproducten die de radioactieve koolstofatomen hebben behouden. Dat dit bezwaar, met nog een enkel niet genoemd nadeel, maant tot voorzichtigheid bij de interpretatie van de proefresultaten, vooral wanneer quantitative onderzoeken worden verricht, spreekt wel vanzelf.

Doch dergelijke restricties zijn inhaerent aan letterlijk alle experimenten op welk terrein en met welke middelen ook.

Bij het onderzoek met het electronenmicroscop is het het vacuum, dat ons het waarnemen van het levende weefsel bij zeer sterk oplossend

vermogen belet; de radioactieve isotopen bieden ons de mogelijkheid het lichaam zeer „natuurlijke” en toch herkenbare stoffen aan te bieden, maar dan moeten wij ons tevreden stellen met betrekkelijk geringe localisatiemogelijkheden en met andere niet te omzeilen onzekerheden.