

FURYE ÇEVİRİCİ İNFRAQIRMIZI SPEKTROSKOPIYANIN TƏTBİQİ İLƏ İNSANIN SAĞLAM VƏ AĞCIYƏR ADENOKARSİNOMASI HALINDA PLAZMA-LİPID MODELİNİN DİAQNOSTİK MÜMKÜNLÜYÜ

A.H. AYDƏMİROVA¹, L.Ə. MƏLİKOVA^{1,2}, O.K. QASIMOV¹

¹ *Azərbaycan Elm və Təhsil Nazirliyinin Biofizika İnstitutu
AZ1141, Bakı ş., Z.Xəlilov küç., 117*

² *AR SN Milli Onkologiya Mərkəzi, H.Zərdabi küç., 79B
oktaygasimov@gmail.com*

Əvvəlki işimizdə süni intellekt vasitəsi ilə ağciyər karsinoması və sağlam insanların qan plazması nümunələrinin furiye çevirici infraqırmızı (FÇİQ) spektrləri əsasında klassifikasiyası verilmişdir. Müxtəlif statistik metodları “Linear SVM” (support vector machine), “PLS-DA” (partial least squares discriminant analysis) və “Random Forest” tətbiq etməklə xəstə və sağlam qrupu müvafiq olaraq 90% və 80% dəqiqliklə identifikasiya etməyə imkan vermişdir. Bu tədqiqat işində plazma nümunələri ilə yanaşı onlardan ekstraksiya edilmiş lipid fraksiyası da klassifikasiya üçün analiz edilmişdir. Belə ki, hər bir nümunə plazma-lipid sistemi kimi birgə analiz edilmişdir.

Lipid fraksiyasının FÇİQ spektrlərindəki çoxsaylı piklərin müvafiq plazma nümunələrində müşahidə olunmaması xəstəliyin spektrlərə görə klassifikasiyasına komplementar dəyər verir və bununla da onun dəqiqliyini artırır. Bu məqsədlə 50 xəstə və 49 sağlam insanların qan plazması və onlardan ekstraksiya edilmiş lipid nümunələrinin FÇİQ spektrləri çəkilmişdir. Xəstə və sağlam qruplar arasında ən çox fərq plazmada 3280 sm^{-1} , 3060 sm^{-1} , 2960 sm^{-1} , 2930 sm^{-1} və 1245 sm^{-1} , lipid fraksiyasında isə 3016 sm^{-1} , 2920 sm^{-1} , 1650 sm^{-1} və 1215 sm^{-1} pik ətraflarında müşahidə edilmişdir. Plazma və lipid nümunələrinin infraqırmızı spektrlərində standart kənarçıxmanın hüdudlarından xaricdə qalan hissəsi xəstəliyin təyində ilkin diaqnostik marker kimi istifadə edilməyə imkan verir.

Açar sözlər: ağciyər adenokarsinoması, qan plazması, qan plazması lipidləri, FÇİQ spektroskopiyası.

PACS: 87.64.Ve

GİRİŞ

Xərçəng xəstəlikləri arasında ikinci yeri tutan və biotibbin mühüm prioritet məsələlərindən birinə çevirilən ağciyər xərçəngi hər il yüz minlərlə insanın həyatına son qoyur [1, 2]. Bu göstərici iqtisadi cəhətdən inkişaf etmiş ölkələrdə təxminən 18-23% təşkil edir [4]. Kiçik olmayan hüceyrə xərçənginin növlərindən biri hesab edilən ağciyər adenokarsinoması əsasən sürətli inkişaf xüsusiyyətinə görə səciyyəlidir [4, 5]. Ağciyər adenokarsinoması ağciyər toxumasının sekretor epitel hüceyrələrindən meydana gəlir [4]. Qadın və kişilər arasında bu növ xərçəngə məruz qalma tendensiyası və coğrafi qanunauyğunluqlar mühüm əhəmiyyət kəsb etsə də, ilkin olaraq bütün istifadəsində tarixi, mədəni və regional fərqlər mühüm səbəb kimi göstərilir [1,2]. Siqaret çəkməyən qadınlarda ağciyər xərçəngi xəstəliyinin artması bu istiqamətə marağı daha da gücləndirmişdir [5]. Xərçəngin inkişaf mərhələsinə və əlamətlərinə əsaslanaraq demək olar ki, xəstəliyin inkişafı fərdi xarakter daşıyır və ətraf mühit eləcə də genetik risk faktorları mühüm rol oynayır. Xəstəliyin qeydə alınması vaxtından sonrakı 5 il müddətində sağqalma faizi xərçəngin erkən aşkar edilməsindən kəskin aslıdır [10].

Müasir diaqnostik metodlardan hesab edilən kompüter tomoqrafiyası (KT), pozitron-emissiyası tomoqrafiyası (PET), maqnit rezonans tomoqrafiya (MRT) bir sıra xəstəliklərin aşkarlanmasında və müvafiq müalicə üsullarının həyata keçirilməsində mühüm əhəmiyyətə malikdir. Lakin, əksər hallarda belə innovativ avadanlıqların bahalı və vaxt aparıcı olması onların geniş tətbiqlərinə imkan vermir [4,10].

İnfraqırmızı spektroskopiyası kimyəvi rabitələrin müxtəlif tip rəqslərinə əsaslanaraq funksional qrupların

təyininə və bununla da qandan toxumaya qədər baş verən dəyişiklikləri qeyd etməyə imkan verir. Beləliklə, FÇİQ ölçmələrinin ucuz, sürətli eyni zamanda yüksək həssaslığa malik olmasını nəzərə alsaq, bu metod xərçəng xəstəliklərinin ilkin vaxtlarda aşkarlanması üçün yaxşı skrining vasitəsi ola bilər [4, 7, 10-14].

Qan plazması, zərdab, tüpürçək və ya sidiyin toplanmasının asan və qeyri-invaziv olması səbəbindən onlar əsasən yaradılan diaqnostik metodların mühüm əhəmiyyəti vardır [7]. Tədqiqat işində insan qan plazmasının və plazmadan alınmış lipid fraksiyasının birgə FÇİQ spektral analizi ilə xərçəng xəstəliyinin klassifikasiyasının mümkünlüyünə baxılmışdır. Eləcə də, sağlam və xəstə qrupu ayırd edən uyğun piklərin funksional təbiəti təhlil edilmişdir [4, 7].

MATERİALLAR VƏ METODLAR

Qan plazma nümunələrin hazırlanması.

Təqdim olunan işdə venoz qan nümunələri AR Səhiyyə Nazirliyinin Milli Onkologiya Mərkəzi tərəfindən Helsinki bəyannaməsinin müddəalarına müvafiq qaydada 50 xəstə (yaş həddi 31-76) və 49 sağlam insandan (yaş həddi 29-72) toplanmışdır. Qan laxtalanmasının qarşısını almaq üçün nümunələr EDTA (etilendiamintetraasetik) turşu tərkibli sınaq şüşələrinə yığılmışdır. Plazmadan başqa qanı təşkil edən digər komponentlər məsələn, eritrositlər, trombositlər, leykositlər 10 dəqiqə ərzində 10000 dövr/dəq olmaqla sentrifüqa vasitəsilə çökdürüldükdən sonra supernatant hissə təcürübəyə qədər -20°C temperaturda saxlanılmışdır. Barmaq ucundan götürülən qana hüceyrəarası maye qarışdırılma görə işdə yalnız venoz qan nümunələri istifadə edilmişdir.

Qan plazmasından lipidlərin ekstraksiyası.

Lipidlərin ekstraksiyası üçün geniş istifadə olunan protokola uyğun olaraq xloroform/metanol qarışığından istifadə edilmişdir [19]. Əvvəlcə, 300 µl plazmanın üzərinə eyni həcmdə xloroform və 600 µl metanol əlavə edilmişdir (məhlul 1:1:2). Bu zaman alınan bircins məhlul 2 dəqiqə ərzində “vorteks” edilmişdir. Lipid fraksiyasını ayırmaq üçün alınmış məhlulun üzərinə yenidən 300 µl xloroform əlavə edərək (alınan məhlul 1:2:2) daha 30 saniyə ərzində “vorteks” edilmişdir. Sonra alınmış məhlulu 10 dəqiqə ərzində 1000 dövr/dəq sentrifüqada fırlatmaqla məhlul iki fazaya ayrılmışdır. Nəticədə, yuxarı fazada hidrofil birləşməni əmələ gətirən su və metanolun qarışığı, aşağı fazada isə lipid fraksiyasının həll olduğu xloroform ayrılmışdır. Aşağı faza ehməlcə götürüldükdən sonra xloroform qaz halında olan azotla buxarlandırılmışdır. Lipid çöküntüsü soyuducuda təcrübəyə kimi -20°C temperaturda saxlanılmışdır.

Furye Çevirici İnfraqırmızı Spektroskopiya.

Ölçmələr FÇİQ spektrometri (VERTEX 70V, Bruker, Almaniya) vasitəsilə BioATR (ZnSe) aksesuarında həyata keçirilmişdir. Qan plazması sulu məhlul olduğuna görə, əvvəlki işlərimizə müvafiq qaydada 3µl həcmdə öncə su, daha sonra plazma nümunələrinin infraqırmızı spektrləri çəkilmişdir. Suyun FÇİQ spektri qan plazmasının spektrlərində onun payını çıxmaq üçün istifadə edilmişdir. Hər bir lipid fraksiyası ölçmələrində onların xloroform məhlulundan istifadə edilmişdir. Bu məqsədlə, plazma nümunələrinin FÇİQ spektrlərində suyun spektri çıxılır və onun intensivliyi elə dəyişdirilir ki, alınan spektrdə 2000-2370 sm^{-1} hissə kifayət qədər hamar olsun. Qeyd edək ki, 2000-2370 sm^{-1} spektral diapazonda yalnız suyun payı var.

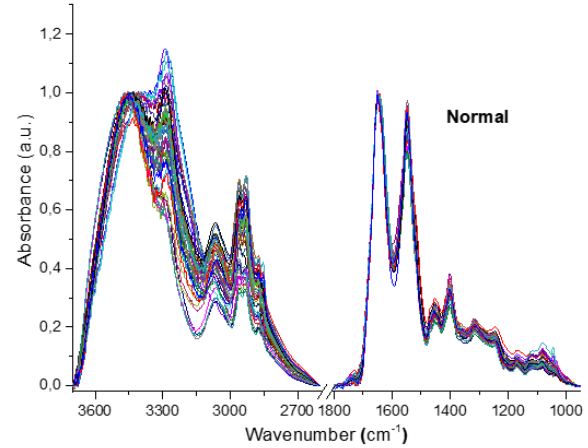
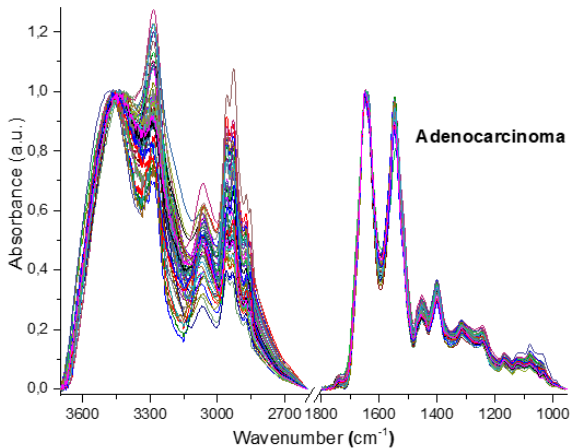
Nümunələr termostat vasitəsi ilə 20°C -ə temperaturda çəkilmişdir. Plazma nümunəsinin stabil temperaturu alması üçün 10 dəqiqə gözlənilmişdir. Bu yanaşma spektral çıxılma zamanı kənar faktorların meydana gəlməsinin qarşısını alır. Hər bir lipid məhlulundan 3µl götürülərək ZnSe kristalının üzərinə tam yayılmışdır. Maye hissə buxarlandırıldıqdan sonra ölçmələrə başlanılmışdır.

Plazma və lipid nümunələri orta-Infraqırmızı (400-4000 sm^{-1}) spektral diapazonda çəkilmişdir. Cihazın spektral ayırdetməsi 2 sm^{-1} seçilmişdir. Hər bir nümunə üçün 512 sayda spektr ortalanmışdır.

Tədqiq edilmiş hər bir nümunənin FÇİQ spektrləri çəkildikdən sonra baza xəttinin korreksiyası aparılmışdır. Daha sonra uyğun olaraq plazma və lipid nümunələrini təsvir edən hər bir spektr “barmaq izi” (890-1800 sm^{-1}) və “funksional qrup” (2600-3700 sm^{-1}) hissələrinə bölünmüşdür. Plazmadan alınan spektrlərdə, “funksional qrup” və “barmaq izi” hissələri uyğun olaraq 3500 sm^{-1} və Amid I (1648 sm^{-1}) pik nöqtələrinə görə normallaşdırılmışdır. Lipid fraksiyalarının FÇİQ spektrlərində isə 2920 sm^{-1} və 1740 sm^{-1} pik mövqələrinə görə amplituda görə normallaşdırılma aparılmışdır.

NƏTİCƏLƏR VƏ MÜZAKİRƏ

Materiallar və metodlar hissəsində qeyd edildiyi kimi, həm sağlam, həm də xəstə qrup insanların qan plazması və ondan alınan lipid nümunələrini xarakterizə edən infraqırmızı spektrlər “barmaq izi” və “funksional qrup” hissə olaraq iki yerə ayrılmışdır. Seçilmiş diapozonlar plazma nümunələri üçün (950-1800 sm^{-1}) və (2600-3700 sm^{-1}) olmuşdur.



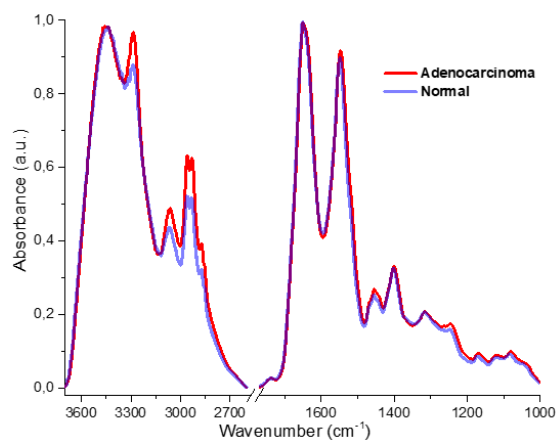
Şəkil 1. Ağciyər adenokarsinoması və sağlam qrupu təşkil edən insanların qan plazmasının 1648 sm^{-1} və 3500 sm^{-1} piklərinin amplitudlarına görə normallaşdırılmış infraqırmızı spektrləri.

Şəkil 1-də həm ağciyər adenokarsinoması, həm də sağlam insanların qan plazma nümunələrinin amplituda 3500 sm^{-1} və Amid I (1648 sm^{-1}) qrupuna görə normallaşdırılmış infraqırmızı spektrləri verilmişdir. Göründüyü kimi hər iki qrupa məxsus piklərin mövqeyində kiçik variasiyaların müşahidə olunmasına baxmayaraq, piklərin amplitudları ilə əlaqədar fərqlər əhəmiyyətli dərəcədə nəzərə çarpır. Spektral diapazon boyunca mü-

şahidə olunan fərqli hissələr əsasən 3280 sm^{-1} (Amid A qrupunun O-H simmetrik uzanması), 2960 sm^{-1} (CH_2 qrupunun asimmetrik C-H uzanması), 2930 sm^{-1} (CH_2 asimmetrik uzanma), 2870 sm^{-1} (CH_2 qrupunun C-H simmetrik uzanma) və 1240 sm^{-1} (nuklein turşularının PO_2^- simmetrik və antisimmetrik uzanması) pikləri ətrafındadır. Şəkil 2-də verilmiş ortalanmış FÇİQ spektrlərində intensivliklə əlaqədar qeyd olunan fərqlər daha

aydın görünür. Qeyd etmək lazımdır ki, ağciyər adenokarsinoması xəstələrinin qan plazmasının infraqırmızı spektrlərində komponentlərlə bağlı dəyişikliklər xəstəliyin mərhələsindən asılı olaraq onun çoxfaktorlu olması ilə əlaqədar ola bilər. Spektral diapazonun təxminən 3460 sm^{-1} , 3290 sm^{-1} , 2960 sm^{-1} , 2870 sm^{-1} , 1730 sm^{-1} , 1650 sm^{-1} , 1548 sm^{-1} , 1316 sm^{-1} , 1170 sm^{-1} pik ətraflarında fərqlər müşahidə olunmasa da, bu hissələrdə piklərin amplitudları ilə bağlı dəyişikliklər klassifikasiya üçün mühüm rol oynaya bilər. Qeyd olunan 3286 sm^{-1} , 3066 sm^{-1} və 1734 sm^{-1} piklərin amplitudunda xəstə qrupda sağlam qrupa nəzərən artma müşahidə olunsada, 3458 sm^{-1} və 1170 sm^{-1} hissələrdə azalma vardır [6, 7, 11, 13].

Həm xəstə, həm də sağlam insanların qan plazması spektrlərindəki piklərin sürüşmələri və intensivlikləri ilə əlaqədar xüsusiyyətlər və onların aid olduğu valent rəqsləri cədvəl 1-də göstərilmişdir.



Şəkil 2. Ağciyər adenokarsinoması (qırmızı) və sağlam qrupu (göy) təşkil edən insanların qan plazmasının ortalanmış FÇİQ spektrləri (şəkil 1-də göstərilmiş).

Cədvəl 1.

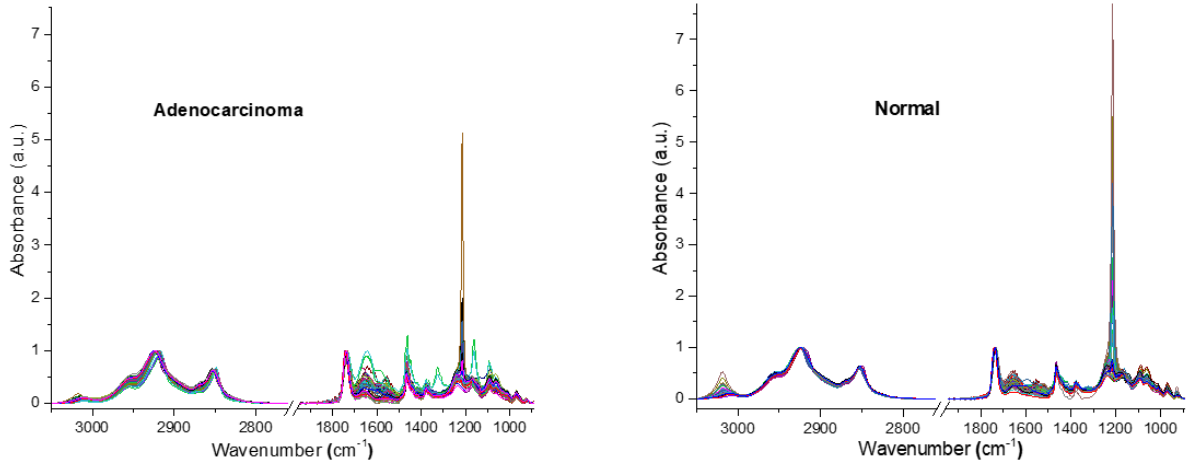
Ağciyər karsinoması və sağlam insanların qan plazmasının infraqırmızı spektrlərində təsnifat üçün xarakteristik olan piklərin təsviri.

Pikin mövqeyi adenokarsinoma (v sm^{-1})	Pikin mövqeyi sağlam (v sm^{-1})	Spektral piklərin təsnifatı	İstinadlar
3445	3450	O-H antisimmetrik uzanma	[13]
3286	3288	Amid A qrupunun O-H simmetrik uzanması	[11,13]
3066	3066	C ₂ aromatik uzanma	[13]
2960	2958	CH ₂ qrupunun antisimmetrik C-H uzanması	[11-13]
2932	2934	CH ₂ antisimmetrik uzanma	[11,13]
2874	2874	CH ₂ qrupunun C-H simmetrik uzanması	[11-13]
2856	2853	Lipidlərdə CH ₂ uzanması	[13]
1734	1734	C=O uzanma	[13]
1650	1650	Zülalların Amid I qrupu	[6,9,11-13]
1548	1548	Zülalların Amid II qrupu	[6,9,11-13]
1454	1456	Antisimmetrik metil deformasiyası	[7,9,11-13]
1316	1316	Zülalların Amid III qrupu	[11-13]
1246	1247	Nuklein turşularının PO ₂ ⁻ simmetrik və antisimmetrik uzanması	[6,7,11-13]
1170	1168	Zülallarda C-O(H) uzanma	[6,7,11,13]

Xolesterol, fosfolipidlər və zülallar hüceyrə komponentlərinin əsasını təşkil edir və bu molekullarda baş verən dəyişikliklər həmçinin $2800\text{--}3500\text{ sm}^{-1}$ oblastında da görünür. Spektral diapazonda $3200\text{--}3500\text{ sm}^{-1}$ oblastı su molekulu aid simmetrik və antisimmetrik rəqslərlə əlaqədar olduğundan bu hissə ətraflı təhlil üçün əlverişli hesab edilmir [14]. 2960 sm^{-1} dalğa ədədi ətrafında (CH₂ qrupunun antisimmetrik C-H uzanması) xərçəng xəstəliyini təsvir edən pikin sağlam ilə müqayisəsində daha intensiv olması karsinogenez zamanı hüceyrə proliferasiyası, və ya hüceyrə prosesləri zamanı zülal artıqlığı ilə izah edilə bilər [15]. Adenokarsinoma xəstələrində 1245 sm^{-1} (nuklein turşularının PO₂⁻ simmetrik və antisimmetrik uzanması) pikin amplitudu normala nisbətən daha böyükdür. Bu faktı xərçəng xəstələrində hüceyrələrin daha yüksək sürətlə dağılıb nuklein turşularının qana keçməsi ilə izah etmək olar [4, 6, 7]. “Barmaq izi” oblastında müşahidə edilən və zülallara məxsus Amid I qrupu çox həssas hesab edilir və zülalların ikinci quruluşunun öyrənilməsində mühüm rola malikdir. Bu səbəbdən, A₁₆₅₀/A₁₅₄₈ nisbətinin sağlam qrupa nəzərən xəstə qrup üçün daha aşağı olması

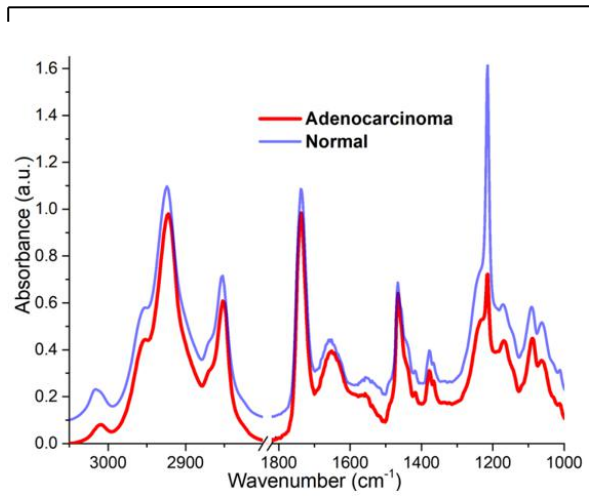
xəstəliyin təyində mühüm biomarker kimi istifadə edilə bilər. Qeyd edilən nisbət N-H əylmə və karbonil qrupuna aid olan C-N rabitələrinin xəstə qrupda daha aşağı olması ilə səciyyələnir. Eləcə də, A₂₉₅₉/A₁₅₄₈ nisbətinin xəstə qrupda sağlam qrupla müqayisədə böyük olması uyğun olaraq lipid miqdarının zülal miqdarına nisbətən çox olması ilə izah oluna bilər [7]. Ağciyər adenokarsinoması və sağlam qrupun müqayisəsində uyğun pik amplitudlarının nisbətləri ilə əlaqədar ətraflı təhlil əvvəlki işimizdə öz əksini tapmışdır [8].

Lipid fraksiyalarının FÇİQ spektrlərinin statistik analizi qan plazması tədqiqatlarına müvafiq olaraq aparılmışdır. Lipid nümunələri üçün spektrlər ($890\text{--}1800\text{ sm}^{-1}$) və ($2750\text{--}3050\text{ sm}^{-1}$) diapazonlarına ayrılmışdır. Şəkil 3-də həm xəstə, həm də sağlam insanların qan plazmalarından ekstraksiya edilmiş lipid nümunələrinin amplitudu, yəni 2920 sm^{-1} və 1740 sm^{-1} pik ətraflarına görə normallaşdırılmış infraqırmızı spektrləri verilmişdir. Daha sonra hər iki diapazon yenidən birləşdirilərək tam spektr halına gətirilmişdir.



Şəkil 3. Ağciyər adenokarsinoması və sağlam qrupu təsvir edən qan plazması lipid fraksiyalarının amplituda görə normallaşdırılmış infraqırmızı spektrləri.

Şəkil 4-də analoji qaydada lipid nümunələrinin amplituda görə normallaşdırılmış spektrləri əsasında ortalanmış FÇİQ təsvirləri nümayiş etdirilmişdir. Həm xəstə, həm də sağlam qrupu təsvir edən spektr boyunca bəzi piklərin mövqeyi üst-üstə düşsə də, müəyyən hissələrdə sürüşmənin olması aydın görünür. İnfraqırmızı diapazonun kiçik dalğa ədədlərinə doğru nəzər salsaq 3016 sm^{-1} (doymamış yağ turşularının C-H valent rəqsləri), 2952 sm^{-1} (doymuş yağ turşularının CH_3 antisimmetrik valent rəqsləri), 2924 sm^{-1} (doymuş yağ turşularının CH_2 antisimmetrik valent rəqsləri), 1656 sm^{-1} (sfinqolipidlər (Amid I qrupu)), 1238 sm^{-1} (fosfolipidlər, xolesterol (PO_2^-) antisimmetrik valent rəqsləri), kimi bəzi pik mövqeləri sağlam qrup üçün xarakteristik olsa da, xəstə qrupda sürüşmə müşahidə olunmuş və müvafiq olaraq bu fərqlər 3010 sm^{-1} , 2954 sm^{-1} , 2922 sm^{-1} , 1652 sm^{-1} , 1234 sm^{-1} hissələrdə qeydə alınmışdır. Xəstə qrup ilə müqayisədə ən kəskin dəyişikliklər sağlam qrupda 3016 sm^{-1} , 2924 sm^{-1} , 1656 sm^{-1} və 1214 sm^{-1} pik mövqelərində müşahidə edilmişdir. Eləcə də, xəstə qrupa aid 2922 sm^{-1} , 2852 sm^{-1} (doymuş yağ turşularının CH_2 simmetrik uzanması), 1464 sm^{-1} (yağ turşularının CH_2 deformasiya rəqsləri) pik amplitudlarında artma olsa da, sağlam qrupda 3010 sm^{-1} , 1554 sm^{-1} (sfinqolipidlər (Amid II qrupu)), 1214 sm^{-1} (PO_2^- antisimmetrik uzanma) və 1065 sm^{-1} (sfinqolipidlər, xolesterol (C-O-H valent rəqsləri)) mövqelərdə artma qeydə alınmışdır. Amma buna baxmayaraq, 2868 sm^{-1} (doymuş yağ turşularının CH_3 simmetrik uzanması), $1736\text{-}1737 \text{ sm}^{-1}$ (fosfolipidlər, xolesterol efiri (C=O valent rəqsləri)), $1652\text{-}1656 \text{ sm}^{-1}$, 1378 sm^{-1} (yağ turşularının CH_3 deformasiya rəqsləri), 970 sm^{-1} (fosfatidilxolin, sfinqomiyelin; ($\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ antisimmetrik uzanma) və 926 sm^{-1} (fosfatidilxolin, sfinqomiyelin; ($\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ simmetrik uzanma) hissələrdə hər iki qrupa məxsus piklərin amplitudlarının müqayisəsində fərqlər müşahidə edilməmişdir. Ümumiyyətlə, spektral diapazonun $1800\text{-}700 \text{ sm}^{-1}$ oblastı müxtəlif funksional qruplar töhvə verdiyinə görə daha informativdir. “Barmaq izi” zonası kimi xarakterizə olunan bu hissə dörd aromatik xolesterol halqası, fosfolipidlərin qliserin əsaslı birləşməsini, sfinqolipidlərin seramid özəyi, hidrofob baş qrupunu və hidrofob yağ turşu zəncirinin C-H qrupları ilə səciyyələnir.



Şəkil 4. Ağciyər karsinoması (qırmızı) və sağlam qrupu (göy) təşkil edən insanların ekstraksiya edilmiş lipid nümunələrinin amplituda görə ortalanmış FÇİQ spektrləri. Spektrlərdəki fərqləri aydın görmək üçün sağlam nümunənin spektri vertikal sürüşdürülmüşdür.

Sadalanan valent rəqs piklərinə əsaslanaraq demək olar ki, A_{2924}/A_{2852} nisbəti sağlam və ağciyər karsinoması qrupunun fərqləndirilməsində biomarker rolunu oynayır və xərçəng qrup üçün bu ədəd 1,88, sağlam qrup üçün isə 2,05-ə bərabərdir. Bu hal əsasən xərçəng hüceyrələrində metil qruplarının nisbi sayının azalması hesabına baş verir. Digər tərəfdən CH_2 və CH_3 qruplarına aid piklərin nisbəti lipidlərdə karbohidrat zəncirinin uzunluğu haqqında məlumat verir. Xərçəng hüceyrələrində metil qruplarının sayının azalması kanserogen xəstəliyinin yaranmasının əlamətləri ilə müşayiət olunur [21, 22]. Eləcə də, 1740 sm^{-1} pik ətrafında hüceyrə membran lipidlərində baş verən daha bir dəyişiklik sağlam və adenokarsinoma qruplarının fərqləndirilməsində mühüm əhəmiyyətə malikdir. Xərçəng xəstəliyini təsvir edən pikin intensivliyinin sağlam qrupla müqayisədə kiçik olması hüceyrə membran lipidlərində C=O qrupu hesabına baş verir [22, 23]. İntensivliklə əlaqədar baş verən azalma birbaşa fosfat turşusunun iştirakı olmadan lipoik turşusunun O-H rabitəsinin karbonil qruplarının hidrogen rabitəsinin hesabına fosfolipidlərlə qarşılıqlı təsirinə əsaslanır [22, 24]. Sağlam

qrupla müqayisədə 1464 sm^{-1} pik mövqeyinə yaxın hissədə xəstə qrupu təsvir edən pikin intensivliyi 1378 sm^{-1} hissədə olan pikin intensivliyinə nəzərən daha böyükdür və $A_{1464/1378}$ intensivliklər nisbəti sağlam

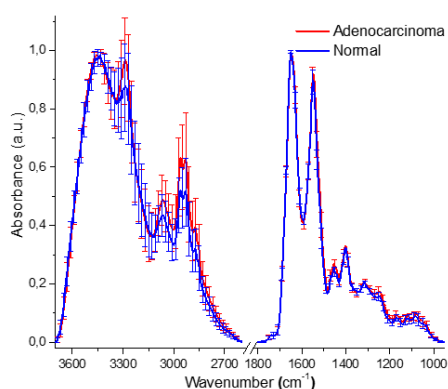
qrupa nəzərən xərçəng qrupda daha kiçik qiymətə malikdir [19].

Lipid nümunələrinin spektrləri boyunca meydana gələn piklərin xarakteristikaları və onların məxsus olduqları valent rəqsləri cədvəl 2-də verilmişdir.

Cədvəl 2.

Ağciyər karsinoması və sağlam insanların qan plazmasından ekstraksiya edilmiş lipid nümunələrinin infraqırmızı spektrlərində təsnifat üçün xarakteristik olan piklərin təsviri.

Pikin mövqeyi adenokarsinoma (v sm^{-1})	Pikin mövqeyi sağlam (v sm^{-1})	Spektral piklərin təsnifatı	İstinadlar
3010	3016	Doymamış yağ turşuları C-H valent rəqsləri	[21,25]
2954	2952	Doymuş yağ turşularının CH_3 antisimmetrik valent rəqsləri	[14,20,21,25]
2922	2924	Doymuş yağ turşularının CH_2 antisimmetrik valent rəqsləri	[14,20,25]
2868	2868	Doymuş yağ turşularının CH_3 simmetrik uzanması	[14]
2852	2852	Doymuş yağ turşularının CH_2 simmetrik uzanması	[14,20,21,22,25]
1736	1738	Fosfolipidlər, xolesterol efiri (C=O valent rəqsləri)	[14,20,22,25]
1652	1656	Sfinqolipidlər (Amid I qrupu)	[14,25]
1554	1556	Sfinqolipidlər (Amid II qrupu)	[14,25]
1464	1464	Yağ turşularının CH_2 deformasiya rəqsləri	[14,25]
1378	1378	Yağ turşularının CH_3 deformasiya rəqsləri	[14,25]
1234	1238	Fosfolipidlər (PO_2^-) antisimmetrik valent rəqsləri	[14,25]
1214	1214	PO_2^- antisimmetrik uzanma	[14]
1088	1092	Fosfolipidlər, (PO_2^-) simmetrik valent rəqsləri	[14,25]
1062	1062	Sfinqolipidlər, xolesterol (C-O-H valent rəqsləri)	[14,25]
970	970	Fosfatidilxolin, sfinqomiyelin; ($\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ antisimmetrik uzanma)	[14,25]
926	926	Fosfatidilxolin, sfinqomiyelin; ($\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$ simmetrik uzanma)	[14]



Şəkil 5. Ağciyər adenokarsinoması və sağlam qrupun plazma (sol) və ekstraksiya edilmiş lipid (sağ) nümunələrinin infraqırmızı spektrləri əsasında standart kənaraxıxma

Şəkil 5-də ağciyər adenokarsinoması və sağlam qrup üçün “barmaq izi” və “funktional qrup” oblastlarına görə plazma və ondan ekstraksiya edilmiş lipid nümunələrinin infraqırmızı spektrləri əsasında standart kənaraxıxma təqdim edilmişdir. Standart kənaraxıxma həddlərindən xaricdə qalan hissələrə uyğun plazma və lipid piklərinə əsasən xəstə və sağlam qrupları diskriminasiya etmək mümkündür. Müvafiq olaraq plazma və lipid nümunələri üçün, 3080-2770 sm^{-1} (CH_2 qrupunun simmetrik və antisimmetrik uzanması) və 1700-1500 sm^{-1} və 1200-1090 sm^{-1} (sfinqolipidlərə məxsus Amid I, Amid II qrupları və fosfolipidlərə məxsus antisimmetrik, simmetrik uzanma) diapazonlarında xəstə və sağlam qrupu bir-birindən ayırd etmək üçün spektr

həddlərindən xaricdə qalan hissələr mühüm fərq hesab olunur [26].

YEKUN

Ağciyər adenokarsinoması və sağlam insanların qan plazmasından ekstraksiya edilmiş lipid fraksiyalarının FÇİQ spektrlərinin müəyyən hissələrində mühüm fərqlər aşkarlanmış və onlar funksional qruplara görə interpretasiya edilmişdir. Alınan nəticələr göstərir ki, xərçəng xəstəliyi zamanı plazmanın lipid kompozisiyası dəyişir və bu dəyişiklik onun diaqnostik metod kimi istifadəsinə imkan yaradır. Lipid fraksiyasında olan dəyişikliklər plazmada təyin edilmiş fərqlərə komplementar olduğuna görə, onların birgə analizi klassifi-

kasiyanın dəqiqliyini artıracaq. Hal-hazırda iş davam edir və süni intellektin tətbiqi ilə klassifikasiya üsulu yaradılacaqdır.

Minnetdarlıq. Tədqiqat işi Azərbaycan Respublikasının Prezidenti yanında Elmin İnkişafı Fondunun dəstə-

yi ilə həyata keçirilmişdir (Layihə № EİF-MQM-ETS-2020-1(35)-08/07/3-M07). Müəlliflər FÇİQ spektrlərinin çəkilişində göstərdiyi dəstəyə görə AMEA-nın Fizika İnstitutuna minnetdarlığını bildirir.

-
- [1] *J.Ferlay, C.Partensky, F.Bray.* More deaths from pancreatic cancer than breast cancer in the EU by 2017. *Acta Oncologica*, 2016, vol.55 Issue 9-10, pp.1157-1160.
- [2] *J. Ferlay, Isabelle Soerjomataram.* Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in *Globocan 2012*, 2015, vol.136, Issue 5, pp.359-386.
- [3] *Rebecca L. Siegel, Stacey A.Fedawa.* Colorectal cancer incidence patterns in the United States 1974-2013, 2017, vol. 109, Issue 8, pp.1-6.
- [4] *O.K.Gasymov, A.H.Aydemirova, L.A.Melikova, J.A.Aliyev.* *App.Comp.Math.*, vol.20.N.2, pp.277-289.
- [5] *M.J. Thun et al* *Journal of the National Cancer Institute*, vol.98, No.19, 2006, pp.691-699.
- [6] *Basil Rigas., Patrick T.T.Wong.* Human colon adenocarcinoma cell line display infrared spectroscopic features of malignant colon tissues, *Cancer Research*, 1992, vol.52, pp.84-88.
- [7] *H.P.Wang, H-C Wang, Y-J Huang.* Microscopic FTIR studies of lung cancer cells in pleural fluid. *The science of the total environment.*, 1997, vol.204, pp. 283-287.
- [8] *A.H. Aydemirova.* 2022, *AJP FİZİKA*, vol. XXVIII, Issue 2, pp.12-16.
- [9] *Kan-Zhi Liu, Kam Sze Tsang, Chi Kong Li.* Infrared spectroscopic identification of beta-thalassemia., *Clinical chemistry*, 2003, Vol.49 (7), pp.1125-1132.
- [10] *Anila Kumari, Shalmali Bhattacharya.* Application of FTIR spectroscopy as a tool for early cancer detection. *American Journal of biomedical sciences.* 2018, ISSN (1937-9080), pp. 139-48.
- [11] *Daping Sheng, Yican Wu, Xin Wang.* Comparison of serum from gastric cancer patients and from healthy persons using FTIR spectroscopy. *Spectrochimica Acta-Part A*, 2013(116), pp.365-369.
- [12] Janina Kneipp, Michael Beekes., Molecular changes of preclinical scrapie can be detected by infrared spectroscopy. *The Journal of Neuroscience*, 2002., vol 22(8), pp. 2989-2997.
- [13] *Zanyar M., Shazza R.&Dr.Intesham ur Rehman.* Fouries Transform Infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, vol.13, Issue 2, February 2008, pp.134-179.
- [14] *Abasalt Hosseinzadeh Colagar et al.* Fourier transform infrared microspectroscopy as a diagnostic tool for distinguishing between normal and malignant gastric tissue. *J.Biosci*, 2011, vol.36, Issue 4, pp.669-677.
- [15] *Evgeny Bogomolny, Shmuel Argov.* Monitoring of viral cancer progression using FTIR microscopy. A comparative study of intact cells and tissues; *Bopchimica et Biophysica Acta*. 2008, vol.1780, Issue 9, pp.1038-1046.
- [16] *Lukas K.Tamm, Suren A.Tatulian.* Infrared spectroscopy of proteins and peptides in lipid bilayers, *QRB*, 1997, vol.30, Issue 4, pp.365-429. *John H.Crowe, Folkert A.Hoekstra.* Lipid phase transitions measured in intact cells with Fourier transform infrared spectroscopy. *Cryobiology*, 1989, vol.26, Issue 1, pp.76-84.
- [17] *E.G. Bligh, W.J.Dyer.* *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, vol.37, Issue 8; pp.911-917.
- [18] *Jiansheng Wang, Jia Zhang et al.* Evaluation of gallbladder lipid level during carcinogenetics by an infrared spectroscopic method. *Original article.* 2010, vol.55, pp.2670-2675.
- [19] *Sumanta Kar, Dinesh R.Katti et al.* *Spectrochimica Acta Part A, Molecular and biomolecular spectroscopy*, 2019; vol.208, pp.85-96.
- [20] *Michael Fung Kee Fung, Mary K.Senterman et al.* *Biospectroscopy*, 1996, vol.2, Issue 3, pp.155-165.
- [21] *P.Venkatachalam, L.Lakshmana Rao et al.* Dignosis of breast cancer based on FT-IR spectroscopy; *AIP Conference Proceedings*; 2008, vol.1075, Issue 144, pp.144-148.
- [22] *V.Crupi, D.De Domenico et al.* *Journal of Molecular Structure*, 2001, vol.563-564, pp.115-118.
- [23] *S.B. Akkas, M. Severcan et al.* Effects of lipoic acid supplementation on rat brain tissue, An FT-IR spectroscopic and neural network study, 2007, vol.105, Issue 3, pp.1281-1288.
- [24] *Isabell Dreissig, Susane Machill et al.* Quantification of brain lipids by FT-IR spectroscopy and partial least squares regression, *Spectrochimica Acta Part A. Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2009, vol.71, Issue 5, pp. 2069-2075.
- [25] *Maria Paraskevaidi, Camilo L.M. Morais et al.* Detecting endometrial cancer by blood spectroscopy a diagnostic cross-sectional study; *Cancers*, 2020, vol.12, Issue 5, pp1-17.

A.H. Aydemirova, L.A. Melikova, O.K. Gasymov

DIAGNOSTIC POSSIBILITIES OF THE PLASMA-LIPID MODEL IN HEALTHY PEOPLE AND PATIENTS WITH LUNG ADENOCARCINOMA USING FT-IR SPECTROSCOPY

In our previous study, artificial intelligence technique has been applied for analysis of FT-IR spectra of human blood plasma samples to classify carcinoma and healthy people. Various statistical methods, such as “Linear SVM” (support vector machine), “PLS-DA” (partially square discriminant analysis) and “Random Forest” were used for classification to distinguish a group of patients and healthy people. Prediction accuracies were 90% and 80%, respectively. In this study, the increase molecular features that differentiate healthy and cancer patients, FT-IR spectra of both plasma and its lipid fractions were analyzed. Numerous spectral peaks of lipid fraction are not seen in blood plasma FT-IR spectra. Functional groups identified from FT-IR spectra of the lipid fraction of blood plasma make valuable impact for accurate classification. In the study, blood plasma samples were collected from 50 patients and 49 healthy individuals. Then, lipids were extracted for each plasma sample. Coupled analysis was performed for FT-IR spectra of the plasma and its corresponding lipid fractions. For both groups the greatest differences in plasma and lipid fractions FT-IR spectra were observed around 3280 cm^{-1} , 3060 cm^{-1} , 2960 cm^{-1} , 2930 cm^{-1} , 1245 cm^{-1} and 3016 cm^{-1} , 2920 cm^{-1} , 1650 cm^{-1} , 1214 cm^{-1} , respectively. The data remaining outside the standard deviations in the infrared spectra of plasma and lipid samples allow it to be used as a preliminary diagnostic marker in determining the disease. The work in progress to apply artificial intelligence technique for detailed classification.

А.Г. Айдамирова, Л.А. Меликова, О.К. Касумов

ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПЛАЗМЕННО-ЛИПИДНОЙ МОДЕЛИ У ЗДОРОВЫХ ЛЮДЕЙ И ПАЦИЕНТОВ С ДИАГНОЗОМ АДЕНОКАРЦИНОМА ЛЁГКИХ С ПРИМНЕНИЕМ ФУРЬЕ-ИНФРАКРАСНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

В нашем предыдущем исследовании с помощью искусственного интеллекта была дана классификация образцов плазмы крови карциномы легкого и здоровых людей на основе инфракрасных спектров с преобразованием Фурье (ИФП). Классификации, полученные с применением различных статистических методов “Linear SVM” (машина опорных векторов), “PLS-DA” (частично квадратный дискриминантный анализ) и “Random Forest”, позволили выделить группу больных и здоровых с точностью до 90% и 80% соответственно. В этом исследовании, путем сравнения образцов плазма-липид для пациентов аденокарциномы легкого со здоровой группой, были определены отличительные особенности в спектрах ИФП и дана молекулярная интерпретация этих различий. Многочисленные спектральные пики липидной фракции не видны в ИФП-спектрах плазмы крови. Функциональные группы, определенные с помощью ИФП спектров липидной фракции плазмы крови, оказывают ценное влияние на точную классификацию. Для этого были записаны ИФП-спектры образцов плазмы крови и липидов, извлеченных из 50 пациентов и 49 здоровых. Наибольшие различия между пациентами и здоровыми группами наблюдались вокруг пиков 3280 см^{-1} , 3010 см^{-1} , 2960 см^{-1} , 2920 см^{-1} , 2870 см^{-1} , 1740 см^{-1} , 1240 см^{-1} , 1214 см^{-1} . Фракция, остающаяся за пределами стандартного отклонения в инфракрасных спектрах образцов плазмы и липидов, позволяет использовать ее в качестве предварительного диагностического маркера при определении заболевания.

Qəbul olunma tarixi: 09.12.2022