

УДК 616-091.8



С.Т. Аврамова



Н.С. Александров



Т.О. Бабичева

**Аврамова С.Т.*,
Александров Н.С.**,
Бабичева Т.О.***,
Кукушкин В.И.****,
Кириллов Ю.А.*******



В.И. Кукушкин



Ю.А. Кириллов

Возможности применения рамановской спектроскопии в онкоурологии

*Аврамова София Тариэловна, ассистент кафедры патологической анатомии им. академика А.И. Струкова ФГБОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России»

ORCID ID <https://orcid.org/0000-0001-9704-5915>

E-mail: sofya-t-avraamova@j-spacetime.com; Studenechek@mail.ru

**Александров Николай Сергеевич, ассистент кафедры патологической анатомии им. академика А.И. Струкова ФГБОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России»

ORCID ID <https://orcid.org/0000-0003-2104-5307>

E-mail: nikolay-s-alexandrov@j-spacetime.com; dr.klauss@mail.ru

***Бабичева Татьяна Олеговна, студентка 4 курса лечебного факультета ФГБОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России»

ORCID ID <https://orcid.org/0000-0002-5922-3378>

E-mail: tatiana-o-babicheva@j-spacetime.com; tanyababicheva1995@mail.ru

****Кукушкин Владимир Игоревич, младший научный сотрудник лаборатории неравновесных электронных процессов Института физики твердого тела РАН, Москва

ORCID ID <https://orcid.org/0000-0002-1329-5202>

E-mail: vladimir-i-kukushkin@j-spacetime.com; kukushvi@mail.ru

*****Кириллов Юрий Александрович, доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии им. академика А.И. Струкова ФГБОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России»

ORCID ID <https://orcid.org/0000-0001-7291-9663>

E-mail: yuri-a-kirillov@j-spacetime.com; youri_kirillov@mail.ru

Рамановская спектроскопия (РС) является физическим методом, который позволяет с высокой специфичностью и в режиме реального времени исследовать биологические объекты. В связи с растущим потенциалом этого метода исследования в клинической практике, в настоящей работе мы представляем обзор клинических исследований с использованием рамановской спектроскопии в онкоурологии.

Ключевые слова: рамановская спектроскопия; спектральные характеристики; диагностика; онкоурология; «оптическая биопсия».

Введение

Впервые эффект комбинационного рассеяния света (рамановского рассеяния света) был открыт индийскими учёными Ч.В. Раманом и К.С. Кришнаном в 1928 г.¹. Принцип метода заключается в том, что при падении монохроматического пучка света определенной длины волны на образец исследуемой ткани, в последней возникают различные моды (сдвиги) колебательных или вращательных возбуждений молекул с характерными частотами, что приводит к появлению новых линий в спектре рассеянного света². Каждое вещество, входящее в состав тканей, характеризуется набором рамановских линий с индивидуальным спектральным положением и постоянными относительными интенсивностями³. Именно этот набор спектральных характеристик дает возможность говорить о, так называемом, рамановском «отпечатке пальцев» этих молекул и позволяет проводить регистрацию изменений клеточного метаболизма по интенсивности их рассеяния. Еще каких-то 20 лет назад стандартная установка для исследования рамановского рассеяния обычно включала в себя мощный лазер, тройной спектрометр и охлаждаемый матричный фотодетектор⁴. Высокая стоимость таких установок и их большие размеры препятствовали широкому применению рамановского метода для экспресс-анализа объектов медицинского назначения. В последние годы ситуация на рынке научных приборов радикально изменилась, что позволило значительно уменьшить и удешевить все компоненты рамановской установки. Для анализа *in vivo* применяется гибкий ультратонкий волоконно-оптический кабель, встраиваемый в стандартную иглу, предназначенную для проведения пункционной биопсии⁵.

Рамановская спектроскопия (РС) имеет значительные преимущества по сравнению с другими диагностическими технологиями. Важнейшими из них являются простота пробоподготовки и больший объем получаемой информации. Рамановская спектроскопия относится к технологиям, основанным на рассеянии света, поэтому все, что требуется для сбора спектра – это направить падающий луч точно на образец, а затем собрать рассеянный свет. Данный вид исследования тканей не требует специальной подготовки образца и нечувствителен к полосам поглощения, так как рамановский эффект наблюдается в рассеянном свете от образца, а не в спектре поглощения. Это свойство рамановской спектроскопии облегчает процесс непосредственного измерения как в твердых образцах, так и жидких и газообразных средах⁶.

В связи с растущим потенциалом использования этого метода исследования в клинической практике, в настоящей работе нами предприняты попытки обобщить имеющийся опыт применения РС в онкоурологии.

Применение рамановской спектроскопии в диагностике новообразований предстательной железы

Впервые, рамановскую спектроскопию в качестве метода дифференциальной диагностики доброкачественной гиперплазии предстательной железы (ДГПЖ) и аденокарциномы предстательной железы (ПЖ), предложили Р. Crow с соавт. (2003), отметив существенные изменения в соотношении концентрации гликогена и дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) в тканях с доброкачественной гиперплазией и аденокарциномой предстательной железы. Так, при раке ПЖ было отмечено снижение интенсивности рамановского рассеяния света гликогеном и увеличение интенсивности рамановского рассеяния света ДНК, и обратная зависимость их спектральных характеристик в тканях с ДГПЖ⁷. В 2005 г. теми же авторами было проведено исследование выделенных у человека культур клеток рака простаты, выделенных у человека с высокой (DU145) и низкой (MDApc2b) степенью

¹ Raman C.V., Krishnan K.S. "A New Type of Secondary Radiation." *Nature*. 121 (1928): 501–502.

² Александров М.Т., Зубов С.В., Березинская А.С., Кукушкин В.И., Пашков Е.П., Иванченко О.Н. Экспериментально-теоретическое обоснование принципов и особенностей применения метода лазерно-конверсионной диагностики для оценки состояния твердых тканей зуба в норме и при патологии (кариес) // Российский стоматологический журнал. 2013. № 4. С. 6–10.

³ Crow P., Stone N., Kendall C.A., Persad R.A., Wright M.P. "Optical Diagnostics in Urology: Current Applications and Future Prospects." *BJU Int*. 92 (2003):400–407. DOI: 10.1046/j.1464-410X.2003.04368.x.

⁴ Рогаткин Д.А. Лазерная клиническая диагностика как одно из перспективных направлений биомедицинской радиоэлектроники // Биомедицинская радиоэлектроника. 1998. № 3. С. 34–36.

⁵ Evers D.J., Hendriks B.H.W., Lucassen G.W., Ruers T.J.N. "Optical Spectroscopy: Current Advances and Future Applications in Cancer Diagnostics And Therapy." *Future Oncol*. 8.3 (2012):307–309.

⁶ Pence I., Mahadevan-Jansen A. "Clinical Instrumentation and Applications of Raman Spectroscopy." *Chemical Society Reviews* 45.7 (2016): 1958–1979. DOI: 10.1039/c5cs00581g.

⁷ Crow P., Stone N., Kendall C.A., Uff J.S., Farmer J.A., Barr H., Wright M.P. "The Use of Raman Spectroscopy to Identify and Grade Prostatic Adenocarcinoma In Vitro." *Br J Cancer*. 89 (2003):106–108. DOI: 10.1038/sj.bjc.6601059.

дифференцировки¹. Целью работы явилось подтверждение изменений концентрации гликогена и нуклеиновых кислот на разных стадиях развития РПЖ, основываясь на интенсивности рамановского рассеяния этих веществ в каждом случае. Это исследование не только подтвердило закономерность, установленную в более ранних работах, но и позволило идеально идентифицировать каждую клеточную линию согласно полученным спектрам.

Следующим этапом стало изучение спектральных характеристик тканей ПЖ при доброкачественной гиперплазии, простатической интраэпителиальной неоплазии (ПИН) высокой степени и раке предстательной железы. Рамановские пики с различными значениями интенсивности позволили идентифицировать ДНК и триптофан в каждой из групп. Совпадение диагноза, установленного на основании анализа спектральных характеристик рамановского рассеяния с патологоанатомическим заключением, в случаях с доброкачественной гиперплазией составило 86%, в случаях с ПИН высокой степени и раком предстательной железы – 95,8% и 96,6%, соответственно².

Применение рамановской спектроскопии в диагностике новообразований почки

В единичных работах, посвященных использованию рамановской спектроскопии в диагностике рака почки, исследователи, в качестве отличительных особенностей светлоклеточного варианта почечноклеточного рака, отмечают усиленную интенсивность рамановского рассеяния света молекулами фенилаланина³, что, по их мнению, дает основание отнести его к группе опухолевых маркеров⁴.

Применение спектрометров с высокими разрешающими характеристиками позволило выявить изменения интенсивности рамановского рассеяния света молекулами нуклеиновых кислот в ткани опухоли по сравнению с сохранной тканью почки, а также зарегистрировать существенные различия в интенсивности рамановского рассеяния в опухолях различной степени зрелости. Кроме того, в ряде случаев применение рамановской спектроскопии позволило не только идентифицировать отдельные аминокислоты (тирозин, триптофан) по интенсивности рамановского рассеяния света, но и выделить характерные для них диапазоны в качестве ключевых диагностических критериев⁵. Так, группой ученых S. Stewart с соавт. (2014) было отмечено гораздо более высокие значения интенсивности рамановского рассеяния света молекулами фенилаланина, тирозина и триптофана в случаях хромофобного варианта почечно-клеточного рака в сравнении с онкоцитомой почки⁶.

Применение рамановской спектроскопии в диагностике новообразований мочевого пузыря

Впервые о применении РС на биообъектах, полученных при биопсии мочевого пузыря, сообщили B.W. de Jong с соавт. (2002), отметив способность дифференцировать слои слизистой оболочки мочевого пузыря⁷.

Использование РС с целью идентификации уротелиальной карциномы *in vivo* впервые было описано в исследовании R.O. Draga с соавт. (2010), в результате которой была установлена прямая зависимость между степенью дифференцировки опухоли и увеличением интенсивности рамановского рассеяния света молекулами ДНК, при этом показатели чувствительности и специфичности метода составили 85% и 79%, соответственно⁸.

Помимо применения РС на образцах ткани мочевого пузыря, метод успешно используется для диагностики уротелиальной карциномы при исследовании осадка мочи, полученного от пациентов с этой патологией. С помощью математического моделирования в сочетании с РС диагностическая

¹ Crow P., Barrass B., Kendall C., Hart-Prieto M., Wright M. "The Use of Raman Spectroscopy to Differentiate between Different Prostatic Adenocarcinoma Cell Lines." *Br J Cancer*. 92.12 (2005): 2166–2170. DOI: 10.1038/sj.bjc.6602638.

² Devpura S., Thakur J.S., Sarkar F.H., Sakr W.A., Naik V.M., Naik R. "Detection of Benign Epithelia, Prostatic Intraepithelial Neoplasia, and Cancer Regions in Radical Prostatectomy Tissues Using Raman Spectroscopy." *Vibrational Spectroscopy* 53 (2010): 227–232. DOI: 10.1016/j.vibspec.2010.03.009.

³ Huang E.Y.-H., Chu S.C., Chen H.G., Chang W.Y.H., Kuo Y.J., Pan C.C., Chiu A.W., Lin A.T., Chiang H.K. "Raman Spectral Analysis of Renal Tissue: A Novel Application." *Journal of Raman Spectroscopy* 45.9 (2014): 788–793. DOI: 10.1002/jrs.4546.

⁴ Huang E.Y.-H., Liao Y.H., Lin A.T., Chiang H.K. Discrimination of Renal Cell Carcinoma from Normal Renal Parenchyma Using Raman Spectroscopy. *Journal of Urology* 187.4 (2012): e398.

⁵ Mert S., Ozbek E., Otunctemur A., Culha M. "Kidney Tumor Staging Using Surface-Enhanced Raman Scattering." *Journal of Biomedical Optics* 20.4 (2015): 47002–47009.

⁶ Stewart S., Kirschner H., Treado P.J., Priore R. "Distinguishing between Renal Oncocytoma and Chromophobe Renal Cell Carcinoma Using Raman Molecular Imaging." *J. Raman Spectrosc.* 45 (2014): 274–280. DOI: 10.1002/jrs.4460.

⁷ de Jong B.W., Schut T.C., Maquelin K., van der Kwast T., Bangma C.H., Kok D.J., Puppels G.J. "Discrimination between Nontumor Bladder Tissue and Tumor by Raman Spectroscopy." *Anal. Chem.* 78 (2006): 7761–7769. DOI: 10.1021/ac061417b.

⁸ Draga R.O., Grimbergen M.C., Vijverberg P.L., van Swol C.F., Jonges T.G., Kummer J.A., Ruud Bosch J.L. "In Vivo Bladder Cancer Diagnosis by High-volume Raman Spectroscopy." *Anal. Chem.* 82 (2010): 5993–5999. DOI: 10.1021/ac100448p.

точность установления степени злокачественности опухоли отмечалась в 88% в случаях низкодифференцированных образцов и 98,6% - с высокой степенью дифференцировки¹.

Заключение

Рамановская спектроскопия является ценным и уникальным методом, используемым для диагностики опухолей мочеполовой системы различной локализации. Использование волоконно-оптических датчиков в конструкции лапароскопов, цистоскопов, пункционных игл и т.п. позволило на дооперационном этапе с высокой точностью не только диагностировать новообразование, но и определить объем хирургического вмешательства. Обладая значительными преимуществами в виде высокой специфичности, проведением измерений в режиме реального времени, отсутствием противопоказаний, по сравнению с традиционными технологиями диагностики опухолей мочеполовой системы, РС имеет серьезные перспективы использования метода в качестве «оптической биопсии».

ЛИТЕРАТУРА

1. Александров М.Т., Зубов С.В., Березинская А.С., Кукушкин В.И., Пашков Е.П., Иванченко О.Н. Экспериментально-теоретическое обоснование принципов и особенностей применения метода лазерно-конверсионной диагностики для оценки состояния твердых тканей зуба в норме и при патологии (кариес) // Российский стоматологический журнал. 2013. № 4. С. 6–10.
2. Рогаткин Д.А. Лазерная клиническая диагностика как одно из перспективных направлений биомедицинской радиоэлектроники // Биомедицинская радиоэлектроника. 1998. № 3. С. 34–36.
3. Crow P., Barrass B., Kendall C., Hart-Prieto M., Wright M. "The Use of Raman Spectroscopy to Differentiate between Different Prostatic Adenocarcinoma Cell Lines." *Br J Cancer*. 92.12 (2005): 2166–2170. DOI: 10.1038/sj.bjc.6602638.
4. Crow P., Stone N., Kendall C.A., Persad R.A., Wright M.P. "Optical Diagnostics in Urology: Current Applications and Future Prospects." *BJU Int*. 92 (2003):400–407. DOI: 10.1046/j.1464-410X.2003.04368.x.
5. Crow P., Stone N., Kendall C.A., Uff J.S., Farmer J.A., Barr H., Wright M.P. "The Use of Raman Spectroscopy to Identify and Grade Prostatic Adenocarcinoma In Vitro." *Br J Cancer*. 89 (2003):106–108. DOI: 10.1038/sj.bjc.6601059.
6. de Jong B.W., Schut T.C., Maquelin K., van der Kwast T., Bangma C.H., Kok D.J., Puppels G.J. "Discrimination between Non-tumor Bladder Tissue and Tumor by Raman Spectroscopy." *Anal. Chem*. 78 (2006): 7761–7769. DOI: 10.1021/ac061417b.
7. Devpura S., Thakur J.S., Sarkar F.H., Sakr W.A., Naik V.M., Naik R. "Detection of Benign Epithelia, Prostatic Intraepithelial Neoplasia, and Cancer Regions in Radical Prostatectomy Tissues Using Raman Spectroscopy." *Vibrational Spectroscopy* 53 (2010):227–232. DOI: 10.1016/j.vibspec.2010.03.009.
8. Draga R.O., Grimbergen M.C., Vijverberg P.L., van Swol C.F., Jonges T.G., Kummer J.A., Ruud Bosch J.L. "In Vivo Bladder Cancer Diagnosis by High-volume Raman Spectroscopy." *Anal. Chem*. 82 (2010): 5993–5999. DOI: 10.1021/ac100448p.
9. Evers D.J., Hendriks B.H.W., Lucassen G.W., Ruers T.J.N. "Optical Spectroscopy: Current Advances and Future Applications in Cancer Diagnostics And Therapy." *Future Oncol*. 8.3 (2012):307–309.
10. Huang E.Y.-H., Chu S.C., Chen H.G., Chang W.Y.H., Kuo Y.J., Pan C.C., Chiu A.W., Lin A.T., Chiang H.K. "Raman Spectral Analysis of Renal Tissue: A Novel Application." *Journal of Raman Spectroscopy* 45.9 (2014): 788–793. DOI: 10.1002/jrs.4546.
11. Huang E.Y.H., Liao Y.H., Lin A.T., Chiang H.K. Discrimination of Renal Cell Carcinoma from Normal Renal Parenchyma Using Raman Spectroscopy. *Journal of Urology* 187.4 (2012): e398.
12. Mert S., Ozbek E., Otuncemur A., Culha M. "Kidney Tumor Staging Using Surface-Enhanced Raman Scattering." *Journal of Biomedical Optics* 20.4 (2015): 47002–47009.
13. Pence I., Mahadevan-Jansen A. "Clinical Instrumentation and Applications of Raman Spectroscopy." *Chemical Society Reviews* 45.7 (2016): 1958–1979. DOI: 10.1039/c5cs00581g.
14. Raman C.V., Krishnan K.S. "A New Type of Secondary Radiation." *Nature*. 121 (1928): 501–502.
15. Shapiro A., Gofrit O.N., Pizov G., Cohen J.K., Maier J. "Raman Molecular Imaging: A Novel Spectroscopic Technique for Diagnosis of Bladder Cancer in Urine Specimens." *Eur Urol*. 59 (2011): 106–112. DOI: 10.1016/j.eururo.2010.10.027.
16. Stewart S., Kirschner H., Treado P.J., Priore R. "Distinguishing between Renal Oncocytoma and Chromophobe Renal Cell Carcinoma Using Raman Molecular Imaging." *J. Raman Spectrosc*. 45 (2014): 274–280. DOI: 10.1002/jrs.4460.

Цитирование по ГОСТ Р 7.0.11—2011:

Аврамова, С. Т., Александров, Н. С., Бабичева, Т. О., Кукушкин, В. И., Кириллов, Ю. А. Возможности применения рамановской спектроскопии в онкоурологии / С.Т. Аврамова, Н.С. Александров, Т.О. Бабичева, В.И. Кукушкин, Ю.А. Кириллов // Пространство и Время. — 2017. — № 1(27). — С. 247—250. Стационарный сетевой адрес: 2226-7271prvtr_st1-27.2017.102.

¹ Shapiro A., Gofrit O.N., Pizov G., Cohen J.K., Maier J. "Raman Molecular Imaging: A Novel Spectroscopic Technique for Diagnosis of Bladder Cancer in Urine Specimens." *Eur. Urol*. 59 (2011): 106–112. DOI: 10.1016/j.eururo.2010.10.027.