

МОЛОДЁЖЬ, НАУКА, МЕДИЦИНА

МАТЕРИАЛЫ

**65-й Всероссийской межвузовской студенческой
научной конференции с международным участием**

Россия, г. Тверь, 17–18 апреля 2019 г.



Тверь 2019

Е. Н. Хильманович, Т. Т. Штабинская, Н. Д. Стрекаль
УО «Гродненский государственный медицинский университет»,
Гродно, Беларусь
Кафедра патологической анатомии
Кафедра медицинской и биологической физики

НЕКОТОРЫЕ ОСОБЕННОСТИ СПЕКТРОВ ФЛУОРЕСЦЕНЦИИ СРЕЗОВ РАКА ТОЛСТОЙ КИШКИ С РАЗНОЙ ВЫЖИВАЕМОСТЬЮ ПАЦИЕНТОВ

Введение: на сегодняшний день разработка новых методов диагностики и терапии рака толстой кишки (РТК) является актуальной проблемой не только в Республике Беларусь, но и за рубежом. Согласно прогнозам большинства ученых, заболеваемость раком данной локализации и смертность от него будет постоянно расти и в течение ближайших 20 лет увеличится практически в 1,5–2 раза [1–3].

Сравнительный анализ физических параметров здоровых и раковых клеток может служить фундаментальной основой в понимании физических процессов в онкогенезе. Подтверждением актуальности физических исследований раковых клеток является создание в США 20 научных лабораторий физических исследований в онкологических центрах (ФИОЦ) на территории разных штатов [4].

Цель исследования: выявить наличие зависимости между физическими характеристиками спектров флуоресценции контрастирующих красителей в группах с РТК в зависимости от скорректированной безрецидивной выживаемости пациентов (СБВ).

Задачи: Для достижения цели исследования были зарегистрированы и описаны спектры флуоресценции, полученные от множества точек срезов тканей толстого кишечника, окрашенных гематоксилином и эозином (Н&Е). Для каждого графика были определены относительные интенсивности, интегральные интенсивности и разности длин волн, соответствующие максимумам интенсивностей (Н&Е).

Материалы и методы

Исследование проведено на архивном гистологическом операционном материале 42 РТК и 12 краев резекции, верифицированных и удаленных в учреждении здравоохранения «Гродненская областная клиническая больница» в период с января 2001 г. по декабрь 2011 г. Парафиновые блоки с тканью опухоли толстой кишки были собраны в архиве Гродненского областного патологоанатомического бюро. Для исследования выбирали блок с сохраненной структурой ткани, без некроза и геморрагий. Из парафиновых блоков готовили срезы толщиной 4 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином для того, чтобы убедиться, что блок содержит опухоль, т. к. с выбранных блоков уже делались срезы в диагностических целях. Пациенты были поделены на 3 группы: в группе 1–15 пациентов с СБВ меньше 5 лет, в группе 2–7 пациентов с СБВ равной 5-ти годам, в группе 3–19 пациентов с СБВ больше 5 лет. В качестве контроля использовали неопухолевую ткань толстой кишки из краев резекции. Измерительная часть исследования проведена в лаборатории молекулярной спектроскопии и оптики наноструктур УО «Гродненский государственный университет имени Я. Купалы» на конфокальном микроскопе-спектрометре Nanofinder S (Solar, г. Минск). Для каждого образца были прописаны спектры железа и стромы. Длина волны возбуждения лазер-

ного излучения составляла 532 нм. Для обработки спектров использовались программный пакет Origin 8 и методы статистической обработки данных.

Результаты и обсуждение

Получены спектры флуоресценции Н&Е, зарегистрированные с пространственным разрешением от железа и стромы для каждого образца выборки и представлены на одном координатном поле (рис. 1).

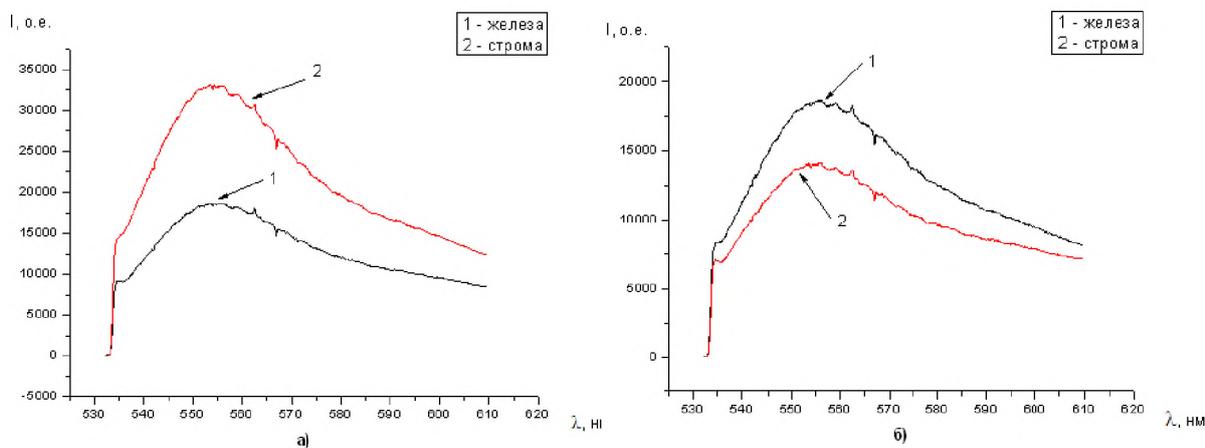


Рис. 1. Спектры флуоресценции Н&Е в железе (1) и строме (2) для случаев разной интенсивности, а) — образец 22802, б) — образец 687-12

На рисунке 1 слева изображен пример спектров для образца, у которого интенсивность люминесценции Н&Е для стромы выше, чем для железа. Справа « пример спектров для образца, у которого интенсивность люминесценции Н&Е для железа выше, чем для стромы. Спектры представляют собой зависимость интенсивности, измеренной в относительных единицах от длины волны в нанометрах (нм).

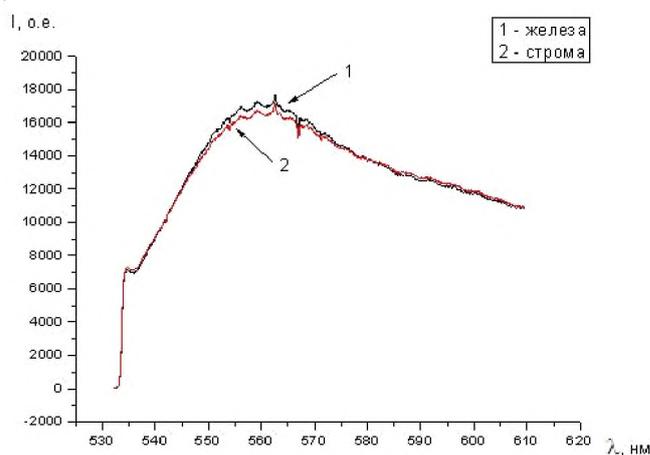


Рис. 2. Спектры флуоресценции Н&Е^В железа (1) и стромы (2) для случаев равной интенсивности, в) — образец 4311231

У 8-ми образцов из группы 1 спектр люминесценции Н&Е у стромы по интенсивности выше, чем соответствующий для железа (подгруппа 1). У 5-ти образцов наблюдается обратное: спектр интенсивности железа лежит выше, чем у стромы (подгруппа 2). У 2-х образцов спектры почти совпадают (подгруппа 3) — рисунок 2. Соответственно отношение относительных интенсивностей флуоресценции Н&Е (для железа по отношению к строме) для образцов подгруппы 3 стремится к 1 (0,86 и 1,02 соответственно). У образцов подгруппы 1, где интенсивность флуоресценции, подкрашенной Н&Е стромы выше, чем железа, значение отношения относительных интенсивностей

варьируется в среднем около значения 0,54, а отношение интегральных интенсивностей варьируется в среднем около значения 0,51. У образцов подгруппы 2, где интенсивность флуоресценции, подкрашенной Н&Е железы, лежит выше, чем стромы, и значение отношения относительных интенсивностей варьируется около значения 1,51, отношение интегральных интенсивностей варьируется в среднем около значения 1,47.

Была проверена гипотеза о наличии статистически значимой корреляционной связи между отношением относительной интенсивности и отношением длин волн на максимуме интенсивности железы к строме. На основании коэффициента линейной корреляции Пирсона: $r=-0,118$, $p=0,644$, $df=16$ можно сделать вывод о том, что статистически значимой связи между отношением относительной интенсивности и отношением длин волн на максимуме интенсивности железы к строме не выявлено на уровне значимости $p>0,5$.

У 4-х образцов из группы 2 спектр люминесценции Н&Е для стромы по интенсивности выше, чем соответствующий для железы (подгруппа 1). У 2-х образцов наблюдалось обратное: интенсивность спектра флуоресценции Н&Е для железы лежит выше, чем у стромы (подгруппа 2). У 1-го образца спектры почти совпали (подгруппа 3). Соответственно отношение относительных интенсивностей и интегральных интенсивностей для образца подгруппы 3 стремится к 1 (1,04 и 1,19 соответственно). У образцов подгруппы 1, где интенсивность для стромы лежит выше, чем для железы, значение отношения относительных интенсивностей варьируется в среднем около значения 0,58, а отношение интегральных интенсивностей варьируется в среднем около значения 0,53. У образцов подгруппы 2, где спектр интенсивности флуоресценции Н&Е для железы лежит выше, чем для стромы, значение отношения относительных интенсивностей варьируется около значения 0,97, а отношение интегральных интенсивностей варьируется в среднем около значения 1,42.

Была проверена гипотеза о наличии корреляционной связи между отношением относительной интенсивности и отношением длин волн на максимуме интенсивности железы к строме. На основании коэффициента линейной корреляции Пирсона: $r=0,238$, $p=0,581$, $df=6$ можно сделать вывод о том, что статистически значимой связи между отношением относительной интенсивности и отношением длин волн на максимуме интенсивности железы к строме не выявлено на уровне значимости $p>0,5$.

У 13-ти образцов из группы 3 спектр люминесценции стромы по интенсивности выше, чем соответствующий спектр флуоресценции Н&Е для железы (подгруппа 1). У 3-х образцов наблюдается обратное: интенсивность флуоресценции Н&Е для железы лежит выше, чем у стромы (подгруппа 2). У 3-х образцов спектры почти совпадают (подгруппа 3). Соответственно отношение относительных интенсивностей (для железы по отношению к строме) и интегральных интенсивностей для образцов подгруппы 3 стремится к 1 (0,82 и 0,72 соответственно). У образцов подгруппы 1, где график интенсивности стромы лежит выше, чем железы, значение отношения относительных интенсивностей варьируется в среднем около значения 0,56, а отношение интегральных интенсивностей варьируется в среднем около значения 0,54. У образцов подгруппы 2, где график интенсивности железы лежит выше, чем стромы, значение отношения относительных интенсивностей варьируется около значения 1,45, а отношение интегральных интенсивностей варьируется в среднем около значения 1,13.

Группа «контроль» насчитывала 12 образцов. У 8-ми образцов спектр люминесценции стромы по интенсивности выше, чем соответствующий для железа (подгруппа 1). У 3-х образцов наблюдается обратное: график интенсивности железа лежит выше, чем у стромы (подгруппа 2). У 1-го образца спектры почти совпадают (подгруппа 3). Соответственно, для подгруппы 3 отношение относительных интенсивностей (для железа по отношению к строме) и интегральных для образца стремятся к 1 (0,87 и 0,86 соответственно). У образцов подгруппы 1, где интенсивности флуоресценции Н&Е стромы выше, чем железа, значение отношения относительных интенсивностей варьируется в среднем около значения 0,53, а отношение интегральных интенсивностей варьируется в среднем около значения 0,58. У образцов подгруппы 2, где интенсивность флуоресценции Н&Е железа выше, чем стромы, значение отношения относительных интенсивностей варьируется около значения 1,91, а отношение интегральных интенсивностей варьируется в среднем около значения 1,61.

Была проверена гипотеза о наличии статистически значимой корреляционной связи между отношением относительной интенсивности и отношением длин волн на максимуме интенсивности железа к строме. На основании коэффициента линейной корреляции Пирсона: $r = -0,478$, $p = 0,0040$, $df = 21$ можно сделать вывод о том, что существует статистически значимая связь между отношением относительной интенсивности и отношением длин волн на максимуме интенсивности железа к строме на уровне значимости $p < 0,5$. Знак «минус» указывает на то, что это связь обратная.

Выводы: таким образом, установлено, что в подгруппе 1 каждой из групп отношение относительных интенсивностей флуоресценции Н&Е и интегральных варьируется в пределах от 0,53 до 0,58; в подгруппе 2 больше 1: от 1,46 для относительных интенсивностей до 1,41 для интегральных; в подгруппе 3 — в пределах 1. Выявлено с помощью коэффициента линейной корреляции Пирсона наличие статистически значимой обратной корреляционной зависимости в группе 3 между отношением относительных интенсивностей и разностью максимумов длин волн: чем больше разность, тем меньше отношение относительных интенсивностей для графиков железа/stroma.

Проведенное исследование носило пилотный характер. На его основании определены основные направления усовершенствования методики работы со спектрами флуоресценции и их анализа в срезах опухолевой ткани толстой кишки пациентов с разной выживаемостью. В частности, предлагается увеличение количества клиничко-морфологических параметров РТК и точек одного среза для нивелирования флуктуаций интенсивностей спектров, связанных с неоднородностью тканей. Полученные результаты также показали, что требуются дополнительные методы автоматизации анализа числовых данных спектров.

Литература

1. Potter, J. D. Colon cancer: a review of the epidemiology / J. D. Potter, M. L. Slattery, R. M. Bostic // *Epidemiol. Rev.* — 1993. — № 15. — P. 499-545.
2. Zespoły polipowatoŃci rodzinnych jelita grubego / M. Drews [i wsp.] // *Wsp. Onkol.* — 2006. — № 10. — S. 395-400.
3. Ignatowicz, A. Epidemiologia nowotworów zioŃliwych wczoraj i dziaŃ / A. Ignatowicz, J. Kornafel // *Fam. Med. Prim. Care Rev.* — 2008. — № 10. — P. 848-852.
4. Характеристика стромального и паренхиматозного компонентов опухолей толстой кишки с использованием спектрофотометрии / И. Г. Мотевич [и др.] // *Журнал прикладной спектроскопии.* — 2016. — Т. 83, № 2. — С. 255–261.