

УДК 533.9.082.5; 621.373.826; 621.793.79

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МОРФОСТРУКТУРНОГО АНАЛИЗА И ЛАЗЕРНОЙ АТОМНО-ЭМИССИОННОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ РАКА ПРОСТАТЫ

Г.Т. МАСЛОВА, М.А. СЕРГЕЙ, Ж.И. БУЛОЙЧИК, А.П. ЗАЖОГИН,
М.П. ПАТАПОВИЧ, А.С. МАВРИЧЕВ, Л.А. ДЕРЖАВЕЦ

*Белорусский государственный университет
пр. Независимости, 4, Минск, 220030, Беларусь*

Поступила в редакцию 13 октября 2016

Исследована морфология высохшей плазмы крови больных с онкопатологией. Выявлены структурные особенности высохших капель плазмы крови пациентов с диагнозом рак простаты. Получены полуколичественные результаты пространственного распределения кальция по поверхности высохшей капли биологических жидкостей и в слоях с использованием метода лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии. Метод лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии дает возможность количественно оценить изменения в белковых центрах. Показана возможность уточнения диагноза по отнесению опухоли к типу T₂ или к T₃ или T₄. Полученные экспериментальные данные могут быть основой для разработки методологии ранней диагностики.

Ключевые слова: биологическая жидкость, морфология капли, лазерная атомно-эмиссионная спектроскопия, пространственное распределение.

Введение

В настоящей статье приведены результаты диагностической оценки такого онкологического заболевания, как рак предстательной железы (РПЖ). Рак простаты одно из наиболее распространенных онкологических заболеваний, которое является основной причиной смерти примерно 30 % мужчин в развитых странах [1–3]. Это объясняется тем, что на ранних стадиях развития болезни нет явных признаков заболевания и пациенты своевременно не получают лечение. При ранней диагностике выживаемость пациентов с таким диагнозом практически равна 100% [2–4].

В настоящее время неизвестно ни одного онкомаркера (ОМ), соответствующего идеальным параметрам, хотя в клинической практике используют около двух десятков ОМ, обладающих достаточной диагностической значимостью [2–4]. Составить представление о течении процесса лишь по одному маркеру практически невозможно. Поэтому и в настоящее время важен комплексный подход в диагностических исследованиях.

К моделирующим элементам, которые обеспечивают комплексообразование, присутствуют во всех биотопах организма человека и представляют совокупность мономерных и полимерных форм солей, в первую очередь относится кальций. Авторами проведены комплексные исследования плазмы крови пациентов с РПЖ, включающие как изучение морфологии структурирования высыхающей капли БЖ, так и пространственное распределение кальция поверхности и слоям высохшей капли.

Методика эксперимента

Каплю плазмы крови пациентов (10 мкл) наносили на обезжиренную пластинку из оргстекла и изучали динамику временно-структурных изменений высыхающей капли. Процесс сушки вели при комнатной температуре 18–20 °С. Диагностику капли проводили примерно с 40 минуты, когда начинается процесс структурирования, изменения в структуре фиксировали каждые 10 мин до полного высыхания капли.

Для получения снимков высыхающих и высохших капель использовали оптический микроскоп Webbers, совмещенный с цифровой камерой (отраженный свет), и микроскоп Биолам со светодиодной подсветкой (на пропускание) и веб-камерой. Оба микроскопа имеют видеонасадки, работающие с компьютером по USB-2 порту.

Результаты и обсуждение

Объектом исследования является плазма крови пациентов с различной стадией онкопатологии. Для иллюстрации полученных данных и сравнения результатов использовали плазму крови одного пациента с диагнозом $T_{2c} N_0 M_0$ (а), двух пациентов с диагнозом $T_3 N_0 M_0$ (б, в) и одного пациента с диагнозом $T_4 N_1 M_1$ (г). Общая картина морфологии высохшей капли (90 мин) плазмы крови пациентов после операции приведена в верхнем ряду рис. 1. Ниже приведены также фрагменты центральной части высохшей капли (увеличение 120 раз – на пропускание) до (Д) и после операции (П).

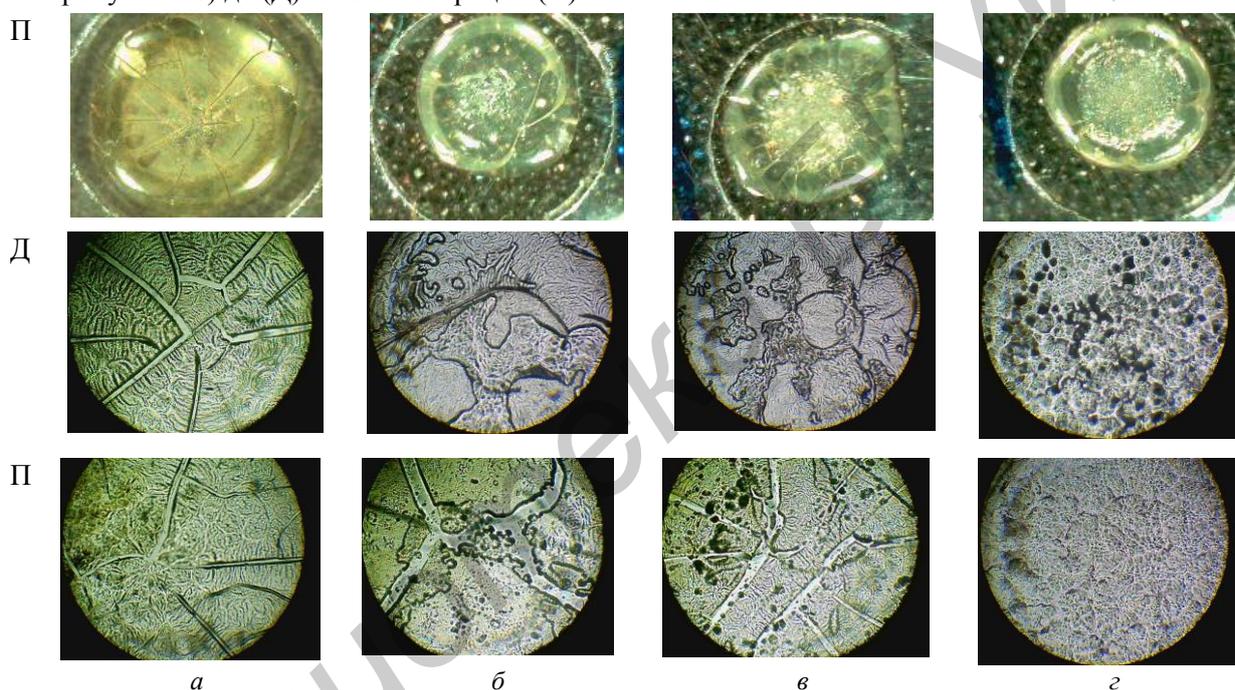


Рис. 1 Структура высохших капель плазмы крови пациентов до и после операции

Анализ полной структуры высохшей капли показывает, что для всех пациентов характерны изменения при фазовых переходах белков плазмы крови после высыхания капли. Во всех случаях капли при окончательном высыхании имеют четкий краевой белковый валик. Процесс структурирования и морфология высохших капель пациентов а, б и в более схожи между собой. Если в образцах структуры капель первых трех пациентов просматривается явное или в значительной мере обозначенное радиальное растрескивание, что характерно для здорового человека, то в образце плазмы крови пациента г имеются отличия. При рассмотрении фрагментов капли в увеличенном масштабе видно, что весь центр капли изрыт беспорядочно расположенными «бляшками», хаотичными неровностями белого и черного цвета. После проведения операции морфология высохших капель меняется (П). Картина заметно выравнивается, структура высохших капель плазмы крови первых трех пациентов становится более единообразной и упорядоченной. Присутствие меньшего количества хаотично расположенных дефектов свидетельствует о позитивных результатах лечения. В структуре высохшей капли плазмы крови пациента исчезли многочисленные темные локальные блоки, но капля испещрена бесконечным числом завитков, что ее заметно отличает от первых трех. Эти данные указывают на более серьезную стадию заболевания. Наряду с анализом морфоструктуры высохшей на твердой подложке капли плазмы крови пациентов с РПЖ авторами проведена оценка локального пространственного распределения кальция по поверхности и в слоях высохшей капли. Ранее

авторами была разработана методика полуколичественного определения кальция методом лазерной атомно-эмиссионной спектроскопии ЛАЭМС. Показано, что изменение морфологии высохшей капли при патологии приводит к изменению пространственного распределения ЖНЭ в высохшей капле БЖ [5]. Локальное пространственное распределение кальция изучено с использованием лазерного многоканального атомно-эмиссионного спектрометра LSS-1. Лазерное излучение фокусируется на образец с помощью ахроматического конденсора с фокусным расстоянием 100 мм. Размер пятна фокусировки примерно 50 мкм. Все эксперименты проводили в атмосфере воздуха при нормальном атмосферном давлении. Анализировали суммарные результаты действия 5 последовательных сдвоенных лазерных импульсов (СЛИ). Энергия лазерного излучения составляла 34 мДж (первый и второй импульсы, соответственно), временной интервал между сдвоенными импульсами – 8 мкс. Абляция осуществлялась через 0,6 мм. Размер точки повреждения примерно 0,10–0,15 мм. По диаметру пробы анализ проводили в 12 точках поверхности. Диаметр высохшей капли примерно 6 мм. На рис. 2 представлено распределение интенсивности линии Ca II (393,239 нм) в спектрах высушенных капель плазмы крови больных до операции по поверхности капли и послойно. В столбце справа – номер слоя в анализируемой точке по диаметру капли. Для сравнения приведено пространственное и послойное распределение кальция в высохшей капле плазмы крови здорового человека. Приведенные результаты оценки послойного распределения кальция в высохших каплях плазмы крови всех пациентов заметно отличается от данных, характерных для здорового человека. В случае нормы максимальная концентрация элемента приходится на поверхностный слой с повышенной концентрацией по краям капли, что свидетельствует о равномерном растекании высыхающей капли с образованием белкового валика. Кальций равномерно распределен по поверхности высохшей капли, он постепенно диффундирует к краям в процессе испарения жидкости, что и обеспечивает максимальную концентрацию его в белковом валике.

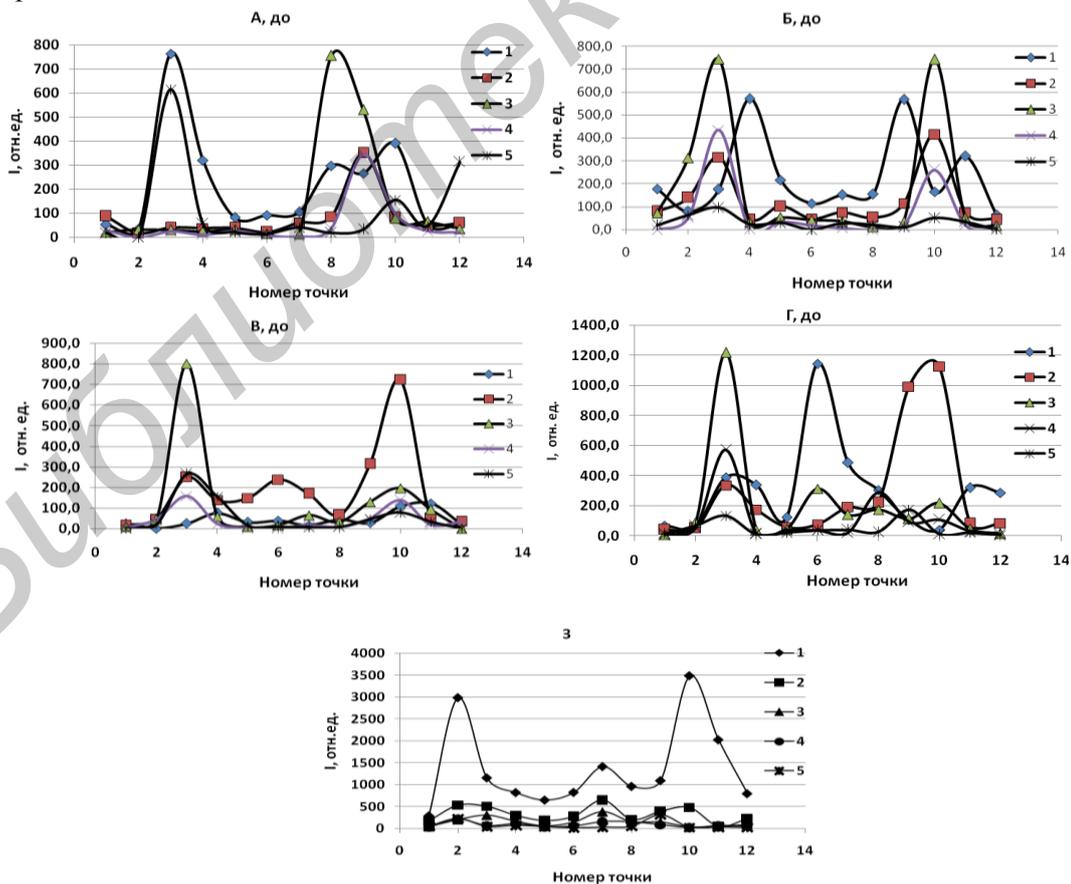


Рис. 2. Интенсивность линии Ca в атомно-эмиссионных спектрах высушенных капель плазмы крови пациентов до операции и здорового человека (3)

При патологии очевидно нарушение самоорганизации белка, центры коагуляции возникают стихийно и повышенное содержание кальция приходится не на поверхностный слой, как у здорового человека, а на внутренний второй и третий слои. Обнаруживается заметное повышение концентрации кальция даже в нижнем пятом слое. Следует также отметить, что у всех онкобольных до операции концентрация кальция ниже, чем у здорового человека. Из-за хаотичного образования центров коагуляции в высыхающих каплях БЖ пациентов происходит разброс концентрации элемента, что и сказывается на интенсивности полос. Полученные данные показывают, что основное отличие локального пространственного распределения кальция в высохшей капле плазмы крови пациентов с РПЖ в преморбидный период до лечения по сравнению со здоровым человеком состоит не только в неравномерном распределении кальция по поверхности капли, но и в увеличении его концентрации в более глубоких слоях. Для сравнения и оценки результатов лечения нами также проведено определение локального пространственного содержания кальция в высохших каплях плазмы крови пациентов после операции. Результаты приведены на рис. 3. Очевидно, что после операции распределение кальция в высохших каплях плазмы крови всех пациентов заметно меняется и приближается к картине, характерной для здорового человека. Это касается и поверхностного, и послойного распределения элемента. Максимальная интенсивность линии кальция, в частности, у больных А, Б, В приходится на два верхних слоя. Наиболее заметны изменения у пациентов А и Б. Произошло существенное выравнивание концентрации с абсолютно явным превалированием содержания кальция в краевом белковом валике, что определенно характеризует позитивный результат хирургического вмешательства. Что касается пациента Г (четвертая стадия заболевания), принципиальных положительных изменений практически не наблюдается. Кальций распределен практически по всей поверхности капли, повышенное его содержание остается во втором и третьем слоях, отсутствуют признаки, демонстрирующие упорядоченное структурирование БЖ.

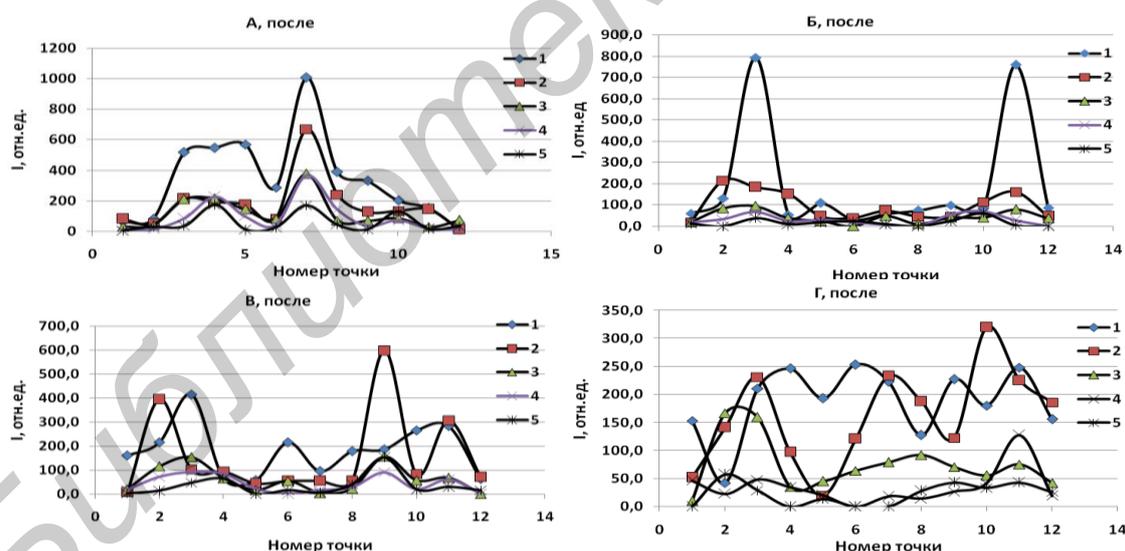


Рис. 3. Послойное распределение интенсивности линии Ca в высохших каплях плазмы крови пациентов после операции

Заключение

Полученные результаты показывают, что различия в величинах интенсивности определяемого макроэлемента как на поверхности, так и в слоях высохшей капли БЖ являются наглядным и достоверным источником информации, позволяющим оценить не только степень онкологического заболевания, но и результат проведенного лечения. Такие исследования с использованием метода ЛАЭМС для анализа высохшей капли БЖ могут быть выполнены при

появлении первых симптомов заболевания и являются новым комплексным подходом к профилактике и лечению рака простаты.

USING OF THE MORPHOSTRUCTURAL ANALYSIS AND LASER ATOMIC-EMISSION SPECTROMETRY FOR DIAGNOSTICATION OF PROSTATE CANCER

G.T. MASLOVA, M.A. SERGEY, J.I. BULOICHIK, A.P. ZAJOGIN, M.P. PATAPOVICH,
A.S. MAVRICHEV, L.A. DERZHAVETS

Abstract

The morphology of dried blood plasma from patients with oncopathology has been studied. The structural features characteristic for the dried drops of blood plasma from the patients with diagnosed carcinoma of the prostate have been revealed. Semiquantitative estimates of the spatial distribution of calcium over the surface of the dried drops of biological fluids have been obtained using laser atomic-emission spectrometry. Owing to the use of this method, one can have quantitative estimates of changes in the protein centers. The possibility for making more accurate diagnoses by means of attribution of the tumor to the types T2 and T3 or T4 is demonstrated. The obtained experimental results may form the basis for the development of early cancer diagnostic techniques.

Keywords: biological fluid, morphology drops, laser atomic emission spectrometry; spatial distribution.

Список литературы

1. Шабалин В.Н., Шатохина С.Н. Морфология биологических жидкостей человека. М., 2001.
2. Аляев Ю.Г., Безруков Е.А., Шестинеров П.А. // Онкоурология. 2006. № 2. С. 45–50.
3. Jemal A., Bray F., Center M.M. et al. // CA: A Cancer Journal for Clinicians. 2011. Vol. 61. № 2. P. 69–90.
4. Lokhov P.G., Trifonova O.P., Maslov D.L. et al. // European Journal of Cancer Prevention: the Official Journal of the European Cancer Prevention Organisation (ECP). 2013. Vol. 22. № 4. P. 335–341.
5. Булойчик Ж.И., Веремчук А.Н., Русско Т.А. et al. // Вестник БГУ. Серия 1. 2015. № 2. С. 24–30.

УДК 004.891.3

ЭКСПЕРТНАЯ СИСТЕМА КЛИНИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ОСТРОЙ ХИРУРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ

Е.М. ЛАШКЕВИЧ

*Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники
П. Бровки, 6, Минск, 220013, Беларусь*

Поступила в редакцию 11 ноября 2016

Приведены результаты разработки экспертной системы клинической диагностики острой хирургической патологии брюшной полости, основанной на искусственной нейронной сети. Рассмотрены математические аспекты проектирования архитектуры нейросети и алгоритма ее функционирования. Указаны особенности программной реализации экспертной системы.

Ключевые слова: экспертная система, искусственная нейронная сеть, клиническая диагностика, аппендицит, перитонит, гепатит.