

Разработка алгоритма биоимпедансного анализа новообразований на модели перевиваемой опухоли РС-1 в эксперименте

Д.Н. ПАНЧЕНКОВ*, С.Д. ЛЕОНОВ*, А.В. РОДИН**

Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва, Российская Федерация*
Смоленская государственная медицинская академия, Смоленск, Российская Федерация**

Актуальность Важным этапом хирургического лечения злокачественных опухолей является их удаление в пределах нормальных тканей. Возможным методом диагностики опухоли от интактных тканей является биоимпедансометрия.

Цель исследования Провести оценку биофизических параметров опухолевой ткани РС-1 относительно окружающих тканей.

Материалы и методы Исследование проведено на 10 крысах линии Вистар массой 180-220 г, которым в ходе эксперимента прививали опухоль РС-1 (перстневидно-клеточный рак). Инвазивную биоимпедансометрию опухоли и прилегающих тканей проводили с помощью аппарата ВИМ-II, разработанного в ООО «Центр трансфера инновационных технологий», г. Смоленск. Во всех зонах, где измеряли электрический импеданс, проводилось гистологическое исследование на предмет наличия опухолевых клеток.

Результаты и их обсуждение Выявлено, что значения биоимпедансометрии опухоли отличались ($p < 0,05$) от показателей импеданса нормальной ткани. Морфологический анализ подтвердил, что перевитая опухоль являлась перстневидно-клеточным раком (РС-1). При гистологическом исследовании окружающих опухоль тканей опухолевых клеток обнаружено не было.

Выводы На основе биоимпедансного анализа разработана методика верификации опухоли от интактных тканей.

Ключевые слова эксперимент, опухоль, интактная ткань, биоимпедансный анализ.

Development of Bioimpedance Analysis Algorithm of Tumors on an Experimental Model with Transplanted Rs-1 Tumor

D.N. PANCHENKOV*, S.D. LEONOV*, A.V. RODIN**

Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation*
Smolensk State Medical Academy, Smolensk, Russian Federation**

Relevance It is difficult to distinguish tumor and normal tissues during surgical treatment of malignant tumors. Bioimpedance analysis is a possible method of diagnostics of tumors and intact tissues.

The purpose of the study To investigate biophysical characteristics of RS-1 tumor and surrounding tissues.

Materials and methods An experimental investigation was performed on 10 Wistar rats with transplanted RS-1 tumor (signet-ring cell carcinoma). Invasive bioimpedancemetry was produced by a device "BIM-II" for measuring the electrical impedance of biological tissues (Patent of Russian Federation № 2366360). After bioimpedancemetry histological examination was performed.

Results and their discussion Differences between impedance of tumor and intact tissue ($p < 0,05$) were revealed. Histological examination confirmed that the transplanted tumor was the signet-ring cell carcinoma (RS-1). There were not found any malignant cells in tissues surrounding the tumor during histological examination.

Conclusion An algorithm based on bioimpedance analysis for the verification of the tumor and intact tissue was developed.

Key words Experiment, tumor, intact tissue, bioimpedance analysis.

В настоящее время в мире, и в России в частности, отмечается постоянный рост абсолютного числа онкологических больных. Злокачественные новообразования по-прежнему продолжают занимать одно из ведущих мест в структуре причин смертности населения Российской Федерации наряду с сердечно-сосудистыми заболеваниями и травмами [11].

Успех хирургического лечения злокачественных опухолей во многом определяется удалением новообразования в пределах здоровых тканей, что может быть подтверждено срочным гистологическим исследованием края резекции. Однако и это не гарантирует предотвращение рецидива заболевания [11]. Так, в работе А.А. Невольских и соавт. (2010) показано, что у больных резектабельным раком прямой кишки даже в пределах визуально неизмененных тканей расстоя-

ние от опухоли до латерального края резекции кишки 3 мм и меньше является неблагоприятным прогностическим фактором выживаемости и отдаленного метастазирования [9].

С другой стороны, в ряде случаев, в частности, при меланоме кожи, отмечено, что широкое иссечение патологического образования не улучшает ни ближайшие, ни отдаленные результаты лечения. Именно поэтому очень важно четко определить границу между нормальными тканями и новообразованием [5, 8].

Для более точного определения степени инвазии злокачественной опухоли в окружающие ткани предложены компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, спектрофотометрические и оптические методы, ультразвуковое исследование, включая интраоперационные способы [2, 6, 7, 10, 12,

13]. Тем не менее, даже современные высокотехнологичные методы диагностики не показывают стопроцентную эффективность при исследовании новообразований [3, 4, 14].

Одним из возможных путей решения данной проблемы является исследование биофизических параметров, в частности, показателей электрического импеданса, опухолевой ткани. Нарушение обменных процессов в клетках злокачественных новообразований и кровоснабжения в опухоли приводят к тому, что изменяются и биофизические характеристики патологического очага [1]. Эти изменения могут быть выявлены при биоимпедансометрии опухолевой ткани.

Цель исследования: провести оценку биофизических параметров опухолевой ткани РС-1 относительно окружающих тканей.

Материалы и методы

Исследование проводилось на 10 крысах линии Вистар, обоого пола, массой 180-220 г. В ходе эксперимента животным прививали опухоль РС-1 (перстневидно-клеточный рак). Для этого у крысы-донора удаляли опухолевую ткань, которую механически размельчали, смешивали с физиологическим раствором в соотношении 1:10. Полученный гомогенат подкожно вводили крысе-реципиенту в наружную поверхность задней конечности. Перевитая опухоль приживалась и к 30 суткам опыта достигала необходимых для эксперимента размеров.

При проведении биоимпедансометрии у экспериментальных животных под общим обезболиванием удаляли шерстяной покров в проекции опухоли, операционное поле обрабатывали антисептиком. Производили разрез кожи в проекции опухоли. Вводили bipolarный электрод с ограничителем на глубину 3 мм в подкожно-жировую клетчатку отступая от края образования на 2 см и выполняли измерение электрического импеданса на частотах 2 кГц и 20 кГц в нескольких зонах, по направлению от интактной ткани к опухоли с шагом 5 мм. Затем измеряли импеданс в поверхностном слое опухоли в 3-х зонах с последующим расчетом средней величины.

Инвазивную биоимпедансометрию проводили с помощью bipolarных игольчатых электродов и оригинального устройства для измерения полного электрического сопротивления биологических тканей – ВІМ-II (Патент РФ № 2366360, ООО «Центр трансфера инновационных технологий», г. Смоленск).

Во всех зонах, где измеряли электрический импеданс, проводилось гистологическое исследование на предмет наличия опухолевых клеток.

Данные обрабатывали статистически с расчетом $M \pm m$ при нормальном распределении значений и Me (min; max) при непараметрическом распределении величин. Статистически значимыми считались значения $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Анализ полученных данных показал (табл. 1), что по направлению от периферических тканей к опухоли наблюдалась тенденция в сторону уменьшения электрического импеданса окружающей опухоль ткани от $1,92 \pm 0,08$ кОм до $1,63 \pm 0,07$ кОм на частоте 2 кГц и от $1,06 \pm 0,07$ до $0,93 \pm 0,05$ на частоте 20 кГц. Однако различия между зонами измерения в пределах нормальной ткани не были статистически значимыми.

Электрический импеданс подкожной поверхности опухоли составил $1,23 \pm 0,09$ на частоте 2 кГц и $0,62 \pm 0,05$ на частоте 20 кГц, что статистически значимо отличалось от показателей интактной ткани в любой зоне измерения.

Также была проведена оценка коэффициента дисперсии ($D_{2\text{кГц}/20\text{кГц}}$) окружающей опухоль ткани в различных зонах измерения на 2 и 20 кГц. Коэффициент дисперсии рассчитывается как отношение величины импеданса на 2 кГц к величине импеданса на 20 кГц в одной и той же зоне измерения (табл. 2). Медиана коэффициента дисперсии ($D_{2\text{кГц}/20\text{кГц}}$) окружающей опухоль ткани составила в различных зонах измерения от 1,71 (1,46; 1,89) до 1,81 (1,5; 2,02), а коэффициент дисперсии $D_{2\text{кГц}/20\text{кГц}}$ опухолевой ткани был 2,04 (1,6; 2,5) (различия статистически не значимы, $p > 0,05$).

Если оценивать тенденцию изменения коэффициента дисперсии $D_{2\text{кГц}/20\text{кГц}}$, то относительное его

Таблица 1

Средние значения электрического импеданса окружающей опухоль ткани в различных зонах измерения

Зона измерения	Электрический импеданс, кОм	
	M±m	
	2 кГц	20 кГц
2,0 см от опухоли	1,92±0,08	1,06±0,07
1,5 см от опухоли	1,83±0,12	0,99±0,08
1,0 см от опухоли	1,71±0,11	0,99±0,05
0,5 см от опухоли	1,72±0,11	0,91±0,05
На границе опухоли и нормальной ткани	1,63±0,07	0,93±0,05
Опухоль	1,23±0,09*	0,62±0,05*

Примечание: различия статистически значимы при $p < 0,05$

* между показателями импеданса опухоли и прилегающих тканей

Таблица 2

Средние значения коэффициента дисперсии окружающей опухоль ткани в различных зонах измерения

Зона измерения	Коэффициент дисперсии $D_{2\text{кГц}/20\text{кГц}}$		
	Me	min	max
2,0 см от опухоли	1,73	1,57	2,59
1,5 см от опухоли	1,87	1,58	2,44
1,0 см от опухоли	1,71	1,46	1,89
0,5 см от опухоли	1,92	1,63	2,07
На границе опухоли и нормальной ткани	1,81	1,5	2,02
Опухоль	2,04	1,6	2,5

Примечание: различия статистически не значимы при $p > 0,05$

повышение в опухоли закономерно, так как данный показатель отражает функциональную активность биологической ткани.

В ходе проведения биоимпедансного анализа опухоли РС-1 и прилежащих тканей был предложен и рассчитан коэффициент неоднородности (Кп) биологической ткани. Коэффициент неоднородности (Кп) показывает относительное различие между зонами измерения электрического импеданса и рассчитывается, как отношение показателей сравниваемых зон между собой.

Исходя из полученных данных, коэффициенты неоднородности (Кп) прилежащей к опухоли ткани в различных зонах измерения – 2 и 1,5 см от опухоли ($K_{n_{2/1,5}}$), 2,0 и 1,0 см от опухоли ($K_{n_{2/1}}$), 2,0 и 0,5 см от опухоли ($K_{n_{2/0,5}}$), 2 см от опухоли и на границе с опухолью ($K_{n_{2/гп}}$) – статистически значимо не различались между собой (табл. 3).

Суммарный коэффициент неоднородности нормальной ткани ($K_{пнорм. \text{ ткань}}$) составил 1,14 (0,62; 1,75) на частоте 2 кГц и 1,15 (0,56; 1,65) на частоте 20 кГц. Важно отметить, что коэффициенты неоднородности, рассчитанные в одной зоне, но на разных частотах также статистически значимо не различались. Таким образом, коэффициент неоднородности не зависит от частоты измерения электрического импеданса.

Оценка коэффициента неоднородности опухолевой ткани по сравнению с нормальной (табл. 4) – 2,0 см от опухоли ($K_{n_{2,0/он}}$), 1,5 см от опухоли ($K_{n_{1,5/он}}$), 1,0 см от опухоли ($K_{n_{1,0/он}}$), 0,5 см от опухоли ($K_{n_{0,5/он}}$), на

границе с опухолью ($K_{n_{гп/он}}$) – показала статистически значимые различия рассчитанных коэффициентов в сравнении с $K_{пнорм. \text{ ткань}}$ на частоте 20 кГц. Однако на частоте 2 кГц статистически значимо отличались от $K_{пнорм. \text{ ткань}}$ лишь коэффициенты $K_{n_{2,0/он}}$ и $K_{n_{1,5/он}}$. Причем различий между коэффициентами неоднородности опухолевой ткани в пределах одной частоты измерения обнаружено не было.

При гистологическом исследовании окружающих опухоль тканей опухолевых клеток обнаружено не было. Это является особенностью опухоли, так как она имеет капсулу и не прорастает окружающие ткани.

Ткань самой опухоли (рис. 1) была представлена однотипными диссоциированными клетками со слабо выраженными признаками формирования альвеолярных структур.

В основном опухолевые клетки располагались хаотично, солидно, были разделены слизью на расстоянии около одного диаметра клетки. Клетки опухоли были однотипные и несколько варьировали по размерам и форме, характеризовались мелкозернистой цитоплазмой, смещением округлых, либо бобовидных ядер к периферии. Сосудистая сеть имела у разных животных как умеренное, так и выраженное развитие. Имелись многочисленные обширные поля некроза и некробиоза, а также наблюдалось обилие апоптотических телец.

Таким образом, опухоль РС-1 представляла собой злокачественную солидно-альвеолярную опухоль

Таблица 3

Средние значения коэффициента неоднородности (Кп) нормальной биологической ткани в различных зонах измерения

Коэффициент неоднородности	2 кГц			20 кГц		
	Me	min	max	Me	min	max
$K_{n_{2/1,5}}$	1,03	0,78	1,41	1,04	0,67	1,56
$K_{n_{2/1}}$	1,14	0,7	1,75	1,11	0,56	1,46
$K_{n_{2/0,5}}$	1,22	0,62	1,34	1,35	0,61	1,49
$K_{n_{2/гп}}$	1,14	1,0	1,5	1,12	0,82	1,65
Суммарный коэффициент $K_{n_{норм. \text{ ткань}}}$	1,14	0,62	1,75	1,15	0,56	1,65

Примечание: различия статистически не значимы, $p > 0,05$

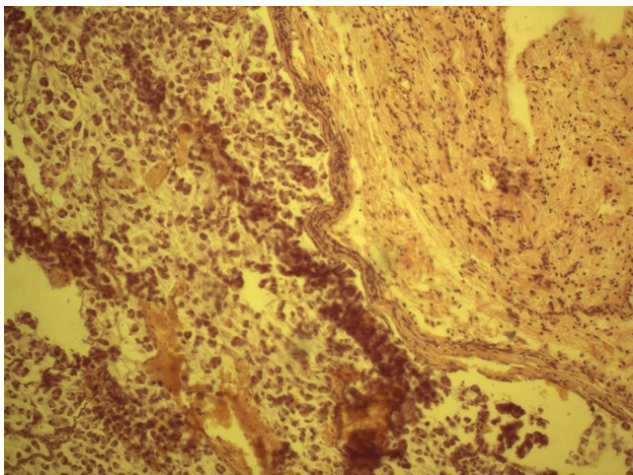


Рис. 1. Гистологическая картина опухоли РС-1. Окраска гематоксилином эозином, $\times 200$.

эпителиального генеза – перстневидно-клеточный рак.

Заключение. Показатели биоимпедансометрии опухоли РС-1 статистически значимо отличались от значений импеданса окружающих тканей. Это является результатом более высокой функциональной активности злокачественной опухоли по сравнению с нормальной тканью.

По мере роста и развития опухоли в нее активно врастают кровеносные сосуды. Однако темп прироста опухолевой ткани злокачественного новообразования значительно опережает неопластический ангиогенез. Это приводит к тому, что в центральной части опухоли наблюдается

недостаточное кровоснабжение, что в итоге ведет к некрозу патологического образования и, как следствие, его распаду. В результате гибели тканей происходит разрушение клеточных мембран и выход свободных ионов в межклеточное пространство. Следовательно, электропроводность ткани повышается, а ее электрическое сопротивление снижается.

Таким образом, в зонах злокачественной опухоли, где развиваются некрозы и кровоизлияния, регистрируются значительно более низкие показатели импеданса. Этим объясняется неоднородность данных биоимпедансометрии опухолевой ткани РС-1 по сравнению с интактными тканями.

Исходя из полученных нами данных, нормальная ткань однородна. Статистически значимых различий показателей импеданса в различных ее зонах выявлено не было. Это является дополнительным отличием интактной ткани от опухолевой.

Итак, опухолевая ткань РС-1 значительно отличается от нормальной по биоимпедансометрическим параметрам. В результате нашего исследования разработан алгоритм верификации опухоли от интактных тканей, в который входит измерение абсолютных величин электрического импеданса опухоли и окружающих тканей на двух частотах 2 кГц и 20 кГц с последующим расчетом коэффициентов дисперсии и неоднородности. Полученные данные, могут быть использованы в клинической онкологии для оценки объема операции при удалении новообразования.

Список литературы

1. Акоев И.Г. Биофизика познает рак. М.: Наука, 1988; 160.
2. Васильев А.Ю., Дудицкая Т.К., Викулова Ю.В. Сравнительный анализ возможностей мультиспиральной компьютерной томографии и магнитно-резонансной томографии в диагностике опухолей полости рта и ротоглотки. Радиология – практика 2013; 1: 4-10.
3. Васильев С.А., Сандриков В.А., Зувев А.А. и др. Интраоперационная сонография в хирургии опухолей головного мозга. Нейрохирургия 2009; 1: 36-43.
4. Годжелло Э.А., Булганина Н.А., Хрусталева М.В. Эндосонография – современный метод диагностики подслизистых образований желудочно-кишечного тракта. Эндоскопия 2012; 2: 3-11.
5. Демидов Л.В., Мартынова Е.В., Периханян Ф.К. Выбор оптимальных границ резекции при первичной меланоме кожи туловища и конечностей. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН 2003; 14: 2-1: 82-86.
6. Ивахно К.Ю., Карнаух П.А. Использование интраоперационного УЗИ при органосохраняющем лечении рака почки. Медицинский вестник Башкортостана, 2011; 6: 2: 253-255.
7. Киселев А.М., Есин И.В., Шикунова И.А. и др. Комбинированная нейронавигация в хирургии злокачественных опухолей головного мозга. Альманах клинической медицины, 2011; 25: 58-63.

References

1. Akoev I.G. *Biofizika poznaet rak* [Biophysics knows cancer]. Moscow, Nauka Publ., 1988. 160 p. - (In Russian)
2. Vasil'ev A.Iu., Duditskaia T.K., Vikulova Iu.V. Comparative analysis of possibilities of multislice computed tomography and magnetic resonance imaging in the diagnosis of tumors of the oral cavity and oropharynx. *Radiologiya – praktika*, 2013; 1: 4-10. - (In Russian)
3. Vasil'ev S.A., Sandrikov V.A., Zuev A.A. Intraoperative sonography in surgery of brain tumors. *Neirokhirurgiya*, 2009; 1: 36-43. - (In Russian)
4. Godzhello E.A., Bulganina N.A., Khrustaleva M.V. Endosonography - a modern method of diagnosis of submucosal structures of the gastrointestinal tract. *Endoskopiia*, 2012; 2: 3-11. - (In Russian)
5. Demidov L.V., Martynova E.V., Perikhanian F.K. The choice of the optimal limits of resection for the primary skin melanoma of trunk and extremities. *Vestnik RONTs im. N.N. Blokhina RAMN*, 2003; 14: 2-1: 82-86. - (In Russian)
6. Ivakhno K.Iu., Karnaukh P.A. The use of intraoperative ultrasound for conserving therapy of renal cancer. *Meditinskii vestnik Bashkortostana*, 2011; 6: 2: 253-255. - (In Russian)
7. Kiselev A.M., Esin I.V., Shikunova I.A. Combined neuronavigation in surgery of malignant brain tumors. *Al'manakh klinicheskoi meditsiny*, 2011; 25: 58-63. - (In Russian)

8. Лихванцева В.Г., Когония Л.М., Харлап С.И. Пат. 2320268 РФ, МПК7 А 61 В 8/00. Способ определения объема резекции тканей при меланоме кожи. № 2006125196/14; заявл. 13.07.2006; опубл. 27.03.2008. Бюл. 9: 8.
9. Невольских А.А., Бердов Б.А., Неборак Ю.Т., Силантьева Н.К., Ланцов Д.С. Латеральный край резекции как фактор прогноза при раке прямой кишки. Сибирский онкологический журнал 2010; 5: 41: 5-10.
10. Петрова Е.А., Березовская Т.П., Карякин О.Б. и др. Локализованный рак предстательной железы: возможности магнитно-резонансной томографии с гибкой матричной катушкой в выявлении минимального экстракапсулярного распространения опухоли. Онкоурология 2012; 4: 53-58.
11. Чиссов В.И., Давыдов М.И. Онкология: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа 2013; 1072.
12. Шахова Н.М., Артифексова А.А., Геликонов Н.Д. и др. Оптическая томография в диагностике онкологических заболеваний. Материалы 13 Российского онкологического конгресса. М.: Издательская группа ГУ РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН 2009: 390-391.
13. Tsujimoto H., Ichikura T., Aiko S. et al. Multidetector-computed tomography attenuation values between the tumor and aortic wall in response to induction therapy for esophageal cancer and its predictive value for aortic invasion. *Experimental and therapeutic medicine*, 2012; 3: 2: 243-248.
14. Vasile T.A., Feier D., Socaciu M. et al. Contrast enhanced ultrasound and computer tomography diagnosis of solid and mixed pancreatic tumors – analysis of confounders. *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases* 2012; 21: 3: 285-292. Поступила 16.02.2013 г.
8. Likhvantseva V.G., Kogoniia L.M., Kharlap S.I. *Sposob opredeleniia ob"ema rezeksii tkanei pri melanome kozhi* [The method for determining the amount of tissue resected skin melanoma]. Patent RF, no. 2006125196/14, 2008. - (In Russian)
9. Nevol'skikh A.A., Berdov B.A., Neborak Iu.T., Silant'eva N.K., Lantsov D.S. The lateral resection margin as a prognostic factor for rectal cancer. *Sibirskii onkologicheskii zhurnal*, 2010; 5: 41: 5-10. - (In Russian)
10. Petrova E.A., Berezovskaia T.P., Kariakin O.B. Localized prostate cancer: possibilities of magnetic resonance imaging with a flexible matrix coil to identify the minimum of extracapsular tumor spread. *Onkourologiia*, 2012; 4: 53-58. - (In Russian)
11. Chissov V.I., Davydov M.I. *Onkologiia: natsional'noe rukovodstvo* [Oncology: the national manual]. Moscow, GEOTAR-Media Publ., 2013. 1072 p. - (In Russian)
12. Shakhova N.M., Artifeksova A.A., Gelikonov N.D. [The optical imaging in the diagnosis of cancer]. *Materialy 13 Rossiiskogo onkologicheskogo kongressa* [Proc. 13th Russian Cancer Congr.] Moscow, 2009, 390-391. - (In Russian).
13. Tsujimoto H., Ichikura T., Aiko S. et al. Multidetector-computed tomography attenuation values between the tumor and aortic wall in response to induction therapy for esophageal cancer and its predictive value for aortic invasion. *Experimental and therapeutic medicine*, 2012; 3: 2: 243-248.
14. Vasile T.A., Feier D., Socaciu M. et al. Contrast enhanced ultrasound and computer tomography diagnosis of solid and mixed pancreatic tumors – analysis of confounders. *Journal of Gastrointestinal and Liver Diseases*, 2012; 21: 3: 285-292.

Received 16.02.2013

Информация об авторах

1. Панченков Дмитрий Николаевич – д.м.н., проф., зав. кафедрой хирургии ФПДО и лабораторией минимально инвазивной хирургии НИМСИ Московского государственного медико-стоматологического университета им. А.И. Евдокимова; e-mail: dnpanchenkov@mail.ru
2. Леонов Сергей Дмитриевич – к.м.н., доц. кафедры хирургии ФПДО и докторант лаборатории минимально инвазивной хирургии НИМСИ Московского государственного медико-стоматологического университета им. А.И. Евдокимова; e-mail: leonov-serg@yandex.ru
3. Родин Антон Викторович – к.м.н., асс. кафедры общей хирургии с курсом хирургии ФПК и ППС Смоленской государственной медицинской академии; e-mail: doc82@yandex.ru

Information about the Authors

1. Panchenkov D.– MD, PhD, Professor of Surgery, Chief, Department of Surgery and Laboratory of Minimally Invasive Surgery, A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry
2. Leonov S. – MD, PhD, Associate Professor, Department of Surgery and Laboratory of Minimally Invasive Surgery, A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry
3. Rodin A. – MD, PhD, Assistant Professor, Department of General Surgery, Smolensk State Medical Academy