

Олександр ШАБЛІЙ¹, студент,
Валерій ОРЕЛ^{1,2}, аспірант,
Ольга ДАСЮКЕВИЧ², канд. біол. наук, пров. наук. співроб.,
Олександр РИХАЛЬСЬКИЙ², ст. наук. співроб.,
Валерій ОРЕЛ^{1,2}, д-р біол. наук, проф.,
Анатолій ДЄДКОВ², д-р мед. наук,
Олександр ГАЛКІН¹, д-р біол. наук, проф.

¹ Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського», м. Київ, Україна, e-mail: sashha2017@gmail.com, alexfbt@gmail.com

² ДНП «Національний інститут раку», м. Київ, Україна, e-mail: orel.valeriy@gmail.com, olgadix1993@gmail.com, a.rykhalskiy@gmail.com, valerioresl@gmail.com, an.dedkov@gmail.com

ТЕКСТУРНИЙ АНАЛІЗ СОНОГРАМ ТВАРИН З САРКОМОЮ-45 ПІСЛЯ ВПЛИВУ ЛІПОСОМАЛЬНОГО НАНОКОМПЛЕКСУ НА ОСНОВІ ДОКСОРУБІЦИНУ ТА ЕЛЕКТРОМАГНІТНОГО ОПРОМІНЕННЯ

Анотація. У роботі було досліджено різницю між текстурними параметрами (яскравість, індекс автокореляції Морана) зон інтересу сонограм злоякісної пухлини саркоми-45 залежно від впливу офіційного доксорубіцину, ліпосомального наноконструкту доксорубіцину та дії зовнішнього електромагнітного поля. На основі проведеного дослідження сформовано уявлення про алгоритми обробки медичних зображень при проведенні ультразвукових досліджень для кількісного аналізу ехо-структури м'яких тканин у діагностиці та оцінці відповіді на лікування злоякісних новоутворень.

Ключові слова: текстурний аналіз сонограм, саркома-45, доксорубіцин, ліпосомальний наноконструкт, електромагнітне опромінення.

Актуальність дослідження. В останні роки розроблено багатофункціональні ліпосомальні наноконструкти (ЛНК) для доставки протипухлинних препаратів з метою поліпшення їхньої фармакокінетики і біорозподілу у злоякісних пухлинах та зменшення побічної дії на нормальні тканини під час хіміотерапії. Застосування зовнішнього електромагнітного поля (ЕП) дозволяє планувати вивільнення хіміотерапевтичного агента з ліпосом під впливом помірного нагріву (<42 °C) та дистанційно модулювати реакції рекомбінації вільних радикалів [1]. Механізм дії більшості протипухлинних препаратів, наприклад антибіотик антрациклінового ряду доксорубіцин (ДР), засновано на продукції вільних радикалів та окисному стресі. Однак існує проблема таргетного впливу на пухлину та обмеження побічних ефектів при взаємодії з нормальними тканинами організму. Використання методів текстурного аналізу медичних зображень, зокрема при ультразвуковому дослідженні та послідуєчій комп'ютерній обробці, дає змогу кількісно оцінювати зміни гетерогенності структури пухлини та нормальних тканин у відповідь на лікування [2].

Мета дослідження. Визначити вплив ЛНК на основі ДР та ЕП на структуру злоякісної пухлини саркоми-45 та нормальних тканин методом ультразвукової візуалізації у тварин-пухлиноносіїв.

Основні матеріали і результати досліджень. Об'єктами дослідження були неінbredні щури. У якості експериментальної моделі використано злоякісну пухлину м'яких тканин саркому-45. Імплантацію пухлини проведено введенням у стегно щура клітинної суспензії з урахуванням ваги тварин. Усі тварини з пухлинами були розподілені на шість груп ($n=5$ на групу): 1 – контроль (без впливу); 2 – внутрішньовенне введення ДР; 3 – введення ДР та опромінення ЕП; 4 – введення ЛНК ДР; 5 – введення ЛНК ДР та опромінення ЕП; 6 – пухлину лише опромінювали ЕП. Тваринам було внутрішньовенно введено розчин офіційного ДР (Ebewe, Австрія) 1,5 мг/кг або ЛНК ДР (Dr. Reddy's Laboratories, Індія) 2 мг/кг ваги щура. Локальне опромінення пухлини на правому стегні проводили експериментальним зразком апарату «Магнітерм» («Радмір», Україна) радіочастотою ЕП

42 МГц впродовж 15 хв після введення препарату. Для візуалізації злоякісних пухлин використовували ультразвуковий апарат експертного класу VINNO G86 (VINNO Technology, Сучжоу, Китай) з поверхневим датчиком Х4-12L (частота 12...15 МГц), значеннях температурного індексу для м'яких тканин (TIS)=0,7 та механічного індексу (MI)=1,3. Зони інтересу пухлини та симетричних тканин на протилежній кінцівці сегментували на сонограмах (В-режим) з використанням середовища ImageJ v.1.53 (НИН, США). Обчислювали середню яскравість отриманих зображень, як кількісну міру ехогенності тканини, та гетерогенність засновану на статистиці просторової автокореляції за індексом Морана [3]. Статистичний аналіз отриманих даних проведено за допомогою програмного пакету SPSS Statistics v.25.0 (IBM, Inc., Armonk, NY, 2017). Для встановлення закону розподілу даних виконували тест Колмогорова-Смірнова. Порівняння між двома групами здійснювали за U-критерієм Манна-Уїтні та між шістьма групами за критерієм Краскела-Уолліса.

Результати комп'ютерного аналізу ультразвукових зображень показали, що середня яскравість зони інтересу пухлини достовірно відрізнялась від м'яких тканин на протилежній кінцівці у всіх випадках ($p < 0,05$), крім другої групи, що може бути пов'язано з системним введенням ДР та його розподілом у нормальних тканинах протилежної кінцівки. Найнижче значення середньої яскравості пухлини було зареєстровано у контрольній групі ($202 \pm 0,1$ у.о.) та у тварин, яких опромінювали лише ЕП ($212 \pm 0,2$ у.о.). Застосування розчину ДР з ЕП ($225 \pm 0,3$ у.о.) призводило до зниження яскравості пухлини у порівнянні з лише ДР ($249 \pm 0,2$ у.о.). У той час як вплив ЕП на ЛНК ДР, навпаки, підвищував ехогенність тканин пухлини ($240 \pm 0,3$) відносно самостійного лікування ЛНК ДР ($217 \pm 0,3$ у.о.). Одним з пояснень останнього є різний механізм впливу ЕП на вільнорадикальні реакції розчиненого ДР з пухлиною та її мікрооточенням і ЛНК ДР. Попередні дослідження вказують на те, що нижча яскравість є однією з ознак злоякісності сарком м'яких тканин [4]. Найвище значення середньої яскравості сонограм спостерігалися у 2-й та 5-й групах.

Статистичний аналіз просторової автокореляції зон інтересу засвідчив достовірну різницю між пухлиною та м'якими тканинами протилежної кінцівки в усіх випадках ($p < 0,05$), окрім самостійного впливу ЕП. У групах тварин 2-6 індекс Морана, розрахований в зоні інтересу пухлини, набував меншого значення, ніж у контрольній групі. Найвище співвідношення індексу Морана пухлини до протилежної кінцівки було знайдено у 3-й групі (1,04), а найнижче у 5-й групі (0,82). Варто зазначити, що вплив ЕП на вільний ДР підвищував значення індексу Морана з $0,67 \pm 0,004$ до $0,70 \pm 0,004$, а при взаємодії з ЛНК ДР знижував з $0,73 \pm 0,003$ до $0,61 \pm 0,058$. Більш гетерогенна (менше значення індексу Морана) структура саркоми-45 при ультразвуковій візуалізації після ЛНК ДР+ЕП може бути пов'язана з процесами клітинної смерті, такої як некроз [5]. Вищенаведені результати текстурного аналізу можна пояснити спираючись на більш таргетне вивільнення ДР з ЛНК при ЕП опроміненні саме у ділянці пухлини, а також впливом ЕП на вільнорадикальні реакції за участі ДР та ліпідів у складі ліпосом, на відміну від розчиненого ДР, який у більшій мірі накопичується у тканинах поза пухлиною.

Висновок

Текстурні параметри зони інтересу пухлини саркоми-45 на сонограмах залежали від впливу ДР, ЛНК ДР чи ЕП. Застосування ЛНК ДР + ЕП призводило до змін ехогенності тканини – конкретно підвищенні середньої яскравості медичних зображень пухлин у порівнянні з усіма іншими експериментальними групами, окрім лікування офіційним розчином ДР. Найнижча гетерогенність злоякісних тканин за значенням індексу просторової автокореляції Морана у візуалізованих ультразвуком пухлинах було відмічено при лікуванні ЛНК ДР+ЕП. Зміни параметру гетерогенності нормальних тканин на протилежній кінцівки без пухлини залежала від методу терапевтичного впливу.

Література

1. Henbest K. B., Kukura P., Rodgers C. T., Hore P. J., Timmel C. R. Radio frequency magnetic field effects on a radical recombination reaction: a diagnostic test for the radical pair mechanism// Journal of the American Chemical Society. 2004. Vol. 126. P. 8102-8103. doi: 10.1021/ja048220q.

2. Davnall F., Yip C. S., Ljungqvist G., Selmi M., Ng F., Sanghera B., Ganeshan B., Miles K. A., Cook G. J., Goh V. Assessment of tumor heterogeneity: an emerging imaging tool for clinical practice?// *Insights Imaging*. 2012. Vol. 6. P. 573-589. doi: 10.1007/s13244-012-0196-6.

3. Moran P. A. P. The interpretation of statistical maps// *Journal of the Royal Statistical Society, Series B*. 1948. Vol. 37. P. 243-251.

4. Morii T., Kishino T., Shimamori N., Motohashi M., Ohnishi H., Honya K., Aoyagi T., Tajima T., Ichimura S. Preoperative ultrasonographic evaluation for malignancy of soft-tissue sarcoma: a retrospective study// *Open Journal of Orthopedics*. 2018. Vol. 12. P. 75-83. doi: 10.2174/1874325001812010075.

5. Jacobson J. A., Middleton W. D., Allison S. J., Dahiya N., Lee K. S., Levine B. D., Lucas D. R., Murphey M. D., Nazarian L. N., Siegel G. W., Wagner J. M. Ultrasonography of superficial soft-tissue masses: society of radiologists in ultrasound consensus conference statement// *Radiology*. 2022. Vol. 304. P. 18-30. doi: 10.1148/radiol.211101.