

УДК 533.9.082.5; 543.423; 621.373.826

ОСОБЕННОСТИ МОРФОСТРУКТУРЫ И СПЕКТРОВ ИК ПОГЛОЩЕНИЯ ВЫСОХШИХ КАПЕЛЬ ПЛАЗМЫ КРОВИ БОЛЬНЫХ С ОПУХОЛЬЮ ГОЛОВНОГО МОЗГА

Г.Т. МАСЛОВА¹, Ж.И. БУЛОЙЧИК¹, А.П. ЗАЖОГИН¹,
А.С. МАВРИЧЕВ², Л.А. ДЕРЖАВЕЦ², А.С. ТРУБЕЦКАЯ¹, А.В. ТИТОВА¹

¹Белорусский государственный университет, Республика Беларусь

²Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии
им. Н.Н. Александровна, Республика Беларусь

Поступила в редакцию 31 октября 2018

Аннотация. Изучена морфология и спектры ИК поглощения высохших капель плазмы крови больных с опухолью головного мозга различной степени. Выявлены структурные особенности высохших капель. Оценены возможности использования структурообразования высохшей капли и спектров ИК поглощения в качестве дополнительной информации при постановке и уточнении диагноза. Разработанные методики позволяют контролировать назначенное лечение и уточнять динамику развития патологии.

Ключевые слова: плазма крови, биологическая жидкость, морфология капли, спектры ИК поглощения, опухоли головного мозга, астроцитомы, глиобластома.

Abstract. The morphology and IR absorption spectra of dried drops of the blood plasma from patients with brain tumors of different grades have been studied. The structural peculiarities of these drops have been revealed. The possibilities to use the structural features of dried drops and of their IR absorption spectra as a source of additional information facilitating correct diagnosis have been assessed. The developed methods enable to control the appointed treatment and to elucidate a dynamics of the developing pathology.

Keywords: blood plasma, biological fluids, drop morphology, IR absorption spectra, brain tumors, astrocytoma, glioblastoma.

Doklady BGUIR. 2018, Vol. 117, No. 7, pp. 25-29

The use of morphostructural analysis and IR spectrometry for diagnosis of the brain tumors

G.T. Maslova, J.I. Buloichik, A.P. Zajogin, A.S. Mavrichev,

L.A. Derzhavets, A.S. Trubetskaya, A.V. Titova

Введение

В последние годы обозначился заметный рост заболеваний центральной нервной системы (ЦНС), в том числе опухолей головного мозга (ОГМ). Применение высокотехнологичных хирургических методик, лучевой терапии и химиотерапии при лечении глиобластом (последняя стадия ОГМ) позволило увеличить продолжительность жизни больных. Тем не менее, эти сроки ограничиваются 12–15 месяцами, редко – 18 и более месяцами [1], что обосновывает поиск новых подходов к лечению злокачественных ОГМ.

Лечение любой патологии напрямую зависит от точности диагностики и контроля лечения, а в случае ОГМ особенно актуальна ранняя диагностика, поскольку этим заболеванием страдает преимущественно трудоспособная часть населения. Первичные опухоли ЦНС находятся на третьем месте по причинам смертности в возрасте от 15 до 35 лет и втором месте у детей до 15 лет [1].

В клинической практике используют около двух десятков онкомаркеров (ОМ), обладающих достаточной диагностической значимостью, в то же время неизвестно ни одного ОМ, соответствующего идеальным параметрам. Для получения однозначного результата требуется тщательное сравнение многочисленных показателей. Поэтому поиски всестороннего подхода к диагностике ОГМ продолжаются.

Известно, что биологическая жидкость (БЖ) играет роль функционального системообразующего фактора, связывая пространственно-временные структуры внутренней среды организма. Внутренняя среда организма реагирует на изменение пространственного порядка своих химических связей. В механизме патогенеза раковых новообразований главным звеном следует считать нарушение порядка самоорганизации белка на клеточном уровне. В работе [2] авторами проведен сравнительный анализ уровня нейроспецифических белков и показана возможность их использования в качестве дополнительного биохимического критерия поражения ГМ. Потенциальным возможностям инфракрасной спектроскопии для повышения качества диагностики также посвящено большое количество работ [3].

Ранее было показано, что изучение динамики структурирования БЖ и пространственного распределения жизненно необходимых элементов в высохшей капле плазмы крови дает возможность уточнять диагноз, контролировать лечение пациентов с онкопатологией [4]. С этой же целью авторами продолжены исследования структурирования высохшей капли плазмы крови пациентов с ОГМ, а также оценены возможности использования спектров ИК поглощения фаций плазмы крови для получения дополнительной информации.

Методика исследований

Для изучения морфологии высохшей капли плазму крови (10 мкл) наносили на обезжиренную пластинку из оргстекла, высушивали при комнатной температуре в открытой системе в течение 90–100 мин. Диаметр высохшей капли равен примерно 6 мм.

Снимки высохших капель плазмы крови регистрировали, используя оптический микроскоп Биолам со светодиодной подсветкой (на пропускание) и веб-камерой. Микроскоп имеет видеонасадку, работающую с компьютером по USB-2 порту.

Для получения спектров ИК поглощения фаций плазмы крови использовался Фурье-спектрометр Vertex 70 фирмы Bruker. Образцы плазмы крови в объеме 3 мкл наносили на подложку из стекла КРС-5 и высушивали в течение часа при комнатной температуре.

Результаты исследований и их обсуждение

Изучена морфология высохших капель плазмы крови более 40 пациентов с опухолью головного мозга различной степени и характером патологии. В качестве примера на рис. 1 приведена морфология центральной части высохшей через 90 мин капли плазмы крови некоторых пациентов с ОГМ (увеличение – 120 раз).

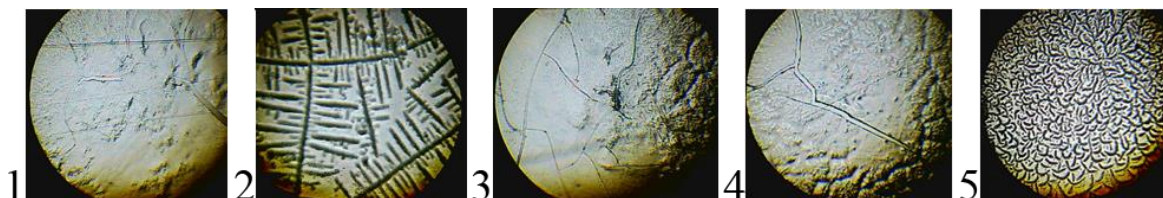


Рис. 1. Снимки центральная часть высохших капель плазмы крови

Диагноз пациентов 34 и 42 (1 и 2) – диффузная астроцитома, степень патологии – G II. Пациенты 14 и 24 (3 и 4) – глиобластома G IV. 5 – донор. Видно, что при патологических состояниях организма характерны существенные изменения морфологической структуры фации. Проявляются нарушения в виде потери симметрии расположения основных элементов фации (конкреций, отдельностей, морщин, трещин и т. д.) [5]. Идентифицируются различные типы фаций, кроме радиального нормотипа.

Объемной структурной деформации наименее всего подвержены высохшие капли плазмы крови донора и пациентов 1 и 2, поверхность которых относительно гладкая, но с аномальным расположением трещин. Согласно имеющейся классификации, для этих больных характерен частично-радиальный и иррадиальный тип фации [6]. Присутствуют трехлучевые трещины (маркер застойных явлений в организме), небольшие жгуты (признак гипоксии ГМ) и бляшки (интоксикация организма) [6].

Такие схожие признаки характерны для структуры остальных изученных авторами высохших капель плазмы крови пациентов с ОГМ. Исключительно у больных с глубокой патологией (пациенты 3, 4) обильно присутствуют в фации морщины (складчатость), хаотично разбросанные широкие жгутовые трещины, множество бляшек.

Для конкретизации патологии обследованных больных дополнительная информация получена при изучении спектров ИК поглощения плазмы крови. Исследования проводили в области спектра 4000–400 см^{-1} . Наиболее информативной областью является область 1200–950 см^{-1} [7, 8]. Эта область позволяет выявить весь спектр веществ, содержащих связи Р–О и С–О, простые и сложные эфирные связи С–ОО, Р–ОО, которые присутствуют в липидах, фосфорилированных белках, углеводах, креатинфосфокиназах (КФК) и других соединениях. На рис. 2 приведены спектры образцов плазмы крови пациентов и доноров (рис. 1).

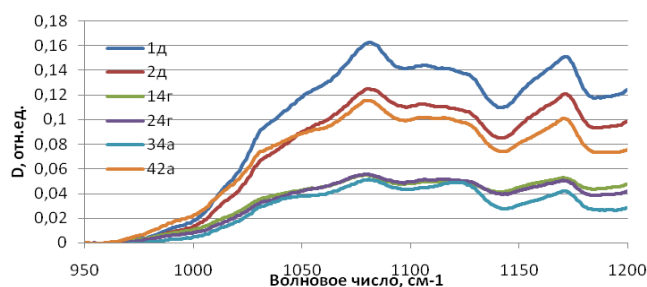


Рис. 2. Спектры ИК поглощения образцов плазмы крови в области 950–1200 см^{-1}

Для оценки возможности диагностики морфологических видов опухолей с различающейся степенью злокачественности с помощью ИК-спектроскопии использовали величины пиков полос поглощения в зависимости от гистологического характера опухоли. Для этого определяли высоту пиков полос поглощения с максимумами 1195, 1170, 1155, 1127, 1124, 1121, 1115, 1106, 1098, 1093, 1080 и 1045 см^{-1} . Для исключения ошибок при оценке результатов ИК-спектроскопических исследований в расчет принимали не абсолютные значения величин пиков полос поглощения, а их соотношение ($\text{см}^{-1}/\text{см}^{-1}$): 1 – 1170/1145, 2 – 1170/1080, 3 – 1170/1093, 4 – 1170/1098, 5 – 1170/1106, 6 – 1170/1115, 7 – 1170/1121, 8 – 1170/1124, 9 – 1170/1127, 10 – 1170/1157, 11 – 1170/1195.

Полученные средние отношения интенсивностей полос в спектрах анализируемых высушенных капель плазмы крови больных (7 человек с диагнозом – астроцитомы А, 6 человек – глиобластомы Г) и 2-х доноров (Д) приведены на рис. 3. Следует отметить, что как в контрольной группе (доноры), так и у всех пациентов наблюдается достаточно хорошее совпадение найденных соотношений интенсивности полос в ИК-спектрах. Наиболее значительные отклонения характерны и начинают заметно проявляться в соотношениях интенсивностей, начиная с 5-й точки по 10-ю.

Полученные нами результаты дифференцировки теоретически можно объяснить с позиции тканевой теории онкогенеза, согласно которой саморегулирующаяся система (гомеостаз) контролирует постоянство качественного и количественного состава клеток, обладающих потенциалом к независимому размножению [9, 10]. Согласно этой теории нарушение тканевого механизма контроля приводит к неконтролируемому делению клоногенных опухолевых стволовых клеток, обладающих активизированными онкогенами, что и проявляется при наличии начальной патологии и, особенно, при дальнейшей направленной онкодифференцировке. Это еще раз подчеркивает необходимость четкой дифференциации степени патологии и тщательного контроля происходящих процессов.

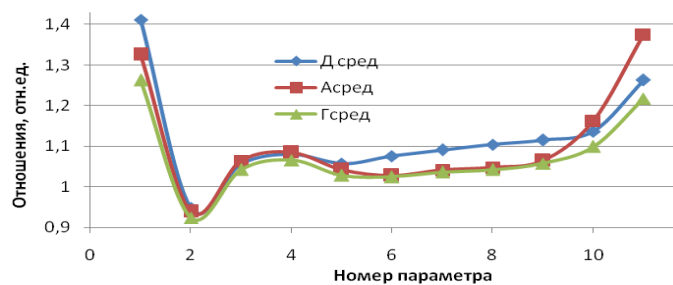


Рис. 3. Средние отношения интенсивностей полос в спектрах анализируемых высушенных капель плазмы крови больных

Заключение

Подводя итоги, следует отметить общие закономерности, полученные при изучении фации больных с ОГМ. Во-первых, у всех пациентов присутствует иррадиальный морфотип фации. Что касается пациентов, находящихся в критическом состоянии, то структурирование высохшей капли их плазмы крови характеризуется такой особенностью, как ярко выраженная морщинистость поверхности фации, наличие обильного числа бляшек и широких жгутовых трещин. Во-вторых, исследования ИК спектров расширяют возможности дифференцирования опухолевых состояний пациентов в зависимости от стадии заболевания.

Таким образом, выполненные исследования предлагают доступные оперативные методики оценки структурирования и получения дополнительного спектрометрического качественного материала анализируемой фации, что показывает возможность проведения постоянного мониторинга процессов, происходящих в организме. Полученная оперативная информация позволяет уточнить диагноз и скорректировать лечение. Всесторонняя аналитическая информация при обсуждении диагноза будет способствовать более глубокому пониманию характера протекания патологических процессов и более успешному лечению опухолей головного мозга.

Список литературы

1. Кобяков Г.Л., Смолин А.В. Онкология. Новые стратегии в лечении злокачественных глиом: краткий обзор научных публикаций ежегодного съезда общества нейроонкологов (SNO 2010) в Монреале // Фарматека (Онкология). 2011. № 7. С. 41–49.
2. Любимова Н. В., Тимофеев Ю. С., Кушлинский Н. Е.. Нейроспецифические белки в сыворотке крови у больных с опухолями головного мозга и неврологическими заболеваниями неопухолевой этиологии // Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях. 2016. № 3. С. 90–95.
3. Инфракрасная спектроскопия сыворотки крови в диагностике онкозаболеваний / Р.Н. Комаров [и др.] // Нижегородский медицинский журнал. 2006. № 1. С. 98–100.
4. Использование морфоструктурного анализа и лазерной атомно-эмиссионной спектрометрии высохших капель плазмы крови для диагностики рака простаты / А.В. Савков [и др.] // Вестник БГУ. Сер. 1. 2016. № 3. С. 51–62.
5. Яхно Т.А., Яхно В.Г. Основы структурной эволюции высыхающих капель биологических жидкостей // Журнал технической физики. 2009. Т. 79, Вып. 8. С. 133–141.
6. Некоторые особенности системной самоорганизации сыворотки крови у больных с опухолями мягких тканей и молочной железы с отдаленными метастазами / С.А. Машурова [и др.] // Изв. вузов. Северо-кавказский регион. Естественные науки. 2011. № 4. С. 117–121.
7. Красникова О.В., Гордецов А.С., Крылов В.Н. Изменение параметров ИК-спектров плазмы крови животных-опухоленосителей на фоне введения биологически активных добавок // Современные технологии в медицине. 2011. № 4. С. 18–21.
8. Гордецов А.С. Инфракрасная спектроскопия биологических жидкостей и тканей. Современные технологии в медицине. 2010. № 1. С. 84–98.
9. Исследование возможности дифференцировки глиобластом / И.А. Медяник [и др.] // Современные технологии в медицине. 2014. № 6. С. 93–102.
10. Черезов А.Е. Общая теория рака: тканевый подход. М.: Изд-во МГУ. 1997. 252 с.

References

1. Kobjakov G.L., Smolin A.V. Onkologija. Novye strategii v lechenii zlokachestvennyh gliom: kratkij obzor nauchnyh publikacij ezhegodnogo s'ezda obshhestva nejroonkologov (SNO 2010) v Monreale // Farmateka (Onkologija). 2011. № 7. S. 41–49. (in Russ.)
2. Ljubimova N. V., Timofeev Ju. S., Kushlinskij N. E.. Nejrspetsificheskie belki v syvorotke krovi u bol'nyh s opuholjami golovnogo mozga i nevrologicheskimi zabolovanijami neopuholevoj jetiologii // Mediko-biologicheskie i social'no-psihologicheskie problemy bezopasnosti v chrezvychajnyh situacijah. 2016. № 3. S. 90–95. (in Russ.)
3. Infrakrasnaja spektroskopija syvorotki krovi v diagnostike onkozabolovanij / R.N. Komarov [i dr.] // Nizhegorodskij medicinskij zhurnal. 2006. № 1. S. 98–100. (in Russ.)
4. Ispol'zovanija morfostrukturnogo analiza i lazernoj atomno-jemissionnoj spektrometrii vysokshih kapel' plazmy krovi dlja diagnostiki raka prostaty / A.V. Savkov [i dr.] // Vestnik BGU. Ser. 1. 2016. № 3. S. 51–62. (in Russ.)
5. Jahno T.A., Jahno V.G. Osnovy strukturnoj jevoljucii vysyhajushih kapel' biologicheskikh zhidkostej // Zhurnal tehniczeskoj fiziki. 2009. T. 79, Vyp. 8. S. 133–141. (in Russ.)
6. Nekotorye osobennosti sistemoj samoorganizacii syvorotki krovi u bol'nyh s opuholjami mjagkih tkanej i molochnoj zhelezy s otdalennymi metastazami / S.A. Mashurova [i dr.] // Izv. vuzov. Severo-kavkazskij region. Estestvennye nauki. 2011. № 4. S. 117–121. (in Russ.)
7. Krasnikova O.V., Gordecov A.S., Krylov V.N. Izmenenie parametrov IK-spektrov plazmy krovi zhivotnyh-opuholenositelej na fone vvedenija biologicheskii aktivnyh dobavok // Sovremennye tehnologii v medicine. 2011. № 4. S. 18–21. (in Russ.)
8. Gordecov A.S. Infrakrasnaja spektroskopija biologicheskikh zhidkostej i tkanej. Sovremennye tehnologii v medicine. 2010. № 1. S. 84–98. (in Russ.)
9. Issledovanie vozmozhnosti differencirovki glioblastom / I.A. Medjanik [i dr.] // Sovremennye tehnologii v medicine. 2014. № 6. S. 93–102. (in Russ.)
10. Cherezov A.E. Obshhaja teorija raka: tkanevyj podhod. M.: Izd-vo MGU. 1997. 252 s. (in Russ.)

Сведения об авторах

Маслова Г.Т., к.б.н., доцент кафедры физиологии человека и животных Белорусского государственного университета.

Булойчик Ж.И., к.х.н., с.н.с. кафедры физической оптики и прикладной информатики Белорусского государственного университета.

Зажогин А.П., д.ф.-м.н., профессор кафедры лазерной физики и спектроскопии Белорусского государственного университета.

Мавричев А.С., д.м.н., заместитель директора по лечебной работе РНПЦ онкологии и медицинской радиологии.

Державец Л.А., к.б.н., заведующий клинико-диагностической лабораторией РНПЦ онкологии и медицинской радиологии.

Трубцкая А.С., студентка биологического факультета Белорусского государственного университета.

Титова А.В., студентка биологического факультета Белорусского государственного университета.

Адрес для корреспонденции

220030, Республика Беларусь,
Минск, пр-т Независимости, 4
Белорусский государственный университет
тел. 375-17-209-53-48;
e-mail: zajogin_an@mail.ru
Зажогин Анатолий Павлович

Information about the authors

Maslova G.T., PhD, associate professor of the department of human and animal physiology of Belarusian state university.

Buloichik J.I., PhD, senior research of the department of physical optics of Belarusian state university.

Zajogin A.P., D.Sci, professor of the department of laser physics and spectroscopy, faculty of physics of Belarusian state university.

Mavrichev A.S., D.Sci, deputy director of clinical practice of Republican research-practical center of oncology and medical radiology.

Derzhavets L.A., PhD, head of the clinical diagnostic laboratory at the Republican research-practical center of oncology and medical radiology.

Trubetskaya A.S., student at the faculty of biology of Belarusian state university.

Titova A.V., student at the faculty of biology of Belarusian state university.

Address for correspondence

220030, Republic of Belarus,
Minsk, Nezalieznasci ave., 4
Belorusian state university
375-17-209-53-48;
e-mail: zajogin_an@mail.ru
Zajogin Anatoli Pavlovich