

FURYE ÇEVİRİCİ İNFRACIRMIZI SPEKTROSKOPIYA VASİTƏSİLƏ MİOMA XƏSTƏLƏRİNİN QAN PLAZMASININ KLASSİFİKASİYASI

A.H. AYDƏMİROVA

*Azərbaycan Milli Elmlər Akademiyası, Biofizika İnstitutu
AZ-1141, Bakı ş., Z.Xəlilov küç., 117*

Bu işdə mioma xəstəliyinin diaqnozu üçün Furye Çevirici İnfraqırmızı (FÇİQ) spektroskopiyasının istifadəsinin mümkünlüyü nəzərdən keçirilmişdir. Təcrübədə 50 nəfər qadınlardan toplanmış venoz qan nümunələri sağlam (27 nəfər) və xəstə (23 nəfər) qruplara bölünmüşdür. İnfraqırmızı oblastın 3060 sm^{-1} , 3280 sm^{-1} , 1730 sm^{-1} , 1450 sm^{-1} , 940 sm^{-1} , 800 sm^{-1} dalğa ədədləri ətrafında xəstə və sağlam nümunələr arasında əhəmiyyətli fərqlər müşahidə edilmişdir. Xəstə və sağlam nümunələrin təsnifatını piklərin intensivliyi və sürüşməsindəki fərqlərə görə vermək mümkün olmuşdur. Müşahidə olunan spektral dəyişikliklərin mümkün molekulyar interpretasiyası verilmişdir.

Açar sözlər: mioma, qan plazması, spektral marker, FÇİQ (Furye Çevirici İnfraqırmızı) Spektroskopiya
PACS: 87.64.Je

GİRİŞ

Mioma uşaqlıq borusunun hamar əzələ toxumasından meydana gələn, qadınlarda geniş yayılmış və əsasən xoşxassəli şiş xəstəliklərindən biridir [1-3]. Bu xəstəlik nəticəsində əmələ gələn fəsadlar uşaqlıq borusunda həddindən artıq qanaxmalar, anemiya, vaxtından erkən hamiləlik pozulmalarına, doğuş vaxtı üzləşən problemlərə, sidik qaçırması kimi hallara gətirib çıxara bilər. Xəstəliyin əsas risk faktorları piylənmə, tütün istifadəsi, iltihabi proseslər və sair hesab edilir [4, 1].

Tibb sahəsində çoxlu sayda diaqnostik yanaşmalar biomarkerlər vasitəsilə aparılır [5]. Biomarkerlər biokimyəvi, metabolik, spektroskopik və s. tədqiqatlarda təyin oluna bilər. Xəstələrin diaqnostikasında qeyri-invaziv (və ya minimal invaziv) metodların yaradılmasının mühüm əhəmiyyəti var. Qeyri-invaziv metodlarda əsasən biomarkerlər insan bədəni tərəfindən ifraz olunmuş maye və maye tərkibli maddələrdə müəyyən olunur və diaqnostik vasitə kimi istifadə edilir. Venoz qanın alınması minimal invaziv hesab olunur və ondan alınan qan plazması çox hallarda diaqnostik məqsədlər üçün informativ olur. Raman Spektroskopiyası, Furye Çevirici İnfraqırmızı Spektroskopiya kimi metodlarda bu tip markerlər spektral markerlər ("spektral barmaq-izi piklər") adlandırılır [6].

Bu işdə mioma xəstələrinin qan plazmasının sağlam qrupdan fərqlənən spektral xüsusiyyətləri tapılmışdır ki, bunların da diaqnostik məqsədlər üçün istifadəsinin mümkünlüyü göstərilmişdir. Plazma çoxsaylı birləşmələrdən ibarətdir ki, bunlar insan orqanizminin fizioloji vəziyyətini əks etdirir. Bu yöndə güclü və geniş yayılan metodlardan biri hesab edilən FÇİQ spektroskopiyasının qan plazmasına tətbiqi zülalların ikinci quruluşu, nukleid turşuları, karbohidratlar, lipidlər və funksional qruplar haqqında məlumat əldə etməyə imkan verir [7, 8].

MATERİALLAR VƏ METODLAR

Nümunələrin hazırlanması.

Kliniki olaraq mioma diaqnozu qoyulmuş 23 nəfər xəstədən (yaş həddi 50-60) və 27 nəfər sağlam in-

sandan (yaş həddi 25-66) venoz qan nümunələri toplanmışdır. Laxtalanmanın qarşısının alınması məqsədilə toplanmış qan nümunələri EDTA tərkibli sınaq şüşələrinə toplanmışdır. Plazma bütöv qan nümunələrindən 10 dəqiqə ərzində 10000 dövr/dəq olmaqla sentrifüqə vasitəsilə əldə edilmişdir. Bu zaman qanı təşkil edən digər elementlər eritrositlər, leykositlər, trombositlər çökdürülərək supernatant hissədə yerləşən plazma nümunələri ölçməyə qədər 4°C temperaturda (24 saat ərzində) saxlanılmışdır. Barmaq ucundan götürülmüş qan az invaziv sayılsa da onun hüceyrəarası maye ilə qarışması təcrübə zamanı artefaktların yaranmasına yol açmağa bilər. Bu işdə aparılmış ölçmələr Almaniyanın "Bruker" şirkətinin istehsalı olan (VERTEX 70VXSA) spektrometri vasitəsilə həyata keçirilmişdir. Ölçmələr zamanı termostatlı BioATR (ZnSe) aksesuarlarından istifadə olunmuşdur. Ölçülər 20°C temperaturunda aparılmışdır. Ölçü nümunəsinin həcmi təqribən $5\text{ }\mu\text{L}$ olmuşdur. Nümunələrin və suyun temperaturunun dəqiq olması üçün, hər bir nümunə ən azı 10 dəqiqə termostatda qaldıqdan sonra ölçülərə başlanmışdır.

Furye Çevirici İnfraqırmızı Spektroskopiya.

Bu işdə aparılmış ölçmələr Almaniyanın "Bruker" şirkətinin istehsalı olan (VERTEX 70VXSA) spektrometri vasitəsilə həyata keçirilmişdir. Ölçmələr zamanı termostatlı BioATR (ZnSe) aksesuarlarından istifadə olunmuşdur. Ölçülər 20°C temperaturunda aparılmışdır. Ölçü nümunəsinin həcmi təqribən $5\text{ }\mu\text{L}$ olmuşdur. Nümunələrin və suyun temperaturunun dəqiq olması üçün, hər bir nümunə ən azı 10 dəqiqə termostatda qaldıqdan sonra ölçülərə başlanmışdır.

Ölçmələr qan plazması üçün daha informativ olan orta-infraqırmızı ($400\text{-}4000\text{ sm}^{-1}$) oblastda aparılmışdır. Cihazın ayırdetmə qabiliyyəti 4 sm^{-1} və hər bir nümunə üçün tətbiq edilən skanların sayı 512 seçilmişdir.

Tədqiq edilən plazma nümunələri maye təbii olduğu üçün, çəkiliş zamanı plazmanı təşkil edən informativ, vacib birləşmələrdən başqa eyni zamanda bu birləşmələrin dəqiq görünməsinə əngəlləyən suya məxsus olan piklərin üstünlüyü də aydın şəkildə nəzərə çarpır. Bu səbəbdən tədqiq olunan mayenin spektrindən suyun spektrinin çıxılması vacibdir. Çıxma zamanı xüsusi diqqət edilən bölgə ($2000\text{-}2370\text{ sm}^{-1}$) hesab edilir ki, bu hissədə maksimum hamarlığın əldə olunması mütləqdir. Spektral çıxılma zamanı artefaktlardan azad olmaq üçün temperaturun nümunələr və su üçün dəqiq olması çox vacib şərtlərdən biridir.

Ölçmə zamanı alınan spektrlərin baza xətləri heç vaxt ideal olmur. Buna səbəb olan amillər spektr çəkildikdən sonra baza xəttinin sıfırdan aşağı düşməsi, cihaz

daxilində temperaturla bağlı dəyişikliklərin olması və eləcə də, spektrometrin qidalandığı elektrik xəttində gərginlik fluktuasiyalarının olmasıdır. Bunun üçün hər bir spektrin baza xətti korreksiya edilir və sonra analiz üçün informativ olan “barmaqizi”(500-1800 sm^{-1}) və “lipid” (2500-3800 sm^{-1}) zonalarına bölünür. Yekun olaraq hər bir spektral hissə spektrin sahəsinə görə normallaşdırıldıqdan sonra bu regionlar birləşdirilərək tam spektr halına gətirilir.

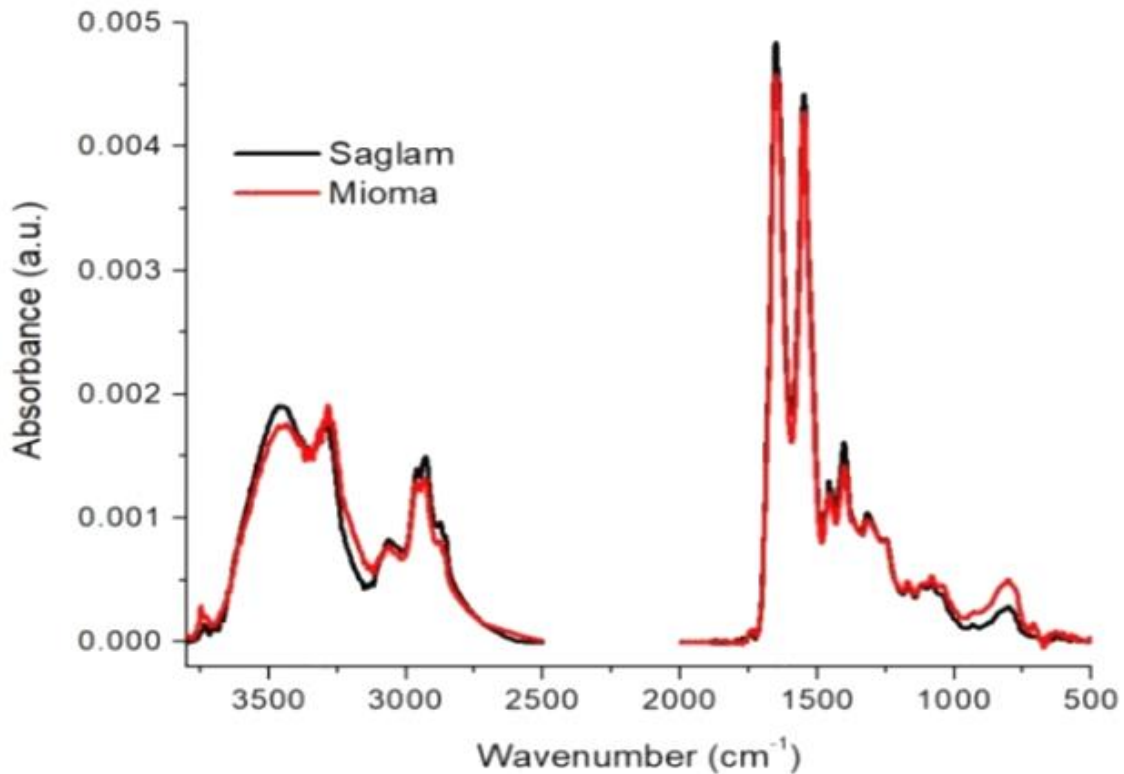
TƏCRÜBİ NƏTİCƏLƏR VƏ MÜZAKİRƏ

Sağlam və xəstə (mioma) qrupa aid insanların plazma nümunələrinin ortalanmış FÇİQ spektrləri şəkil 1-də verilmişdir. “Materiallar və metodlar” hissəsində qeyd edildiyi kimi, bütün spektrlər “barmaqizi” (500-1800 sm^{-1}) və “lipid” (2600-3800 sm^{-1}) zonalarına bölünüb, spektral sahələrinə görə normallaşdırılır və sonra bir tam spektr halında birləşdirilir. Tədqiq olunan bütün plazma nümunələrinin FÇİQ spektrlərinin normallaşdırılması sağlam və xəstə qruplar üçün ayrı-ayrılıqda aparılmışdır. Təsvirlərdən görüldüyü kimi, spektral diapazon boyunca hər iki qrupu xarakterizə edən bəzi piklər həm amplitud, həm də pikin dalğa ədədinə görə fərqlənirlər. Hər iki qrup üçün nəzərə çarpacaq fərqlər 3280 sm^{-1} , 3060 sm^{-1} , 1730 sm^{-1} 1450 sm^{-1} , 940 sm^{-1} , 800 sm^{-1} dalğa ədədləri ətrafındadır. Qeyd edilən hissələrdən başqa digər dalğa ədədlərində hər iki qrup üçün plazma nümunələrinin ortalanmış FÇİQ spektrlərindəki pik intensivliyindəki fərqlər aydın nəzərə çarpır. Cədvəldə həm amplitud, həm də piklərin dalğa ədədinə görə dəyişiklikləri təqdim olunmuşdur. Verilən xarakteristikalardan görüldüyü kimi, hər iki

qrup daxilində spektral piklərin amplitudları dəyişkəndir. Səciyyəvi olaraq, 806 sm^{-1} , 941 sm^{-1} 1044 sm^{-1} , 1453 sm^{-1} , 1737 sm^{-1} hissələrdə mioma xəstələrinə aid olan piklərin amplitudu sağlam insanlara nəzərən böyük olsa da, 1312 sm^{-1} , 1398 sm^{-1} , 2856 sm^{-1} , 2928 sm^{-1} , 3280 sm^{-1} və 3453 sm^{-1} hissələrdə isə daha kiçik amplituda malikdir. Amplitud nisbətələrində olan bu fərqlərə baxmayaraq 1082 sm^{-1} , 1169 sm^{-1} , 1249 sm^{-1} , 1552 sm^{-1} , 1644 sm^{-1} , 2876 sm^{-1} , 2955 sm^{-1} , 3061 sm^{-1} dalğa ədədlərində sağlam qrupla müqayisədə piklərin amplitudlarında dəyişiklik müşahidə olunmamışdır.

Şəkil 2- də spektraltı sahə normallaşmasına əsasən “barmaqizi” hissəsi üçün sağlam-xəstə fərq spektri göstərilmişdir. Fərq spektrinin standart kənar çıxma sahəsi (boz sahə) hüdudlarından xaricdə olan hissəsi əhəmiyyətli fərq hesab oluna bilər. Yəni, bu fərq nizamsız kənar çıxma nəticəsində əmələ gəlməyib. Şəkil 2-dən görüldüyü kimi, fərq spektrində bəzi hissələr xüsusilə 1657-1539 sm^{-1} (zolağı Amid I və Amid II), 750-1049 sm^{-1} (anti A-spiral konformasiyası, karetenoid) boz sahənin hüdudlarından kənara çıxmışdır. Bu regionlar xəstənin sağlam insanın spektri ilə müqayisədə informativ olduğunu nümayiş etdirir.

Eləcə də, analogi vəziyyət şəkil 3-də təsvir edilmiş “lipid” spektral hissənin 3000-3230 sm^{-1} və 2848-2930 sm^{-1} oblastlarında da müşahidə olunmuşdur. Təsvirə (şəkil 3) əsasən 3000-3230 sm^{-1} oblastı C_2 aromatik uzanma, Amid II qrupunun Fermi-gücləndirilmiş overtonunu və 2848-2930 sm^{-1} zolağı isə CH_3 -ün simmetrik uzanması və C-H uzanma üçün səciyyəvidir. Buradan da belə nəticəyə gəlmək olar ki, bəzi FÇİQ spektral hissələr mioma xəstələri üçün ilkin diaqnostik vasitə kimi istifadə edilə bilər.



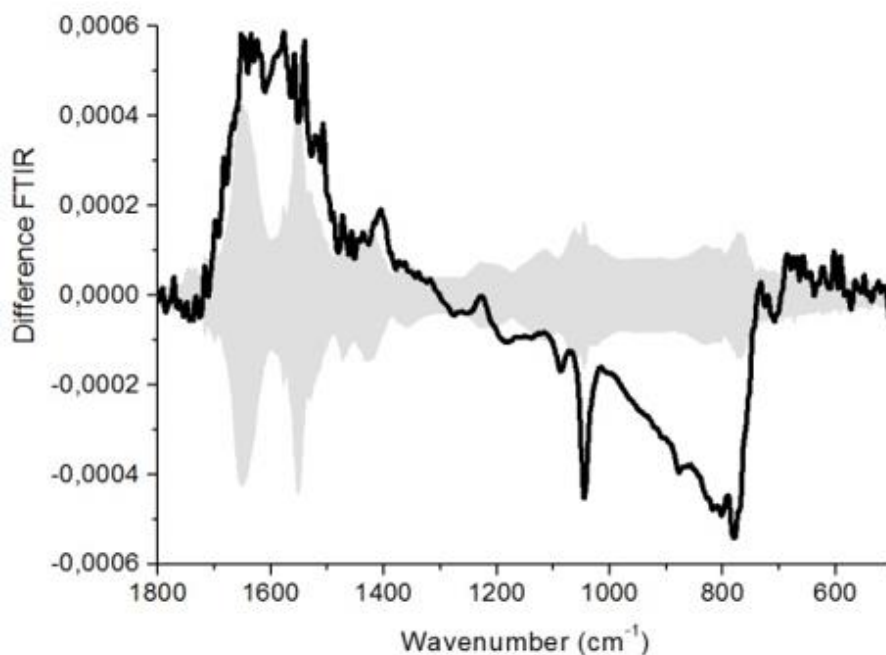
Şəkil 1. Sağlam və xəstə qrup plazma nümunələrinin FÇİQ spektrləri.

Sağlam və xəstə insanların qan plazmalarının FÇİQ spektrlərində xəstəlik klassifikasiyası üçün vacib olan piklərin təsviri.

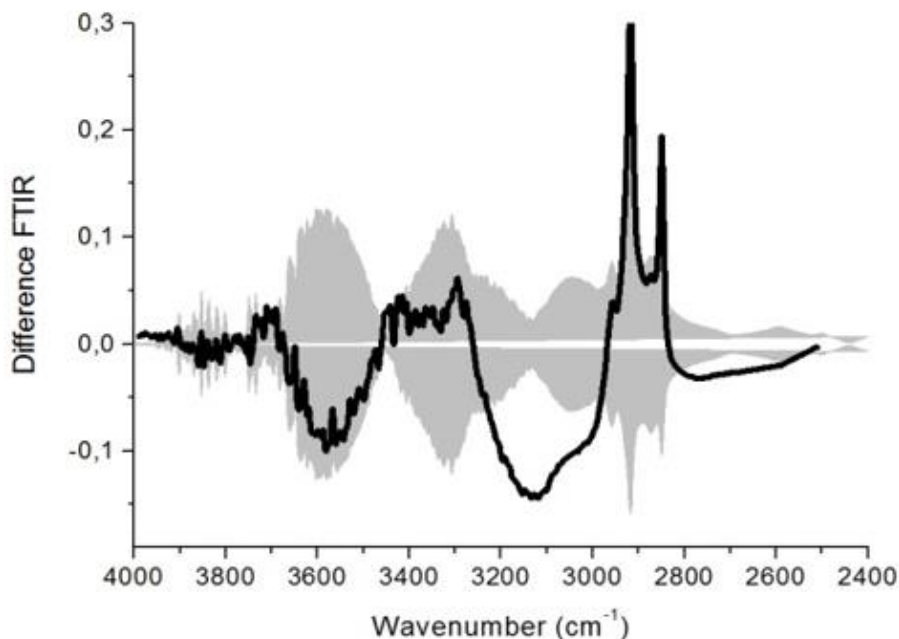
Pikin vəziyyəti (Sağlam) ($\nu \text{ sm}^{-1}$)	Pikin vəziyyəti Mioma ($\nu \text{ sm}^{-1}$)	Pik intensivliyindəki fərqlər*	Spektral piklərin təyinatı	İstinadlar
800	809	△	C ₃ endo (anti-A-spiral konformasiyası)	[9]
932	927	△	Karotenoid	[10]
1043	1044	△	Karotenoid	[9]
1078	1078	○	Simmetrik uzanan fosfat (PO ₂), RNT-də Fosfat I. Qlikogenin olmadığı şəraitdə sağlam qrupda DNT	[11]- [15]
1169	1169	○	ν_{as} CO-O-C	[10]
1249	1249	○	Amid III qrupunun kollogen zülallarının komponentləri	[11]
1308	1319	▽	Asimmetrik uzanan PO ₂ (fosfat) Amid III qrupunun kollogen zülallarının tərkib hissələri	[9]
1398	1398	▽	Simmetrik deformasiya CH ₃	[9]
1458	1456	△	Asimmetrik metil deformasiyası	[9]
1552	1548	○	Amid II	[9], [10]
1644	1644	○	Amide I (amid C ₅₅₀ -nin əsasən uzanan vibrasiya C ₅₅₀ -nin udulması)	[9], [10]
1732	1737	△	Yağ turşusu efirinin udma zolağı	[9]
2854	2856	▽	C-H uzanma	[9]
2876	2876	○	ν_s CH ₃	[9], [10]
2926	2928	▽	C-H uzanma	[9], [10]
2955	2955	○	C-H uzanma	[9]
3061	3068	○	C ₂ aromatik uzanma; Amid II qrupunun Fermi-gücləndirilmiş overtonu	[9], [11]
3281	3289	▽	O-H simmetrik uzanma; Amid A-(N-H) uzanma rejimləri	[9], [11]
3456	3448	▽	O-H simmetrik uzanma	[9]

*-miomanın sağlama olan nisbəti

△,▽,○sağlam qrupa nəzərən amplitudda artma, azalma və heç bir dəyişiklik olmayan halları nümayiş etdirən simvollardır.



Şəkil 2. “Barmaqizi” spektral zolağı üçün sağlam-xəstə fərq sspektri. Qara xətt- sağlam-xəstə fərq spektri, boz sahə- sağlam-xəstə fərq spektrinin standart kənarçıxması.



Şəkil 3. "Lipid" spektral zolağı üçün sağlam-xəstə fərq spektri. Qara xətt- sağlam-xəstə fərq spektri; boz sahə- sahə-sağlam-xəstə fərq spektrin standart kənarlaşması.

YEKUN

Təcrübi nəticələrdən göründüyü kimi, spektral markerlərdən istifadə etməklə FÇİQ spektroskopiyası metodunun insan qanı plazmasına tətbiqi ilə mioma xəstələrini sağlam insanlardan ayırmaq mümkün olmuşdur. Bu markerlər tədqiq edilən obyektin tərkibində olan müxtəlif birləşmələr haqqında dolğun informasiya verir. Hər iki qrupu xarakterizə edən spektral piklər həm amplitud, həm də dalğa ədədinə görə diapazon boyunca müxtəlif hissələrdə müşahidə olunmuşdur. Uyğun olaraq, hər bir qan plazması nümunəsindən əldə

edilmiş fərq spektrlərinin bəzi hissələri standart kənarlaşmanın hüdudlarından xaricdə qalmasına əsasən xəstəliyin təyininə ilk diaqnostik marker kimi istifadə edilə bilər.

MİNNƏTDARLIQ

Bu iş Azərbaycan Milli Elmlər Akademiyasının proqramı çərçivəsində həyata keçirilmişdir. Müəllif FÇİQ spektrlərin çəkilməsində göstərilən dəstəyə görə AMEA-nın Fizika İnstitutuna öz minnətdarlığını bildirir.

- [1] D.D. Baird, D.B. Dunson, M.C. Hill, D. Cousins, J.M. Schectman. High cumulative incidence of uterine leiomyoma in black and white women. Ultrasound evidence. Am J Obstet Gynecol, 2003, vol. 8, No.1, pp.100-107.
- [2] V. Medikare, L.R.Randukuri, V.Ananthapur, M.Deenadayal, P.Nallari. A review, J Reprod Infertil, 2011, vol.12(3), pp.181-191.
- [3] Doanna D. Baird, Quaker E. Harmon, Kristen U., Kristen. Journal of women's health, 2015, vol. 24, No.1, pp. 907-915.
- [4] P. Evans, S. Brunshell. 2007, vol. 75, No. 10, pp.1503-1508.
- [5] K. Strimbu, A. Jorge, M.D. Travel. 2010, vol.5 (6), pp.463-466.
- [6] Rina K. Dukor, L. Zurich, A. Curtis. Marcott. Method and system for diagnosing pathology in biological samples by detection of infrared spectral markers; United States Patent; 2005, Jan 11; pp.1-14
- [7] S.S. Shiek, J.Ahmed, Winkins, S.Kumar. Neural network algorithm for the early detection of Parkinson's disease from blood plasma by FTIR microscopy; Vibrational Spectroscopy; 2010 VIB SPE pp.1-8.
- [8] J. Namur, M. Wassef, J.P. Pelage, A. Lewis, M. Manfait, A. Laurant. Journal of Controlled Release, 2009, vol.135, Issue 3, pp.198-202.
- [9] M. Zanyar, R. Shazza and Dr.Intesham ur Rehman. Applied Spectroscopy Reviews. 2008, vol.13, Issue 2, February, pp.134-179.
- [10] Wael M. Elshemey, Alaa M. Ismayil, Nihal S. Elbially. Journal of Medical and Biological. Engineering 36; 2016; pp.36369-36378.
- [11] E. Rainer, H. Hong, W.G. Hong, H. Xiang, C.Xun, We-Dangle. Characteritic Infrared Spectroscopic patterns in the proteins bands of human breast cancer tissue. Vibrational Spectroscopy; 2001, vol.27, Issue 2, pp. 165-173.
- [12] L.V.Bel'skaya, E.A. Sarf, I.A.Gundyrev. Journal of Applied Spectroscopy, 2019, vol.5, No.6, 2019; pp. 1076-1084
- [13] Jahr, S.H. Hentze, S. Englisch, D. Hardt. DNA fragments in the Blood Plasma of cancer patients: Quantitations and Evidence for their origin from

A.H. AYDƏMIROVA

- apoptotic and necrotic cells. *Cancer Research* 2001, 61, vol. 61, Issue 4, pp.1659-1665.
- [14] K. Gajjar, G. Owens, P.J. Keating, N. Wood. Fourier-transform infrared spectroscopy coupled with a classification machine for the analysis of blood plasma or serum: A novel diagnostic approach for ovarian cancer, *Analyst*, Issue 14, 2013; pp.3917-3926.
- [15] Donna R. Whelan, Keith R. Bambery, Philip Heralld, Mark J. Tobin. Monitoring the reversible B and A-like transition of DNA in eukaryotic cells using FTIR; *Nucleic Acids Research*, 2011, vol. 39, No.13, pp. 5439-5448.

A.H. Aydemirova

BLOOD PLASMA CLASSIFICATION OF MYOMA PATIENTS USING FTIR SPECTROSCOPY

In this study the possibility of using Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy is examined for the diagnosis of myoma. Venous blood samples are taken from 50 women and divided into healthy (27 people) and sick (23 people) groups. Significant differences for sick and healthy samples are observed in the spectral sections of 3060 cm^{-1} , 3280 cm^{-1} , 1730 cm^{-1} , 1450 cm^{-1} , 940 cm^{-1} , 800 cm^{-1} . It allows classifying the sick and healthy samples according to the differences in peak intensities and slidings. A possible molecular interpretation of the observed spectral changes is given.

A.Г. Айдемирова

КЛАССИФИКАЦИЯ ПЛАЗМЫ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ДИАГНОЗОМ МИОМА С ПОМОЩЬЮ ИНФРАКРАСНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ С ПРЕОБРАЗОВАНИЕМ ФУРЬЕ

В данном исследовании рассматривалась возможность использования инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье (ИФП) для диагностики миомы. Образцы венозной крови были взяты у 50 женщин и разделены на группы здоровых (27 человек) и больных (23 человека). Существенные различия для больных и здоровых образцов наблюдались в спектральных сечениях 3060 см^{-1} , 3280 см^{-1} , 1730 см^{-1} , 1450 см^{-1} , 940 см^{-1} , 800 см^{-1} , что позволило классифицировать больные и здоровые образцы по разнице в пиковых интенсивностях и скольжениях. Дана возможная молекулярная интерпретация наблюдаемых спектральных изменений.

Qəbul olunma tarixi: 30.09.2020