

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СПЕКТРАЛЬНЫХ ХАРАКТЕРИСТИК ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ ЧЕЛОВЕКА И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

**М.О. Хотянович¹, В.В. Муравьев², А.А. Тамело², Ю.П. Стукач¹, А.А. Попов²,
В.А. Кульчицкий¹**

¹Институт физиологии НАН Беларуси ул. Академическая, 28, 220072, Минск, Беларусь;
E-mail: vladi@fizio.bas-net.by

²Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники, ул. Бровки, 6,
220013, Минск, Беларусь

Abstract. The probing of Ehrlich carcinoma fragments from Af line mice was made in millimeter wavelength range (28-33 GHz) with the quasi-optical antenna and radiometric system. The number of cycles from 100 to 500 ms was 500, which was critical for assessing of material *ex tempore*. Data characterizing the levels of spectral modulation signals passed through tissue samples were fixed in digital form and processed using Fourier transformation. The fixed in formaline material was obtained in patients during surgery of breast cancer. The identical pattern of modulation signals spectral components passed through the samples of fixed in formaline and native tumor tissues was established.

Огорчающие статистические сведения и не всегда соответствующее состояние диагностики и терапии пациентов, страдающих онкологическими заболеваниями, естественным образом беспокоит мировое сообщество. Постоянно возрастает число канцерогенов в окружающей человека среде. Проводимые онкоэпидемиологические исследования позволяют по новому оценить степень канцерогенной опасности для человека конкретных средовых факторов. Ситуация осложняется лавинообразным нарастанием использования электронных устройств, в частности мобильных телефонов и беспроводных сетей, что сопровождается увеличением воздействия на человека радиочастотных полей [1-4]. Вопрос о влиянии этих полей на человека дискутируется [5, 6]. Установлены особенности эффектов крайне высоких частот электромагнитных полей на организм человека, которые свидетельствуют о перспективности исследования механизмов таких полей для разработки диагностических и лечебных мероприятий [6, 7]. Именно этот аспект проблемы заинтересовал авторов исследования, целью которого было – оценить спектральные характеристики опухолевых тканей в сравнении с теми, которые не были подвержены опухолевой инвазии при прохождении через эти ткани миллиметровых волн в диапазоне 28-33 ГГц. При условии выявления закономерных отличий намечались перспективы использования крайне высоких частот для детализации представлений об особенностях спектральных характеристик опухолевых и неопухолевых тканей. Помимо этого, важным аспектом являлось уточнение спектральных характеристик нативных опухолевых тканей в сравнении со спектрами новообразований, зафиксированных в формалине, что является стандартной процедурой, необходимой для обеспечения сохранности биологического материала.

Методика. Экспериментальный раздел работы включал опыты на мышах-самцах линии Af с массой тела 25-30 г. Мышей, склонных к спонтанному опухолеобразованию, содержали в стандартных условиях вивария. Для имплантации опухолевых клеток мышам использовали асцитную карциному Эрлиха. Суспензию клеток асцитной карциномы Эрлиха прививали подкожно в межлопаточную область в количестве 6 млн клеток на мышь. Через 38-40 дней животных в специальных контейнерах перемещали в экспериментальную лабораторию Белорусского государственного университета информатики и радиоэлектроники для проведения исследований с помощью радиометрической установки. Непосредственно перед началом опыта (*ex tempore*) мышей декапитировали, извлекали образцы опухолевой ткани, а в отдаленном от новообразования участке тканей выделяли для сравнения паттерна спектральных сигналов фрагмент мышечной ткани, не подверженный опухолевой инвазии.

Зондирование фрагментов карциномы Эрлиха после её экстирпации у мышей Af линии проводили в миллиметровом диапазоне длин волн (28-33 ГГц) с помощью сфокусированной на исследуемую ткань квазиоптической антенны и радиометрической системы (рисунок 1).

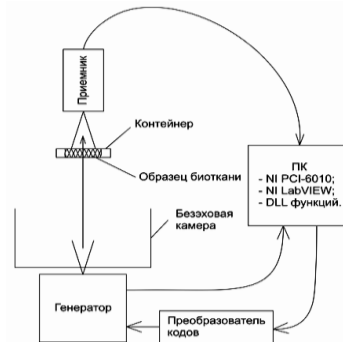


Рисунок 1 – Схема установки для дистанционного зондирования биологических тканей. На рисунке обозначены все основные компоненты системы зондирования.

Радиометрическая система (рисунок 1) для оценки спектральных характеристик новообразований состоит из генератора, приемного устройства, безэховой камеры, преобразователя кодов, контейнера для исследуемой ткани, персонального компьютера. Помимо этого, радиометрический прибор содержит входной сверхмалошумящий каскад усиления, детекторный каскад на полевом транзисторе, широкополосный усилитель низкой частоты. Сверхмалошумящий приемный каскад в диапазоне частот от 27 до 33 ГГц имеет шумовую температуру 190 К. Радиоизлучение исследуемой области с помощью приемного измерительного устройства модуляционного типа визуализировалось на мониторе компьютера для дополнительного контроля событий.

Образец биологической ткани располагали в кювете, которая была ориентирована вертикально по отношению к фланцу измерительного прибора. Размер отверстия во фланце составлял 7.2 x3.4 мм. Измерение проводили последовательно циклами от 0.1 до 0.5 с на одной из крайне высоких частот в дальней зоне согласно приведенной ниже формуле:

$$\frac{2\pi}{\lambda} * l \geq 1 \quad (1)$$

где λ – длина волны; l – расстояние от излучателя до кюветы.

Управляющая программа, разработанная в среде NI LabVIEW с использованием DLL функций, выдает управляющий сигнал высокочастотного генератора, который содержит информацию о частоте, мощности и режиме модуляции. Программа ожидает окончания перестройки генератора на заданную частоту и, при помощи платы сбора данных, осуществляет выборку массива значений измеренного приемником сигнала. Цикл измерений повторяется с заданным шагом частоты до момента достижения границы частотного диапазона. Результатом работы является массив данных, характеризующих уровни спектральных составляющих модуляционных сигналов, прошедших через образцы тканей в частотной области, полученных с использованием преобразования Фурье. Частотная зависимость поведения соответствующих зависимостей имеет общую тенденцию спада с повышением частоты, что обусловлено ростом коэффициента затухания электромагнитных волн.

Использовали режим с дискретной перестройкой частоты прохождения электромагнитной волны. Измерения проводили последовательно циклами от 100 до 500 мс на одной из крайне высоких частот в дальней зоне. Число циклов составляло 500, и последователь-

ная их регистрация в совокупности не превышала 10-15 минут, что являлось критичным для оценки характеристик биологического материала, полученного *ex tempore* от мышей. Данные, характеризующие уровни спектральных составляющих модуляционных сигналов, прошедших через образцы тканей в выбранной частотной области, обрабатывали с использованием преобразования Фурье. Полученные результаты сопоставляли с ранее полученными данными зондирования фиксированных в 10% формалине фрагментов опухоли молочной железы [7]. Для анализа использовали статистический критерий Стьюдента (*t*-критерий). Сравнение выборок проводили на каждой гармонике в отдельности, выборки сформированы попарно из набора значений уровней для каждой гармонической составляющей для измененных и неизмененных тканей. Выборки содержат значения, полученные в процессе измерений в режиме с дискретной перестройкой частоты прохождения электромагнитной волны (в полосе свипирования) частоты генератора.

Критическое значение коэффициента *t* определяли по формуле:

$$t = \frac{\bar{x}_u - \bar{x}_n}{\left(\frac{\sum x_u^2 + \sum x_n^2}{n_u + n_n - 2} \right)^{1/2} \cdot \sqrt{\frac{1}{n_u} + \frac{1}{n_n}}} \quad (2)$$

где x_u и x_n – средние значения для выборок «и» и «н», которым соответствуют выборка в полосе частот свипирования частоты генератора, n_u, n_n – объемы выборок.

Число степеней свободы $\nu = (n_u + n_n - 2) = 201 + 201 - 2 = 400$.

Для типового значения уровня значимости $\alpha = 0,05$ и числа степеней свободы 400 критическое значение коэффициента Стьюдента $t = 1,9659$.

Результаты и их обсуждение. Результатом работы управляющей программы явился массив данных в частотной области с использованием преобразования Фурье. В этом массиве были выделены 10 гармоник модулирующего сигнала для каждой частоты. На рисунке 2а приведен пример исследования биологического материала, полученного из тканей мышей линии Af, не подверженных опухолевой инвазии. Уровень амплитуд спектральных характеристик в неопухолевой ткани был ниже, чем в патологически измененной (2б). Кроме того первая гармоника затухает быстрее в неопухолевом образце. Такое различие характеристик гармоник у опухолевого и здорового образцов позволяет высказать предположение о возможности использования данного метода для предварительного заключения о наличии опухолевой ткани в биологических образцах.



Рисунок 2 – Трехмерное представление гармоник для частот КВЧ-диапазона в тканях мышей линии Af: а – для неизменной ткани; б – для измененной, при различных значениях коэффициента прохождения

На рисунке 3б приведена типичная картина трехмерного распределения гармоник для крайне высоких частот диапазона для опухолевых тканей пациента, (рисунок приведен из статьи [7]). Анализ установленных зависимостей также как и на рисунке 2 выявляет отличие поведения гармонических составляющих в экспериментальной частотной обла-

сти. Характерная динамика проявляется при изучении патологически измененной ткани. Наличие резких перепадов частот может быть обусловлено взаимодействием электромагнитных волн с образцами тканей и объясняется, так называемым, эффектом стохастического резонанса.



Рисунок 3 – Трехмерное представление гармоник для частот КВЧ-диапазона в тканях пациентки: а – для неизменной ткани; б – для измененной, при различных значениях коэффициента прохождения

Известно, что применение волн миллиметрового диапазона позволяет выявить образования диаметром менее 1 см, что принципиально для диагностики онкологической патологии на ранних этапах процесса канцерогенеза. В связи с этим, акцент в исследовании сделан на применении миллиметровых волн в диапазоне 28-33 ГГц с целью сравнения спектральных характеристик опухолевых и неопухолевых тканей. Осуществляли также сопоставление биофизических характеристик нативных тканей (экстирпация *ex tempore*) и биологических образцов после их хранения несколько суток в 10% растворе формалина. Этот аспект важен для суждения о сопоставимости паттерна спектральных характеристик биологических тканей как патологически измененных, так и нормальных при разных условиях их хранения в фиксирующих растворах.

Особенностью биологических тканей является их высокая диэлектрическая проницаемость (8-70), которая выраженно коррелирует с процентным содержанием воды. Даже небольшое повышение влагосодержания увеличивает проницаемость тканей без заметного роста плотности пораженной ткани (диэлектрическая проницаемость воды 81, плотность воды 1). В соответствии с этим априорно можно предположить, что величина диэлектрической проницаемости нормальных и опухолевых тканей будет различаться вследствие различной интенсивности кровоснабжения здоровых и пораженных участков. Данное предположение целесообразно верифицировать в будущих экспериментах. Кроме того, информативными представляются полученные результаты о сопоставимости биофизических характеристик тканей, исследуемых непосредственно после иссечения из живого организма, и тканей, хранившихся определенное время в растворах для фиксации, например, в формалине.

Итак, в процессе проведенных исследований осуществляли зондирование фрагментов карциномы Эрлиха после её экстирпации у мышей Af линии в миллиметровом диапазоне длин волн (28-33 ГГц) с помощью сфокусированной на исследуемую ткань квазиоптической антенны, являющейся элементом радиометрической системы. Для прецизионного анализа использовали режим с дискретной перестройкой частоты прохождения электромагнитной волны. Измерения осуществляли последовательно циклами от 100 до 500 мс на одной из крайне высоких частот в дальней зоне. Число чередующихся циклов достигало 500, но последовательная их регистрация в совокупности не превышала 10-15 минут, что являлось критичным для прецизионной оценки биофизических характеристик нативного биологического материала (опухолевые и неопухолевые ткани), полученного *ex tempore* от склонных к спонтанному опухолеобразованию мышей Af линии. Зафиксиро-

ванные в цифровой форме данные, характеризующие уровни спектральных составляющих модуляционных сигналов, прошедших через образцы тканей в выбранной частотной области, обрабатывали с использованием преобразования Фурье. Полученные результаты сопоставляли с данными зондирования фиксированного в 10% формалине биологического материала, взятого во время проведения хирургической операции по удалению опухоли молочной железы у пациенток. Биологический материал хранился в формалине при температуре +12 °С в течение нескольких суток. Основной задачей работы на этом этапе являлось выявление элементарных отличий или сходств спектральных характеристик биологических тканей, взятых *ex tempore* у экспериментальных животных с теми спектральными характеристиками биологических тканей, которые хранились определенное время в формалине (с целью сохранения биологического материала длительное время). Установлен идентичный паттерн сдвигов спектральных составляющих модуляционных сигналов, прошедших через образцы зафиксированных в формалине и нативных опухолевых тканей. Помимо этого, спектральные характеристики опухолевых тканей характеризовались, в среднем, на 3дБ меньшим коэффициентом прохождения миллиметровых волн в диапазоне 28-33 ГГц по сравнению с тканями, не подверженными опухолевой инвазии.

Литература

1. **Hauri, D.D.** Exposure to radio-frequency electromagnetic fields from broadcast transmitters and risk of childhood cancer: a census-based cohort study / D.D. Hauri, B. Spycher, A. Huss, F. Zimmermann, M. Grotzer, N. von der Weid, A. Spoerri, C.E. Kuehni, M. Rössli // *Am. J. Epidemiol.*, 2014 – Vol. 179, No 7, P. 843-851.
2. **Groeschl, R.T.** Microwave ablation for hepatic malignancies: a multiinstitutional analysis / R.T. Groeschl, C.H. Pilgrim, E.M. Hanna, K.A. Simo, R.Z. Swan, D. Sindram, J.B. Martinie, D.A. Iannitti, M. Bloomston, C. Schmidt, H. Khabiri, L.A. Shirley, R.C. Martin, S. Tsai, K.K. Turaga, K.K. Christians, W.S. Rilling, T.C. Gamblin // *Ann. Surg.*, 2014 – Vol. 259, No 6, P. 1195-1200.
3. **Juutilainen, J.** Review of possible modulation-dependent biological effects of radiofrequency fields / J. Juutilainen, A. Höytö, T. Kumlin, J. Naarala // *Bioelectromagnetics.*, 2011 – Vol. 32, No 7, P. 511-534.
4. **Jin, Y.B.** One-year, simultaneous combined exposure of CDMA and WCDMA radiofrequency electromagnetic fields to rats / Y.B. Jin, H.J. Lee, J.S. Lee, J.K. Park, N. Kim, Y.S. Lee // *Int. J. Radiat. Biol.*, 2011 – Vol. 87, No 4, P. 416-423.
5. **Zastrow, E.** 3D computational study of non-invasive patient-specific microwave hyperthermia treatment of breast cancer / E. Zastrow, S.C. Hagness, B.D. Van Veen // *Phys. Med. Biol.* 2010 – Vol. 55, No 13, P. 3611-3629.
6. **Habash, R.W.** Recent advances in research on radiofrequency fields and health: 2004-2007 / R.W. Habash, J.M. Elwood, D. Krewski, W.G. Lotz, J.P. McNamee, F.S. Prato // *J. Toxicol. Environ. Health., B. Crit. Rev.* 2009 – Vol. 12, No 4, P. 250-288.
7. **Murav'ev, V.V.** Primenenie radiometricheskoy sistemy krajne vysokih chastot dlya obnaruzheniya zlokachestvennyh novoobrazovaniy molochnyh zhelez / V.V. Murav'ev, A.A. Tamelo, Yu.L. Putyrskij, E.V. Shapoval, A.A. Leshhik, D.I. Matveev, D.F. Molodkin, A.A. Popov // *Zh. Pribory i metody izmeren.* 2014 – Vol. 8, No 1, P.10-15.