

# МЕТОД СПЕКТРАЛЬНО-СЕЛЕКТИВНОЙ ЛАЗЕРНОЙ ПОЛЯРИМЕТРИИ АВТОФЛУОРЕСЦЕНЦИИ ЭНДОГЕННЫХ ПОРФИРИНОВ В ПОСМЕРТНОЙ ДИАГНОСТИКЕ ОСТРОЙ ИШЕМИИ МИОКАРДА

к.м.н. О. Я. Ванчуляк

Высшее государственное учебное заведение Украины «Буковинский государственный медицинский университет» (руководитель – д.м.н., проф. В. Т. Бачинский), кафедра судебной медицины и медицинского правоведения.

**Анотация:** В работе изложены результаты исследования 69 образцов миокарда с острой коронарной недостаточностью, 69 с хронической ишемической болезнью сердца и 20 образцов контрольной группы. Установлены операционные характеристики спектрально-селективной лазерной поляриметрии автофлуоресценции эндогенных порфиринов миокарда по сравнению с традиционным методом верификации острой коронарной недостаточности. Исследуемый метод продемонстрировал хороший уровень сбалансированной точности для диагностики острой коронарной недостаточности.

**Ключевые слова:** лазер, поляриметрия, автофлуоресценция, острая ишемия миокарда

## METHOD OF SPECTRAL-SELECTIVE LASER POLARIMETRY AUTOFLUORESCENCE OF ENDOGENOUS PORPHYRINS IN THE POSTMORTEM DIAGNOSIS OF ACUTE MYOCARDIAL ISCHEMIA

O. Ya. Wanchuliak

**Abstract:** This paper presents the results of research done on 69 samples of myocardium with acute coronary insufficiency (ACI), 69 samples with chronic ischemic heart disease and 20 samples of the control group. The operating characteristics of spectrally-selective laser polarimetry autofluorescence of endogenous myocardial porphyrins have been established compared to the traditional method of ACI verification. The tested method showed a good level of balanced accuracy for the diagnosis of ACI.

**Keywords:** laser polarimetry, autofluorescence, acute myocardial ischemia

<http://dx.doi.org/10.19048/2411-8729-2016-2-4-24-26>

### ◇ ВВЕДЕНИЕ

Идентификация острой коронарной недостаточности (ОКН) как ведущей составляющей внезапной сердечной смерти является важной в судебно-медицинской практике. Действительно, внезапная сердечная смерть является наиболее частой причиной внезапной смерти [1]. Хотя, на сегодняшний день разработано достаточное количество методов идентификации указанного патологического состояния, внезапность и, зачастую, отсутствие свидетелей происшествия вызывают подозрение у судебно-следственных органов на насильственный характер смерти при ОКН [2]. Поскольку оценку результатов традиционных методов идентификации ОКН проводит человек, это вносит некоторый субъективизм в полученные результаты, а также требует высокой квалификации. С другой стороны, внедрение новейших объективных программных методов анализа образцов сердечной мышцы позволит проводить быструю, точную и объективную диагностику ОКН и смежных состояний (например, хронической ишемической болезни сердца (ХИБС)).

### ◇ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Забор материала проводился с 2010 по 2015 гг. в помещении коммунального учреждения «Областное бюро судебно-

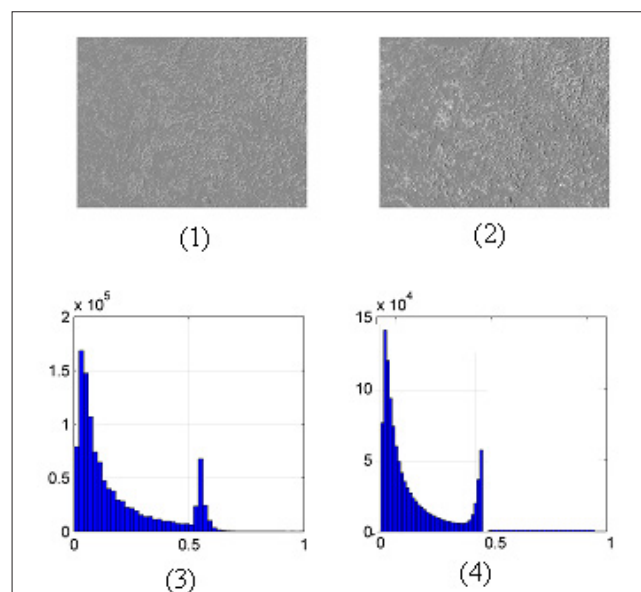
медицинской экспертизы» Черновицкого департамента здравоохранения при смешанном освещении, температуре воздуха 18–22 °С и относительной влажности 60–75%. Во всех случаях забор проводился с различных анатомических областей сердца, включая участки перегородки, стенки правого и левого желудочка, стенки правого и левого предсердия, а также область верхушки. Всего исследовано по 69 образцов с ОКН и ХИБС и 20 миокардов от трупов, умерших насильственной смертью с коротким агональным периодом. Параллельно проводился забор на судебно-гистологическое исследование, заключавшееся в окраске гематоксилином, основным фуксином, пикриновой кислотой (ГОПФ) – метод Lie. Формировались блоки объемом 1 см<sup>3</sup>, которые непосредственно после забора нарезались на замораживающем микротоме с толщиной срезов 30 ± 5 мкм. Срезы сушили. Высушенные нативные срезы доставлялись в лабораторию кафедры корреляционной оптики и спектроскопии Черновицкого национального университета им. Ю. Федьковича, где и проводилась спектрально-селективная лазерная мюллер-матричная поляриметрия автофлуоресценции порфиринов.

Для возбуждения автофлуоресценции срезов миокарда использовали «синий» твердотельный полупроводниковый лазер с длиной волны 405 нм и мощностью 100 мВт. Измеряли координатные распределения интенсивности

автофлуоресценции  $I$  в плоскости светочувствительной площадки CCD. После чего проводили статистический анализ распределений интенсивности автофлуоресцентного изображения [3]. Размер репрезентативной выборки проверялся методом перекрестной проверки. Чувствительность, специфичность и сбалансированная точность подсчитаны в соответствии со стандартами доказательной медицины [4].

#### ♦ ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Данные, полученные с помощью методики лазерной автофлуоресцентной микроскопии нативных срезов миокарда, иллюстрирует рис. 1, где приведены автофлуоресцентные изображения  $I(p \times k)$  гистограммы распределений интенсивности  $N(I)$ , полученные для случаев ХИБС и ОКН.



**Рис. 1.** Двумерные и статистические распределения интенсивности автофлуоресцентных изображений миокарда обеих групп: 1 – двумерное распределение интенсивности при ХИБС; 2 – двумерное распределение интенсивности при ОКН; 3 – статистическое распределение интенсивности при ХИБС; 4 – статистическое распределение интенсивности при ОКН.

Анализ данных, приведенных на рис. 1, показал, что для срезов обеих групп реализуются различные распределения интенсивности их автофлуоресцентных изображений, причем в плоскости срезов образцов тканей миокарда при ОКН и ХИБС наблюдался широкий спектр направлений укладки протеиновых волокон, фибриллярная сеть обоих типов образцов, таким образом, была очень похожа при исследовании данным методом. С другой стороны, для ткани миокарда при ОКН концентрация порфирина более высокая. Этот факт можно объяснить меньшими дегенеративно-дистрофическими изменениями. Вот почему интенсивность соответствующего автофлуоресцентного изображения оказывается выше. Количественно это проявляется в увеличении полуширины гистограммы  $N(I)$  и смещении ее экстремума в сторону больших значений  $I$ .

На следующем этапе были проведены статистические исследования выявленных различий между поляризационными автофлуоресцентными изображениями миокарда исследуемых групп (табл. 2).

Установлено, что величина среднеквадратического отклонения средней величины статистических момен-

тов  $M_{j=1;2;3;4}(I)$  не превышает 0,025. Данный уровень соответствует величине статистически достоверного доверительного интервала  $p < 0,05$ .

Дифференциация образцов осуществлялась путем перекрестного сравнения четырех гистограмм распределений  $M_{j=1;2;3;4}(I)$ .

Если среднее значение  $\bar{M}_i(I)$  в группе 1 лежит вне стандартного отклонения  $\sigma$  группы 2, отличие считается статистически достоверным.

При этом актуальным оказывается анализ области перекрытия  $M_{j=1;2;3;4}(I)$ , которая определяет чувствительность  $Se$ , специфичность  $Sp$  и сбалансированную точность  $Ac$  (табл. 1).

Сравнительный анализ полученных данных показал, что различия между величинами средних  $M_{i=1;2;3;4}(I)$  моментов всех порядков есть статистически достоверными. Вместе с тем, для всех гистограмм  $N(\bar{M}_i)$  имеет место межгрупповое перекрытие.

Определены следующие количественные различия между  $M_{i=1;2;3;4}(I)$ :

$$\begin{cases} \Delta M_1 = 1,17; \\ \Delta M_2 = 1,22; \\ \Delta M_3 = 1,62; \\ \Delta M_4 = 1,79. \end{cases}$$

Обнаружено, что наиболее чувствительными ( $\Delta M_{j=1;2;3;4}(I) = \max$ ) есть статистические моменты 3-го и 4-го порядков, характеризующие гистограммы  $N(I)$ .

С другой стороны, чем больше  $\Delta M_{j=1;2;3;4}(I)$ , тем меньше «перекрытие» гистограмм. Поэтому для таких параметров более информативным ( $Se \uparrow$ ;  $Sp \uparrow$ ;  $Ac \uparrow$ ) оказывается статистический момент 4-го порядка (табл. 1).

**Таблица 1.**

**Операционные характеристики метода спектрально-селективной лазерной поляриметрии автофлуоресценции эндогенных порфиринов.**

Название критерия	$M_i$	Значение критерия
$Se(M_i) \%$	$M_1$	69,8
	$M_2$	71,4
	$M_3$	93,6
	$M_4$	88,9
$Sp(M_i) \%$	$M_1$	65,2
	$M_2$	66,7
	$M_3$	87,3
	$M_4$	85,7
$Ac(M_i) \%$	$M_1$	65,65
	$M_2$	69,05
	$M_3$	90,45
	$M_4$	87,3

Таблица 2.

Средние ( $\bar{M}_{i=1;2;3;4}$ ) и стандартные отклонения ( $\pm\sigma$ ) статистических моментов  $M_{i=1;2;3;4}$  для спектрально-селективной лазерной поляриметрии автофлуоресценции эндогенных порфиринов.

Статистические моменты	Причина смерти		
	Контроль (n=20)	ХИБС (n=69)	ОКН (n=69)
Среднее, $M_1$	0,63 ±0,055	0,61 ±0,057	0,67 ±0,061
Дисперсия, $M_2$	0,28 ±0,023	0,25 ±0,021	0,31 ±0,025
Асимметрия, $M_3$	1,44 ±0,12	0,76 ±0,062	1,23 ±0,11
Экссесс, $M_4$	0,21 ±0,014	0,44 ±0,034	0,32 ±0,026

Сравнительный анализ операционных характеристик метода поляризационно-вариабельной автофлуоресценции обнаружил оптимальные параметры для дифференциации миокарда обоих типов – статистические моменты 3–4-го порядка:

$$Se(M_{3,4}) = 86,7\% - 93,6\%; Sp(M_{3,4}) = 85,7\% - 87,3\%;$$

$$Ac(M_{3,4}) = 87,3\% - 90,4\%$$

#### ◇ ВЫВОДЫ

Анализ полученных данных позволяет сделать следующие выводы:

- Спектрально-селективное картографирование флуоресценции порфиринов оказалось неэффективным для верификации изменений миокарда вследствие ОКН.
- Использование интервальных значений статистических моментов 3-го и 4-го порядков позволяет диагностировать ОКН с отличной чувствительностью  $Se(M_{3,4}) \sim 90\%$  и специфичностью  $Ac(M_{3,4}) \sim 90\%$ .

#### Перспективы дальнейших исследований.

- Исходя из полученных результатов, определены следующие перспективные направления исследований:
- Требуют установления другие характеристики картографирования оптически анизотропных молекулярных

эндогенных флуорофоров, которые могут быть получены путем параметрического, фрактального и вейвлет-анализа.

- Перспективным является дальнейшее проведение лазерных поляриметрических исследований автофлуоресценции миокарда, в частности, при других патологических состояниях, для создания объективного основания формирования судебно-медицинского заключения о причине смерти.

#### ◇ ЛИТЕРАТУРА

1. Bokeriya LA, Revishvili AS, Neminushchiy NM. Vnezapnaya serdechnaya smert». M.: GEOTAR-Media. 2011; 272. (In Rus)
2. Yakovleva EV, Freynd GG. Vnezapnaya serdechnaya smert': printsipy morfologicheskoy diagnostiki. Problemy ekspertizy v meditsine. 2012; 12(3-4): 47-48. (In Rus)
3. Angelsky OV, Polyanskii PV, Mokhun II, Zenkova CYu, Bogatryyova HV, Felde ChV, Bachinskiy VT, Boichuk TM, Ushenko AG. Optical Measurements: Polarization And Coherence of Light Fields. (Cocco L, ed.). InTech; 2012. p. 263-316. doi:10.5772/36553
4. Chen D, Geng Z, Zhi-Ming M. Probability and statistics. Frontiers of Mathematics in China. 2011; 6(6):1021-1024.

Для корреспонденции:

**ВАНЧУЛЯК Олег Ярославович** – кандидат медицинских наук, доцент кафедры судебной медицины и медицинского правоведения Высшего государственного учебного заведения Украины «Буковинский государственный медицинский университет», ÷ г. Черновцы, Украина • wanchulyak@gmail.com • +3 80505040911 •

■ Конфликт интересов отсутствует.