

УДК 616.379-008.64-092.9-06:616.61-018-073.7

Т.М. Бойчук, О.Г. Ушенко*, М.І. Грицюк

ВДНЗ України “Буковинський державний медичний університет”, м. Чернівці, *Чернівецький національний університет імені Ю. Федьковича

ЛАЗЕРНА ФЛУОРЕСЦЕНЦІЯ, ЯК МЕТОД ДІАГНОСТИКИ УРАЖЕННЯ ЕПІТЕЛІАЛЬНОЇ ТКАНИНИ НИРОК ЩУРІВ З ПРИВОДУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ

Резюме. У статті наведено можливості лазерної флуоресценції як методу ранньої діагностики ураження епітеліальної тканини нирок лабораторних тварин при моделюванні експериментального цукрового діабету.

Ключові слова: нирки, лазерна флуоресценція, цукровий діабет.

Діабетична нефропатія (ДН) є одним з найсерйозніших та найнебезпечніших мікровазкулярних ускладнень цукрового діабету (ЦД). Патогенез ДН комплексний і вміщує цілий ряд компонентів (спадковий, метаболічний, гемодинамічний тощо). Патологічні зміни виникають у різних клітинах: подоцитах, епітеліоцитах, ендотеліоцитах, мезангіальних клітинах, гломерулярній базальній мембрані, а також у фібробластах інтерстицію та судинному руслі [1, 2].

У біомедичній діагностиці широко застосовується поляризоване випромінювання [3-5]. Розроблені фундаментальні підходи до аналізу структури біологічних об'єктів дозволяють оцінювати трьохвимірні характеристики хімічних сполук [6-8], специфіку структури хіральних біологічних молекул [9-11], вимірювати концентрацію цукру у крові [12-14], кількісно визначати особливості структури білків у розчинах [4, 15, 16], розробляти неінвазивні методи діагностики [16-18], створювати чутливі датчики у мікроскопічній метрології [5, 10, 19], а також в інших біологічних та медичних дослідженнях [7, 8, 13].

Мета дослідження: дослідити застосування лазерної поляриметрії як методу діагностики ранніх проявів уражень нирок при експериментальному ЦД у щурів.

Матеріал і методи. Досліджувалися дві групи зразків гістологічних зрізів тканин внутрішніх органів пацюка: перша (I) – контрольна група (n=36), яка перебувала на стандартному режимі годування, освітлення та утримання, із дотриманням положень Директиви ЄЕС №609 (1986) та наказу МОЗ України №690 від 23.09.2009 р. “Про заходи щодо подальшого

удосконалення організаційних норм роботи з використанням експериментальних тварин”. Дослідній групі тварин (n=36) одноразово внутрішньоочеревинно вводили стрептозоцин (Sigma, США) у дозі 70 мг/кг для моделювання експериментального цукрового діабету [20]. Для дослідження основних показників функцій нирок забій тварин проводили під легким ефірним знеболенням. Розбіжності між групами дослідження здійснювали згідно методу Стьюдента.

Формування лазерної поляризаційної флуоресценції біологічних тканин ґрунтується на: механізмах оптично анізотропного поглинання (лінійний і циркулярний дихроїзм) [19]; флуоресценції молекул порфірину (“лінійних” осциляторів) і полікристалічних мереж таких молекул (“еліптичних” осциляторів) [7, 8]; механізмах фазової анізотропії (лінійне і циркулярне двопронезаломлення фібрилярних мереж), яке модулює флуоресцентне випромінювання “лінійних” та “еліптичних” осциляторів [11].

Під статистичним моментом першого порядку розуміють середнє значення випадкових величин координатних розподілів параметрів вектора Стокса автофлуоресцентного мікроскопічного зображення гістологічного зрізу біологічної тканини. Під дисперсією (статистичний момент другого порядку) випадкової величини розуміють міру розкиду даної випадкової величини, тобто її відхилення від математичного очікування у межах набору пікселів автофлуоресцентного мікроскопічного зображення гістологічного зрізу біологічної тканини. Асиметрією називають величину (статистичний момент третього порядку), яка характеризує відхилення від нормаль-

ного розподілу випадкової величини параметру вектора Стокса у межах набору пікселів автофлуоресцентного мікроскопічного зображення гістологічного зрізу біологічної тканини. Під ек-цесом (статистичний момент четвертого по-рядку) розуміють гостроту "піку" розподілу випадкової величини параметру вектора Стокса у межах набору пікселів автофлуоресцентного мікроскопічного зображення гістологічного зрізу біологічної тканини.

Результати дослідження та їх обговорення.

На рисунку представлено серію поляризаційно-відфільтрованих розподілів інтенсивності авто-

флуоресценції у точках цифрового мікроскопічного зображення гістологічних зрізів здорової (ліва частина) і патологічно зміненої (права частина) нирки щура.

Аналіз одержаних даних виявив:

- наявність лазерної автофлуоресценції для гістологічних зрізів ниркової тканини щурів;
- поляризаційну залежність інтенсивності автофлуоресценції для різних умов поляризаційної фільтрації;
- більш високий рівень розподілів інтенсивності автофлуоресцентних мікроскопічних зображень гістологічних зрізів біологічних тканин патологічно змінених внутрішніх органів пацюків.


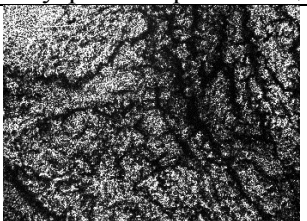

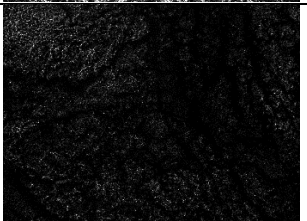

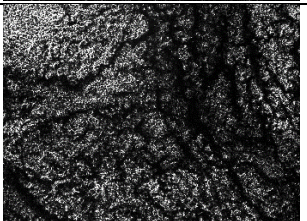
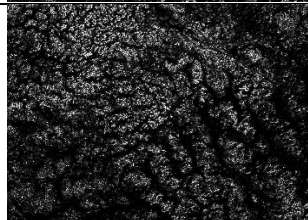
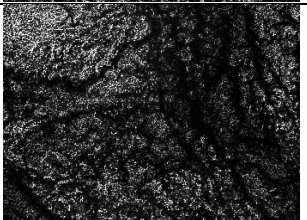
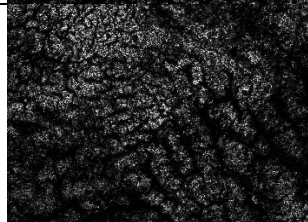
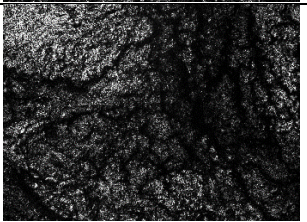

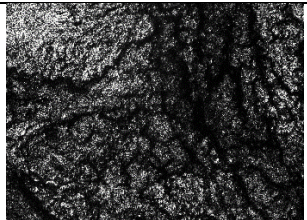
0-0			0-0		
0-90			0-90		
0-45			0-45		
0-135			0-135		
0-права циркуляція			0-права цир- куляція		
0-ліва цир- куляція			0-ліва цир- куляція		

Рисунок. Поляризаційно-неоднорідні автофлуоресцентні мікроскопічні зображення гістологічних зрізів нирки щура

Встановлено наступні найбільш чутливі до зміни ступеню орієнтаційної впорядкованості ансамблів порфіринів нирки статистичні моменти вищих (3-го – 4-го) порядків, які характеризують особливості зміни асиметрії та гостроти піку гістограм розподілів орієнтаційного параметру автофлуоресцентних мікроскопічних зображень відповідних біологічних препаратів нирки. У результаті досягнуто хорошого рівня збалансованої точності $A_c = 77\% - 82\%$ (табл. 1).

Таблиця 1

Статистичні $Z_{i=1;2;3;4}$ параметри, що характеризують координатні розподіли орієнтаційного параметру $S_3(m \times n)$ автофлуоресцентних мікроскопічних зображень гістологічних зрізів нирки

Параметри	Контрольна група (n=36)	Цукровий діабет (n=36)	A_c , %
Z_1	$0,08 \pm 0,011$	$0,09 \pm 0,015$	59%
Z_2	$0,17 \pm 0,025$	$0,24 \pm 0,039$ $P > 0,05$	67%
Z_3	$0,65 \pm 0,086$	$0,97 \pm 0,13$ $P > 0,01$	77%
Z_4	$1,08 \pm 0,17$	$0,89 \pm 0,11$ $P > 0,05$	82%

Порівняльний аналіз одержаних даних про координатні розподіли параметру кристалізації S_4 автофлуоресцентних мікроскопічних зображень гістологічних зрізів нирки контрольної та дослідної груп пацієнтів виявив, що найбільш чутливими до зміни ступеню кристалізації порфіри-

нових мереж є статистичний момент 1-го порядку, який характеризує середнє значення у межах таких розподілів. У результаті досягнуто відмінної точності діагностичного тесту – $A_c = 92\%$ (табл. 2).

Таблиця 2

Статистичні $Z_{i=1;2;3;4}$ параметри, що характеризують координатні розподіли параметру кристалізації $S_4(m \times n)$ автофлуоресцентних мікроскопічних зображень гістологічних зрізів нирки

Параметри	Контрольна група (n=36)	Цукровий діабет (n=36)	A_c , %
Z_1	$0,07 \pm 0,009$	$0,13 \pm 0,019$ $P > 0,05$	92%
Z_2	$0,14 \pm 0,017$	$0,16 \pm 0,019$	72%
Z_3	$0,36 \pm 0,057$	$0,47 \pm 0,071$ $P > 0,05$	76%
Z_4	$0,68 \pm 0,089$	$0,79 \pm 0,12$ $P > 0,05$	74%

Висновки. 1. Автофлуоресцентні мікроскопічні зображення поляризаційно-неоднорідні, що вказує на індивідуальний розподіл молекул порфіринів та їх полікристалічних мереж у біологічних тканинах різних внутрішніх органів пацієнтів. 2. Патологічні стани характеризуються більшою концентрацією молекул порфіринів та їх полікристалічних мереж у біологічних тканинах різних внутрішніх органів пацієнтів.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження мікроскопічних зображень молекул порфіринів та їх полікристалічних мереж у біологічних тканинах, зокрема нирках, тварин представляє перспективи для ранньої діагностики уражень внутрішніх органів щурів з експериментальним цукровим діабетом.

Список використаної літератури

1. Лобода О.М. Механізми розвитку та прогресування діабетичної нефропатії / О.М. Лобода, І.О. Дудар, В.В. Алексєєва // *Клінічна імунологія. Алергологія. Інфектологія.* – 2010. – № 9-10 (38-39). – С. 46-50.
2. Ребров Б.А. Поражение почек при сахарном диабете / Б.А. Ребров // *Международный эндокринолог. ж.* – 2011. – № 2(34). – С. 51-55.
3. Polarization visualization and selection of biotissue image two-layer scattering medium / O.V. Angelsky, A.G. Ushenko, D.N. Burcovets, Yu.A. Ushenko // *J. Biomed. Opt.* – 2005. – Vol. 10, № 1. – P. 014010.
4. Polarization phase reconstruction of biological tissue architectonics: Part 4. Coherent introscopy of phase-inhomogeneous surface and layers / A.O. Angelskaya, A.G. Ushenko, Yu.A. Ushenko [et al.] // *Proc. SPIE.* – 2007. – Vol. 6635. – P. 66350NP.
5. Kliger D.S. Polarized Light in Optics and Spectroscopy / D.S. Kliger, J.W. Lewis, C.E. Randall. – New York, USA: Academic Press-Harcourt Brace Jovanovich, 1990. – 304 p.
6. Polarization speckle-reconstruction of biological tissues architectonics: Part 1. Polarization correlometry of birefringence architectonics: singular approach / A.O. Angelskaya, Yu.A.

- Ushenko, Ye. Ushenko [et al.] // Proc. SPIE. – 2007. – Vol. 6635. – P. 66350KP. 7. Laser polarization fluorescence of optically anisotropic crystals molecular imaging in the differentiation of biological benign and malignant tumors / Yu.A. Ushenko, A.V. Dubolazov, A.O. Karachevtsev [et al.] // Proc. SPIE. – 2013. – Vol. 8812. – P. 88120Z. 8. Тучин В.В. Оптика биологических тканей. Методы рассеяния света в медицинской диагностике / В.В. Тучин. – М: ФИЗМАТЛИТ, 2012. – 811 с. 9. Polarization phase reconstruction of biological tissue architectonics: Part 2. Study of polarizing intercorrelative function of coherent images of phase-inhomogeneous layer anisotropy / A.O. Angelskaya, A.G. Ushenko, Yu.A. Ushenko [et al.] // Proc. SPIE. – 2007. – Vol. 6635. – P. 66350LP. 10. Brouseau C. Fundamentals of Polarized Light a Statistical Approach / C. Brouseau. – New York, USA: John Wiley & Sons, 1998. – 405 p. 11. Multidimensional Mueller Matrices Microscopy of Biological Crystal Networks Structure / Yuriy A. Ushenko, Alexander V. Dubolazov, Artem O. Karachevtsev [et al.] // Proc. Fringe 2013. – 2014. – P. 855-858. 12. Polarization phase reconstruction of biological tissue architectonics: Part 3. Polarizing-correlative processing of images of statistical objects in the problem of visualization and topology reconstruction of their phase heterogeneity / A.O. Angelskaya, A.G. Ushenko, Yu.A. Ushenko [et al.] // Proc. SPIE. – 2007. – Vol. 6635. – P. 66350MP. 13. Statistical, Correlation and Topological Approaches in Diagnostics of the Structure and Physiological State of Birefringent Biological Tissues / O.V. Angelsky, A.G. Ushenko, Yu.A. Ushenko [et al.] // Handbook of Photonics for Biomedical Science; Ed. by Valery V. Tuchin – London: CRC Press. – 2010. – P. 283-322. 14. Laser polarization-variable autofluorescence of the network of optically anisotropic biological tissues: diagnostics and differentiation of early stages of cancer of cervix uteri / Yu.A. Ushenko, M.I. Sidor, N. Pashkovskaia [et al.] // Journal of Innovative Optical Health Sciences. – 2014. – Vol. 07, Issue 03. – P. 1450024. 15. Chrysostomou A. Circular polarimetry reveals helical magnetic fields in the young stellar object HH 135-136 / A. Chrysostomou, P.W. Lucas, J.H. Hough // Nature. – 2007. – № 450. – P. 71-73. 16. Laser polarization autofluorescence of endogenous porphyrins of optically anisotropic biological tissues and fluids in diagnostics of necrotic and pathological changes of human organs / Yu.A. Ushenko, A.D. Arkhelyuk, M.I. Sidor [et al.] // Appl. Opt. – 2014. – № 53. – P. B181-B191. 17. Michl J. Spectroscopy with Polarized Light / J. Michl, E.W. Thulstrup. – New York: VCH, 1986. – 316 p. 18. Physical and Chemical Methods of Sugar Analysis / C.A. Browne, F.W. Zerban. – New York, USA: John Wiley & Sons, 1941 – 1353 p. 19. Fourier-domain Jones-matrix mapping of a complex degree of mutual anisotropy in differentiation of biological tissues' pathological states / Yu.A. Ushenko, L.Yu. Trifonyuk, A.V. Dubolazov, A.O. Karachevtsev // Appl. Opt. – 2014. – № 53. – P. B205-B214. 20. Галенова Т.І. Відтворення експериментальної стрептозотоцин-індукованої моделі цукрового діабету 2 типу у щурів / Т.І. Галенова, В.В. Конопельнюк, О.М. Савчук, Л.І. Остапченко // Фізика живого. – 2010. – Т. 18, № 3. – С. 50-54.

ЛАЗЕРНАЯ ФЛУОРЕСЦЕНЦИЯ, КАК МЕТОД ДИАГНОСТИКИ ПОРАЖЕНИЯ ЭПИТЕЛИАЛЬНОЙ ТКАНИ ПОЧЕК КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ

Резюме. Стаття представляє дані, касаючі лазерної флуоресценції, як метода ранньої діагностики ураження епітеліальних тканин почек лабораторних тварин при моделюванні експериментального сахарного діабета.

Ключевые слова: почки, лазерная флуоресценция, сахарный диабет.

LASER FLUORESCENCE AS THE METHOD TO DIAGNOSE RENAL EPITHELIAL TISSUE LESIONS IN RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES

Abstract. The article presents the findings concerning laser fluorescence as a method of early diagnosis of lesions of the renal epithelial tissue of laboratory animals in modeling experimental diabetes.

Key words: kidneys, laser fluorescence, diabetes.

State Higher Educational Establishment in Ukraine
“Bukovinian State Medical University” (Chernivtsi);
Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University (Chernivtsi)

Надійшла 01.04.2016 р.
Рецензент – проф. Роговий Ю.Є. (Чернівці)