

## Перспективы применения метода спектроскопии комбинационного рассеяния света (рамановской спектроскопии) в кардиологии

Рафальский В. В., Зюбин А. Ю., Моисеева Е. М., Самусев И. Г.

ФГАОУ ВО “Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта”. Калининград, Россия

Спектроскопия комбинационного рассеяния света (КР-спектроскопия; спектроскопия КР) является перспективным методом диагностики, обладающим информативностью и чувствительностью. Кроме того, КР-спектроскопия является неразрушающим и минимально-инвазивным методом, а также требующим минимальной пробоподготовки, что открывает широкие перспективы применения *in vitro* и *in vivo*. У данного метода существует ряд возможностей будущего применения в кардиологии. С помощью КР-спектроскопии возможно идентифицировать ранее изученные маркеры сердечно-сосудистых заболеваний, а также производить поиск новых. Спектроскопия КР является чувствительным методом выявления и биохимической оценки атеросклеротических поражений сосудов на ранних этапах и может использоваться *in vivo*. Большой интерес представляет возможность использования спектроскопии КР с целью контроля количества элюируемого вещества из внутрисосудистых стентов для оценки клинической эффективности. При исследовании мембран тромбоцитов с помощью метода КР-спектроскопии выявлены структурные изменения у пациентов с артериальной гипертензией. С помощью данного метода возмож-

на оценка жизнеспособности миокарда в пограничной зоне после инфаркта миокарда, причем полученные данные коррелируют с интраоперационной картиной. Подробнее о перспективах применения метода будет раскрыто в тексте обзора.

**Ключевые слова:** спектроскопия, сердечно-сосудистые заболевания, биомаркеры, детектирование, диагностика.

**Отношения и деятельность.** Выполнено при поддержке РНФ 19-15-00132.

Поступила 18/11-2019

Рецензия получена 06/12-2019

Принята к публикации 09/12-2019



**Для цитирования:** Рафальский В. В., Зюбин А. Ю., Моисеева Е. М., Самусев И. Г. Перспективы применения метода спектроскопии комбинационного рассеяния света (рамановской спектроскопии) в кардиологии. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2020;19(1):2394. doi:10.15829/1728-8800-2020-1-2394

### Prospects for Raman spectroscopy in cardiology

Rafalsky V. V., Zyubin A. Yu., Moiseeva E. M., Samusev I. G.  
Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

Raman spectroscopy (RS) is a promising diagnostic method with high informative value and sensitivity. In addition, it is non-destructive and minimally invasive, and also requires minimal sample preparation, which opens up wide prospects for *in vitro* and *in vivo* use. There are some perspectives for this method in future cardiology practice. RS may allow to identify previously studied markers of cardiovascular disease, as well as to search for new ones. It is a sensitive method for the detection and biochemical assessment of early-stage atherosclerotic lesions and can be used *in vivo*. Of great interest is the possibility of using the RS to control the amount of eluted substance from drug-eluting stents to assess clinical efficacy. Study of platelet membranes using the RS technique revealed structural changes in patients with hypertension. This method makes it possible to assess myocardial viability in the border zone after myocardial infarction, and the obtained results correlate with the intraoperative data. More details about the prospects of using the RS will be described in the review.

**Key words:** spectroscopy, cardiovascular diseases, biomarkers, detection, diagnostics.

**Relationships and Activities.** This study was supported by Russian Science Foundation 19-15-00132.

Rafalsky V. V.\* ORCID: 0000-0002-2503-9580, Zyubin A. Yu. ORCID: 0000-0002-9766-1408, Moiseeva E. M. ORCID: 0000-0003-4052-1604, Samusev I. G. ORCID: 0000-0001-5026-7510.

\*Corresponding author: v.rafaleskiy@mail.ru

**Received:** 18/11-2019

**Revision Received:** 06/12-2019

**Accepted:** 09/12-2019

**For citation:** Rafalsky V. V., Zyubin A. Yu., Moiseeva E. M., Samusev I. G. Prospects for Raman spectroscopy in cardiology. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2020;19(1):2394. doi:10.15829/1728-8800-2020-1-2394. (In Russ.)

АГ — артериальная гипертензия, БИК-спектроскопия — ближняя инфракрасная спектроскопия, ГКР — гигантское комбинационное рассеяние, ИК-спектроскопия — инфракрасная спектроскопия, ИМ — инфаркт миокарда, КР — комбинационное рассеяние, НЧ — наночастица, СД-2 — сахарный диабет 2 типа, СРБ — С-реактивный белок, ССЗ — сердечно-сосудистые заболевания, ТР — тромбоциты, СК-МВ — изофермент креатинкиназы МВ, сТnI — тропонин I, NT-proBNP — мозговой натрийуретический гормон, PDGF — фактор роста тромбоцитов, VCAM-1 — васкулярная молекула клеточной адгезии.

\*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

e-mail: v.rafaleskiy@mail.ru

Тел.: +7 (910) 787-18-11

[Рафальский В. В.\* — директор центра клинических исследований, профессор кафедры терапии Медицинского института, ORCID: 0000-0002-2503-9580, Зюбин А. Ю. — с.н.с., ORCID: 0000-0002-9766-1408, Моисеева Е. М. — аспирант, ORCID: 0000-0003-4052-1604, Самусев И. Г. — заместитель проректора по научной работе, руководитель службы организации НИД, ORCID: 0000-0001-5026-7510].

По данным Европейского общества кардиологов в 2017г на сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) пришлось >50% смертей в странах Евросоюза со средним уровнем дохода. В странах Западной Европы с высоким уровнем дохода этот показатель составил только 30% [1]. Ишемическая болезнь сердца и цереброваскулярные заболевания являются ведущими причинами смертности в России на протяжении 1990-2016гг [2]. В последние годы в России наметилась тенденция к снижению смертности от ССЗ, тем не менее, и в 2017г, и в 2018г ССЗ стали основной причиной смерти [3]. Перспективным подходом для снижения смертности от ССЗ является разработка новых более информативных и чувствительных методов диагностики, позволяющих прогнозировать развитие осложнений на более ранних этапах заболевания.

В последнее время тенденции в диагностике заболеваний сфокусированы на разработке методов детектирования без использования меток, а также чувствительных к низким концентрациям [4]. В данной публикации пойдет речь о возможностях использования метода спектроскопии комбинационного рассеяния (КР) света (КР-спектроскопия = спектроскопия КР) и гигантского комбинационного рассея-

ния (ГКР) света для изучения функционального состояния тканей и клеток организма, а также перспективах применения этого подхода в современной кардиологии и смежных областях медицины.

Рамановская спектроскопия — это метод вибрационной спектроскопии, используемый для сбора уникального химического отпечатка молекулы от живых или неживых образцов [5].

В отечественной литературе для обозначения данного явления чаще используется термин “спектроскопия комбинационного рассеяния”. Излучение, рассеиваемое молекулами, содержит фотоны той же частоты, что и падающее излучение, а также некоторое количество фотонов с измененной (смещенной) частотой (рисунок 1).

Обычно КР-спектры представляют как спектры частот (график зависимости интенсивности при каждой индивидуальной частоте). Индивидуальные частоты декодируются из интерферограммы с использованием хорошо известного математического алгоритма Фурье преобразования (рисунок 2). Не существует двух молекул, которые имеют одинаковые КР-спектры, а интенсивность рассеянного света связана с количеством вещества. Данный факт позволяет получать как количественную, так и каче-

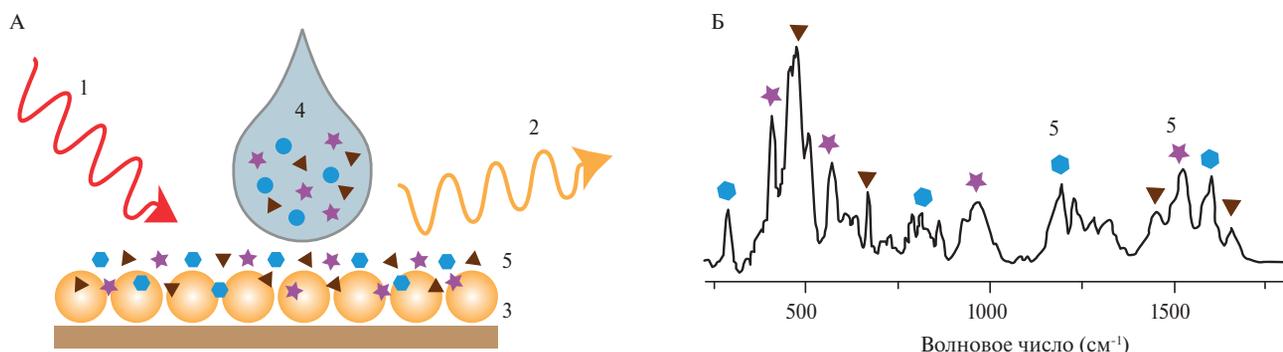


Рис. 1 Выявление различных веществ по ключевым пикам на КР-спектре сложной смеси, адаптировано по [48]. А. КР (2) после облучения лазером (1) сложной смеси (4) биологических молекул (5) на подложке (3). Б. Спектр КР, отдельные пики позволяют идентифицировать наличие в сложной смеси определенные молекулы (5).

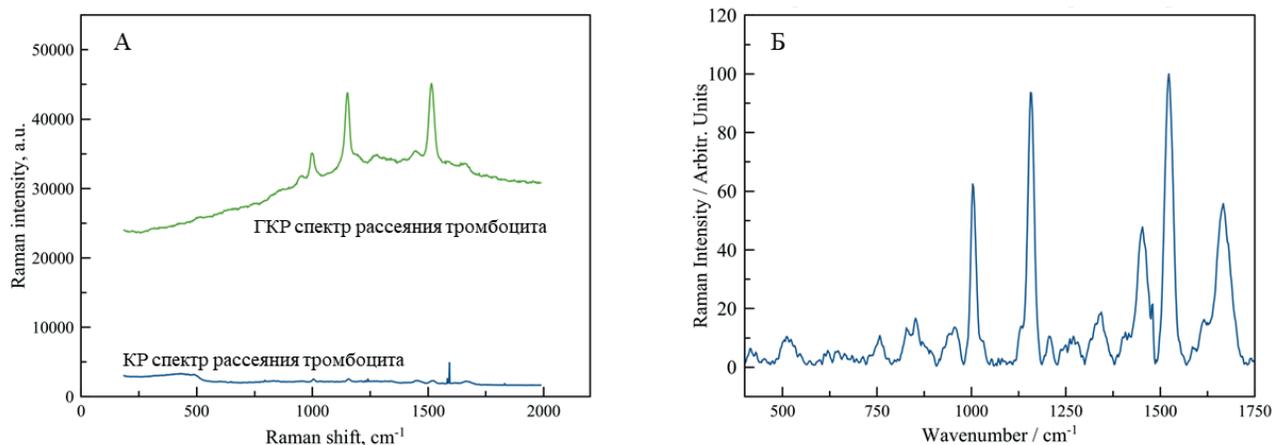


Рис. 2 Спектры рассеяния ТР периферической крови. А. Сравнение КР и ГКР спектров рассеяния ТР человека. Б. ГКР спектр рассеяния ТР здорового добровольца. Собственные неопубликованные результаты авторов.

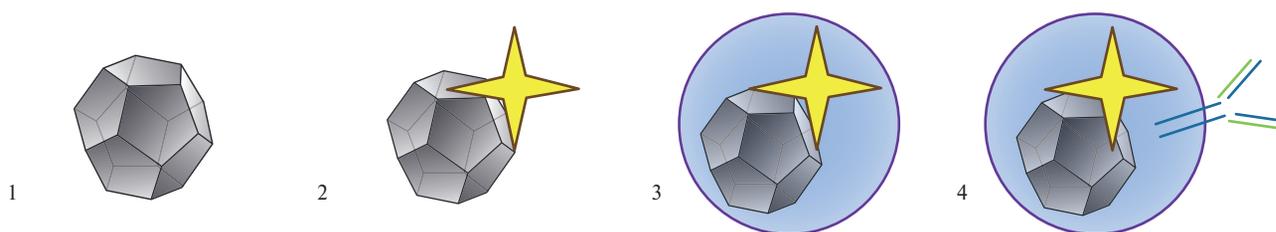


Рис. 3 Типы используемых ГКР-наносенсоров. 1 — Простые НЧ разного размера (10-80 нм); 2 — Комплексы [НЧ + молекула-репортер]; 3 — Простые НЧ или комплексы, покрытые оболочкой (полимером, белком, кремнием или др.); 4 — Простые НЧ или комплексы, функционализированные лигандами к определённым клеточным рецепторам, антителами к белкам. Адаптировано по [49], публикуется с разрешения автора.

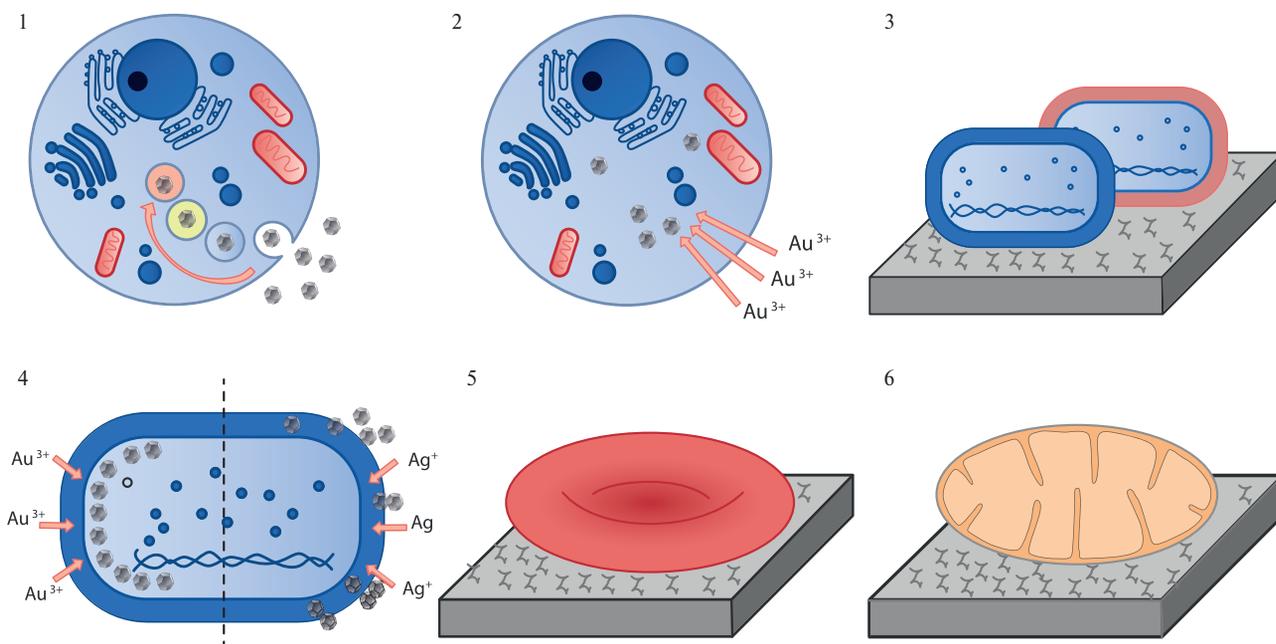


Рис. 4 Варианты проведения ГКР спектроскопии с использованием нанозондов: 1 — Введение НЧ в клетку путем эндоцитоза. 2 — Поглощение катионов  $Au^{3+}$  или  $Ag^+$  эукариотическими клетками с последующим формированием НЧ разного диаметра *in vivo*. 3 — Специальные чипы на основе НЧ серебра, функционализированные лекарственными веществами. 4 — Катионы  $Au^{3+}$  проникают в клетку Г-бактерий, формируют внутриклеточные НЧ и позволяют регистрировать ГКР примембранной области (2008г), тогда как из  $Ag^+$  формируются ГКР-активные экстраклеточные НЧ (2004г) [34]. 5 — Регистрация ГКР клеток крови в смеси с коллоидным раствором на серебряной наноструктурированной поверхности. 6 — Изучение изолированных органелл клеток (митохондрий) с использованием серебряной наноструктурированной поверхности. Адаптировано по [49], публикуется с разрешения автора.

ственную информацию об образце. Положение, интенсивность и ширина пиков в спектрах могут быть использованы для идентификации молекул или функциональных групп [6].

Гигантское комбинационное рассеяние (ГКР) представляет собой явление, возникающее вследствие усиления сигнала на поверхности подложки за счет возбуждения плазмонных резонансов. Данный эффект позволяет в млрд раз увеличить чувствительность определения химических соединений и биологических молекул [7], что приводит к усилению КР сигнала от биологического объекта и позволяет обнаруживать анализируемые вещества в диапазоне очень низких концентраций [4]. Также существует технология совмещения КР-спектрометра с конфокальным микроскопом, что, в свою очередь, позволяет регистрировать КР целых клеток или отдельных участков клетки [8].

Для реализации ГКР-эффекта используют широкий инструментарий в виде частиц и структур металлов (золота, серебра, меди), обладающих способностью генерировать колебания свободных электронов, усиливающих многократно (до  $10^{10}$  раз) КР-сигнал [9]. Подобные частицы называют ГКР-зондами или ГКР-наносенсорами. Зонды могут иметь разнообразную структуру, но обязательно имеют в своем составе металлическое ядро (поверхность) или ГКР-репортер (рассеивающее химическое вещество). Очень часто ГКР-зонды имеют сложное строение, и могут включать, кроме наночастиц (НЧ), антитела, лекарственные вещества, магнитные частицы, ферменты (рисунок 3). При прикреплении зонда к молекуле, возможно осуществлять детектирование сигнала зонда и молекулы, а также получать спектральную информацию [10] (рисунок 4).

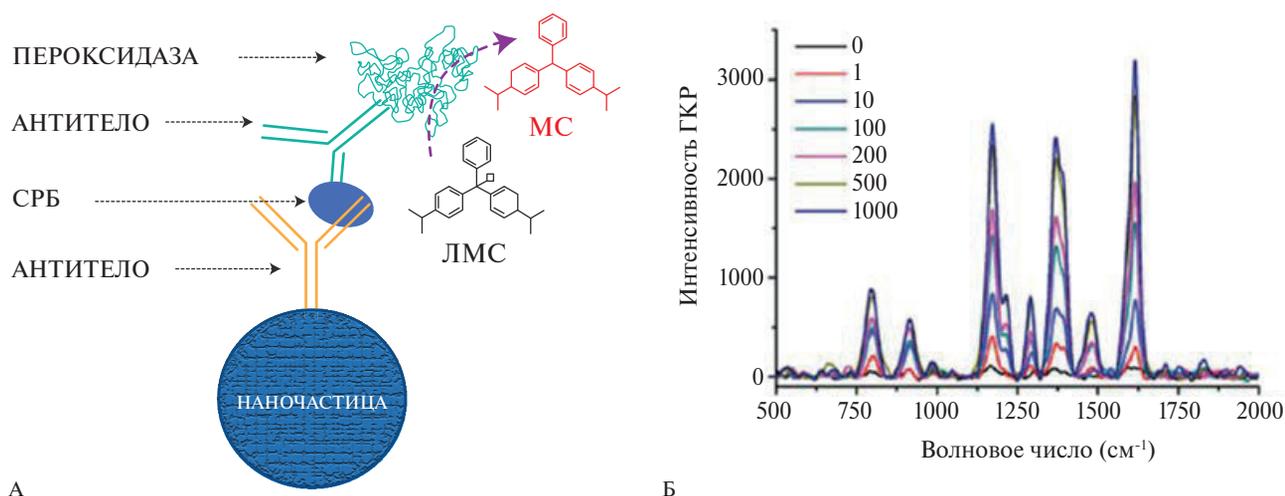


Рис. 5 Определения СРБ с использованием НЧ золота и метода ГКР. (А) — схема строения нанозонда, выполненного по сэндвич-технологии. (В) — спектры рассеяния, фиксируемые при разных концентрациях СРБ. Адаптировано по [17].  
Примечание: МС — метициленовый синий, ЛМС — лейкометициленовый синий.

Метод спектроскопии КР обладает рядом достоинств, в частности, возможностью быстрого и точного получения информации о биологической структуре объекта [11]. Чувствительность метода спектроскопии КР заключена в способности к определению низких концентраций вещества, метод является неразрушающим и минимально-инвазивным, а также требующим минимальной пробоподготовки что открывает широкие перспективы применения *in vitro* и *in vivo* [4, 12, 13]. Однако существует и определенные проблемы применения этого метода. При анализе методом спектроскопии КР некоторых биологических компонентов возможно перекрытие сигнала. Помимо этого, сигнал очень чувствителен к наличию собственной флуоресценции образца. Например, сигнал от гемоглобина в значительной степени перекрывает сигнал от других компонентов крови [14, 15]. Также при анализе сыворотки крови сигнал от макропротеинов может перекрывать более слабый сигнал [14]. Во многих случаях слабый сигнал от биологических структур не может быть усилен путем увеличения мощности лазера, поскольку в этом случае возрастает риск фотодеградации и термического повреждения хрупких биологических структур [14].

#### Идентификация биомаркеров ССЗ с помощью спектроскопии КР

Наиболее простым и очевидным направлением использования метода КР-спектроскопии в кардиологии является идентификация биологических маркеров, значение которых при ССЗ ранее было хорошо изучено: С-реактивного белка (СРБ), миоглобина, мозгового натрийуретического гормона (NT-proBNP).

СРБ является одним из самых изученных биомаркеров для мониторинга ССЗ и системного воспаления, в связи с чем предпринимаются попытки

разработать методики его мониторинга с использованием спектроскопии КР [16]. Для этого было предложено использовать эффект ГКР с использованием НЧ золота. Авторы использовали формат сэндвич-анализа, при котором СРБ захватывали с помощью антител, иммобилизованных на агарозных гранулах [17] (рисунок 5).

Еще одной перспективной мишенью для использования КР-детектирования является NT-proBNP, представляющий собой чувствительный и специфический биомаркер сердечной недостаточности [18, 19]. В работе [19] (2016) использован иммуносенсор на основе биметаллических НЧ феррита кобальта и золота, на которые были адсорбированы антитела к NT-proBNP. Использование подобных сэндвичей из антител и НЧ дало возможность зарегистрировать специфические спектры ГКР, которые, в свою очередь, позволили определить концентрацию NT-proBNP. Диапазон обнаружения составляет от 1 фг/мл (-1) до 1 нг/мл (-1) с пределом обнаружения 0,75 фг/мл (-1) [20]. Таким образом, КР-спектроскопия с применением иммуносенсоров, построенных с использованием НЧ кобальта и золота, может быть использована для обнаружения низких концентраций NT-proBNP и может стать незаменимым методом быстрой диагностики сердечной недостаточности на ранних стадиях заболевания.

Известно, что содержание миоглобина при инфаркте миокарда (ИМ) повышается в сыворотке крови наиболее рано — в пределах 2 ч после возникновения симптомов, впоследствии белок в неизменном виде выводится с мочой, и к 24 ч с момента появления симптомов исчезает из кровотока [20]. В 2016г предложен метод идентификации миоглобина с помощью КР-спектроскопии [21]. Для этого авторы разработали сложный ГКР-датчик на основе золя, содержащего серебряные анизотропные нано-

иглы, с последующей модификацией подложки из оксида индия-олова (AgNPT/ITO), что позволило получить спектры миоглобина для концентраций от 10 нг/мл до 5 мкг/мл. Авторы также предложили, что данный метод может быть использован для выявления миоглобина в моче пациентов с ИМ или острой почечной недостаточностью [21].

Фактор роста тромбоцитов — Platelet-derived growth factor (PDGF) — это белок, способствующий пролиферации и миграции мезенхимальных клеток [22]. С чрезмерной экспрессией гена PDGF связывают развитие многих ССЗ, таких как атеросклероз, аневризма аорты и ИБС [23]. Молекула PDGF существует в виде нескольких димеров, ранее было выявлено, что димер PDGF-BB может быть использован в качестве биомаркера для диагностики ИБС [24]. Был (2018) использован метод КР-спектроскопии для сравнения образцов мочи пациентов с ИБС с образцами мочи здоровых добровольцев [24]. Авторам удалось идентифицировать в моче у ряда пациентов с ИБС характерный пик ( $1509\text{ см}^{-1}$ ), соответствующий присутствию PDGF-BB. При сопоставлении этих данных с клинической информацией, выявлено, что пик  $1509\text{ см}^{-1}$  был наиболее характерен для пациентов с ИБС, подвергшихся чрескожному коронарному вмешательству, т.е. для категории пациентов со стенозом коронарных сосудов  $>70\%$ .

ГКР-спектроскопия может быть использована для ранней диагностики ИМ путем обнаружения изофермента креатинкиназы MB (СК-МВ) и тропонина I (сTnI) [25]. Одновременное определение СК-МВ и сTnI в крови значительно увеличивает вероятность ранней диагностики ИМ [25]. В последнее время метод спектроскопии ГКР с использованием НЧ, нагруженных антителами к маркерам ИМ привлек значительное внимание благодаря высокой чувствительности и способности к одновременному детектированию нескольких веществ [25]. В работе было установлено, что пределы обнаружения для СК-МВ и сTnI составляют  $42,5\text{ пг мл}^{-1}$  и  $33,7\text{ пг мл}^{-1}$ , соответственно. Таким образом, описанный выше метод ГКР-спектроскопии приблизительно в 100-1000 раз более чувствителен, чем метод электрохемилюминесцентного анализа [25].

Менее очевидным, но достаточно перспективными направлением использования спектроскопии ГКР, является обнаружение новых, ранее не известных биомаркеров ССЗ, на основе сопоставления спектров биологических жидкостей или тканей пациентов с разными формами ССЗ и здоровых добровольцев. В исследовании [26] (2016) была изучена возможность реализации метода спектроскопии ГКР образцов плазмы с использованием НЧ серебра для быстрой диагностики ИМ. Авторы поставили задачу найти различия в ГКР-спектрах плазмы здоровых людей и пациентов, перенесших ИМ. При сравнении выявлены специфические

изменения, характерные только для ИМ, в частности, детектированы различия в областях спектров мочевой кислоты, аденозина и аденина. Используемая в исследовании методика показала чувствительность 87,5% и специфичность 93,8%, что делает этот метод перспективным для диагностики ИМ.

#### Применение метода спектроскопии КР для диагностики атеросклероза

В последнее десятилетие отмечается прогресс в разработке методов внутрисосудистой визуализации атеросклеротических бляшек. В то же время, не существует доступных методов оценки биохимического состава бляшек *in vivo* [27]. Тогда как именно биохимический состав может быть связан с таким важным клиническими аспектами, как риск разрыва бляшки, тромбообразование и другими осложнениями [28]. В настоящее время активно развиваются две основные спектроскопические технологии, позволяющие извлекать интраваскулярную биохимическую информацию: КР-спектроскопия и ближняя инфракрасная спектроскопия (БИК-спектроскопия). По сравнению с методом КР-спектроскопии, с помощью БИК-спектроскопии детектируется более интенсивный сигнал, однако с его помощью можно обнаружить лишь общую массу липидов [29]. При этом КР-спектроскопия дает возможность дифференцировать липидные образования по категориям, таким как триглицериды, холестерин и другие соединения [30].

Способность метода КР-спектроскопии к количественному определению типов липидов в артериальной стенке может стать очередным шагом в персонализации терапии атеросклероза [31]. Данные методики в настоящее время объединяются с технологией внутрисосудистых ультразвуковых исследований, что дает возможность выполнять визуализацию с одновременным определением химического состава атеросклеротических бляшек. В США уже внедряется в продажу катетер для внутрисосудистой коронарной визуализации Lipiscan<sup>®</sup>, объединивший внутрисосудистые ультразвуковые исследования и БИК-спектроскопию [32]. Применение устройств с объединением двух технологий не только расширяет знания об атеросклерозе, но и позволяет определить у каких пациентов увеличивается риск развития ИМ во время проведения этой процедуры, а также выбрать оптимальную длину устанавливаемого стента, чтобы предотвратить установку его краев в нестабильные липидные ядра [27, 32].

В экспериментальной работе [28] (2018) на модели атеросклеротического поражения сосудов кроликов показана возможность использования внутрисосудистого КР-катетера. Эксперимент проводился на новозеландских белых кроликах, получавших пищу, обогащенную жирами и холестерином, с использованием внутрисосудистого КР-катетера. КР-спектры регистрировали в интактных областях сосу-

дов, а также в областях с ранними атеросклеротическими образованиями. Контроль положения катетера производился с помощью рентгеновской ангиографии. Оказалось, что КР-спектры, полученные от интактного эндотелия сосуда, значительно отличаются от аналогичных спектров, полученных от атеросклеротической бляшки. В последних присутствуют пики, типичные для холестерина, сложных эфиров холестерина и триглицеридов, в то время как стенка непораженных сосудов характеризуется большим содержанием коллагена [28].

При сопоставлении данных, полученных с одних и тех же сосудистых локусов с использованием КР-спектроскопии и оптической когерентной томографии, оказалось, что спектральная информация хорошо коррелирует с наблюдаемой внутрисосудистой морфологией и согласуется с гистологией. Авторы предполагают, что метод спектроскопии КР является чувствительным методом выявления атеросклеротических поражений сосудов на ранних этапах, позволяющим также собирать информацию о биохимическом составе атеросклеротической бляшки [28].

Кроме попыток неспецифической оценки состояния сосудистой стенки методом КР-спектроскопии, разрабатываются подходы, направленные на оценку отдельных молекул. Васкулярная молекула клеточной адгезии 1 — vascular cell adhesion molecule 1 (VCAM-1) представляет собой белок, входящий в суперсемейство иммуноглобулинов, участвующий в адгезии лейкоцитов и эндотелиальных клеток [33]. Предполагается, что обнаружение VCAM-1 может быть использовано для ранней диагностики атеросклероза [33]. Для исследования VCAM-1 в работе [34] (2014) предложили использовать метод КР-спектроскопии [34]. Авторы сконструировали нанозонды, представляющие собой НЧ золота, функционализированные антителами 4-меркаптобензойной кислоты. С помощью нанозондов, была продемонстрирована возможность картирования экспрессии VCAM-1 в эндотелиальных клетках коронарных артерий. Использование такой методики может улучшить стратификацию рисков ССЗ.

#### Использование метода спектроскопии КР для исследования сосудистых препарат-элюирующих стентов

Стенты с контролируемым высвобождением антипролиферативных молекул, например, сирулимуса, предотвращают рестеноз сосудов, в которых они установлены [35]. Клиническая эффективность подобных стентов зависит от количества лекарственного вещества и кинетики его высвобождения *in vivo*, в связи с чем, большой интерес представляют методы, позволяющие контролировать количество элюируемого из стента антипролиферативного средства. Последние обладают специфическими спектрами КР, что позволяет проводить качествен-

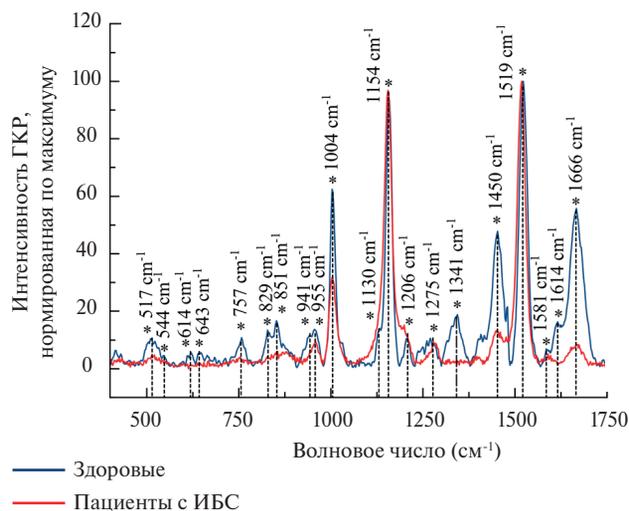


Рис. 6 Использование ГР для диагностики ССЗ: сопоставление спектров ГР ТР здоровых лиц и пациентов с ИБС. Собственные неопубликованные данные авторов.

ную и количественную оценки подобных веществ в стенке катетеров *in vivo* [35, 36].

Впервые метод КР-спектроскопии был применен для исследования сосудистых стентов, покрытых полимерами и серолимузом [36] (2008г). В процессе исследования были определены уникальные спектральные сигнатуры для каждой составляющей стента. Важным показателем является триеновая полоса при  $1634\text{ см}^{-1}$ , качественно характеризующая наличие серолимуса. Позднее на основе полученных спектров были построены модели регрессионной калибровки (PLS). Данные модели оказались подходящими для стратегии количественной оценки пространственного распределения лекарственного покрытия на стентах [36].

#### Исследование тромбоцитов (ТР) у пациентов с ССЗ

Особый интерес исследователей представляет оценка состояния ТР при ССЗ [37]. В 2019г опубликована статья (2019), в которой впервые описано сравнительное исследование методом КР-спектроскопии и инфракрасной спектроскопии (ИК-спектроскопии) тромбоцитов пациентов с артериальной гипертензией (АГ) и здоровых добровольцев [37]. Авторами выявлены значимые различия в сигналах, характерных для липидов и белков мембран.

Авторы предположили, что при развитии АГ, возникают структурные конформации в клеточной мембране ТР. При анализе спектров были выявлены различия в регионах Amide I и Amide II, фосфатных группах, фосфолипидах мембран. Таким образом, была показана возможность использования КР-спектроскопии для диагностики АГ (рисунок 6).

Ранее уже были получены данные об определенных трансформациях в мембранах ТР при АГ, что способствует увеличению частоты тромбоцитарных

осложнений [38]. Метод КР-спектроскопии и ИК-спектроскопии являются достаточно чувствительными для анализа биохимических изменений в клетке и не требуют сложной пробоподготовки [39].

#### **Применение метода КР-спектроскопии для оценки жизнеспособности миокарда в пограничной зоне ИМ**

Оценка жизнеспособности миокарда является важной проблемой в определении объема хирургического вмешательства у пациентов с хронической сердечной недостаточностью после ИМ [40]. Непосредственно до операции для оценки состояния миокарда могут проводиться: компьютерная томография, магнитно-резонансная томография, радиоизотопная визуализация и эхокардиография [41, 42]. Цель данных исследований определить, имеет ли ишемизированный миокард потенциал для восстановления сократительных функций после возобновления коронарного кровообращения [41, 42]. Однако перечисленные диагностические методы не являются достаточно информативными ввиду относительно слабой регионарной корреляции с интраоперационными данными, полученными под непосредственным контролем зрения. В работе [43] (2018) были определены ключевые признаки спектров КС для оценки жизнеспособности миокарда. Оценка производилась у пяти пациентов, перенесших операцию восстановления желудочков после ИМ. В процессе исследования была разработана модель прогнозирования, позволяющая идентифицировать пораженные инфарктом ткани и непораженные с чувствительностью 99,9% [43]. В перспективе этот метод может стать полезным инструментом в практике кардиохирургов.

#### **Применение методов спектроскопии КР у пациентов с сахарным диабетом**

Предпосылкой для использования метода КР-спектроскопии при сахарном диабете 2 типа (СД-2) являются типичные для данного заболевания биохимические изменения, при этом основным объектом для изучения являются кровь. В исследовании [44] (2017) был изучен потенциал лейциновых и изолейциновых аминокислот в качестве биомаркеров СД-2 с использованием их КР-спектров. Результаты исследований показали перспективность использования КР-спектроскопии при быстром (10 сек) скрининге СД и предиабета.

Перспективным маркером гликемии при СД-2 является гликированный альбумин, который может стать потенциальной альтернативой гликированному гемоглобину [45]. Впервые обнаружение и количественное определение гликированного альбумина с использованием КР-спектроскопии описаны в работе (2012) [46]. Калибровочная модель на основе анализа КР-спектров гликированного

альбумина, оказалась высокочувствительной и позволила определять концентрации данного маркера в ~4 раза ниже его минимальной физиологической концентрации. Кроме того, важно отметить, что по сравнению с существующими методами обнаружения гликированного альбумина метод спектроскопии КР, не требует сложной пробоподготовки и использования реагентов [46].

Еще одним направлением в использовании КР-спектроскопии при СД-2 является эмпирический поиск КР-сигнатур заболевания и (или) его осложнений. Для этого сравнивают КР-спектры здоровых лиц и пациентов с СД-2 с последующим выделением характерных особенностей спектров, регистрируемых только у пациентов с СД-2. В частности, в работе [47] (2018) описано исследование сыворотки 15 пациентов, страдающих СД-2 и 20 здоровых добровольцев с помощью метода КР-спектроскопии. Основными молекулярными метками, характерными для СД-2 были пики, характерные для глутатиона, триптофана, тирозина,  $\beta$ -каротина и АмидаIII (1230-1282  $\text{cm}^{-1}$ ). Полученные результаты позволили исследователям предположить, что КР-спектроскопия сыворотки может стать новым методом диагностики СД-2 [47].

#### **Заключение**

Метод спектроскопии КР обладает преимуществами, делающими его перспективным диагностическим подходом в кардиологии. В частности, КР-спектроскопия позволяет быстро и точно получать информацию о биологической структуре объекта в режиме реального времени, определять низкие концентрации вещества с использованием минимальной пробоподготовки. Кроме того, метод может быть использован для быстрого и точного обнаружения и количественной оценки биомаркеров ССЗ и сопутствующих патологических состояний, в частности, СРБ, миоглобина, NT-proBNP, креатинкиназы МВ, сTnI и др. Большой потенциал применения КР-спектроскопии заложен в возможности использования этого метода для скрининга патологических изменений в биологических жидкостях, тканях и клетках пациентов с ССЗ. Многообещающими выглядят результаты исследования КР-спектров ТР периферической крови. Вышесказанное делает метод КР-спектроскопии перспективным инструментом для диагностики и лечения многих заболеваний, являющихся причинами глобальных проблем общественного здравоохранения. Вероятнее всего будущее развитие спектроскопии в медицине будет представлять собой сочетание различных оптических методов с целью оптимизации чувствительности, специфичности, скорости и затрат.

**Отношения и деятельность.** Выполнено при поддержке РНФ 19-15-00132.

## Литература/References

1. Timmis A, Gale CP, Flather M, et al. Cardiovascular disease statistics from the European atlas: inequalities between high- and middle-income member countries of the ESC. *Eur Heart J Qual Care Clin Outcomes*. 2018;4(1):1-3. doi:10.1093/ehjqcco/qcx045.
2. Collaborators GBD. The burden of disease in Russia from 1980 to 2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *Lancet*. 2018;392(10153):1138-46. doi:10.1016/S0140-6736(18)31485-5.
3. Росстат. Число умерших по основным классам причин смерти 2019. Available from: [http://www.gks.ru/wps/wcm/connect/rosstat\\_main/rosstat/ru/statistics/population/demography/#](http://www.gks.ru/wps/wcm/connect/rosstat_main/rosstat/ru/statistics/population/demography/#).
4. Moore TJ, Moody AS, Payne TD, et al. *In Vitro* and *In Vivo* SERS Biosensing for Disease Diagnosis. *Biosensors (Basel)*. 2018;8(2). doi:10.3390/bios8020046.
5. Germond A, Kumar V, Ichimura T, et al. Raman spectroscopy as a tool for ecology and evolution. *J R Soc Interface*. 2017; 14(131): 20170174. doi:10.1098/rsif.2017.0174.
6. Brozek-Pluska B, Kopec M, Surmacki J, et al. Raman microspectroscopy of noncancerous and cancerous human breast tissues. Identification and phase transitions of linoleic and oleic acids by Raman low-temperature studies. *Analyst*. 2015;140(7):2134-43. doi:10.1039/c4an01877j.
7. Langer J, Jimenez de Aberasturi D, et al. Present and Future of Surface Enhanced Raman Scattering. *ACS Nano*. 2019. doi:10.1021/acsnano.9b04224.
8. da Costa SG, Richter A, Schmidt U, et al. Confocal Raman microscopy in life sciences. *Morphologie*. 103(341):11-6. doi:10.1016/j.morpho.2018.12.003.
9. Jia M, Li S, Zang L, et al. Analysis of Biomolecules Based on the Surface Enhanced Raman Spectroscopy. *Nanomaterials (Basel)*. 2018; 15;8(9). pii: E730. doi:10.3390/nano8090730.
10. Li M, Cushing SK, Wu N. Plasmon-enhanced optical sensors: a review. *Analyst*. 2015;140(2):386-406. doi:10.1039/c4an01079e.
11. Brozek-Pluska B, Musial J, Kordek R, et al. Analysis of Human Colon by Raman Spectroscopy and Imaging-Elucidation of Biochemical Changes in Carcinogenesis. *Int J Mol Sci*. 2019;20(14). doi:10.3390/ijms20143398.
12. Radziuk D, Moehwald H. Prospects for plasmonic hot spots in single molecule SERS towards the chemical imaging of live cells. *Phys Chem Chem Phys*. 2015;17(33):21072-93. doi:10.1039/c4cp04946b.
13. Beleites C1, Bonifacio A, Codrich D, et al. Raman spectroscopy and imaging: promising optical diagnostic tools in pediatrics. *Curr Med Chem*. 2013;20(17):2176-87. doi:10.2174/0929867311320170003.
14. Atkins CG, Buckley K, Blades MW, et al. Raman Spectroscopy of Blood and Blood Components. *Appl Spectrosc*. 2017;71(5):767-93. doi:10.1177/0003702816686593.
15. Krafft C, Popp J. The many facets of Raman spectroscopy for biomedical analysis. *Anal Bioanal Chem*. 2015;407(3):699-717. doi:10.1007/s00216-014-8311-9.
16. Windgassen EB1, Funtowicz L, Lunsford TN, et al. C-reactive protein and high-sensitivity C-reactive protein: an update for clinicians *Postgrad Med*. 2011; 123(1):114-9. doi:10.3810/pgm.2011.01.2252.
17. Guo W, Hu Y, Wei H. Enzymatically activated reduction-caged SERS reporters for versatile bioassays. *Analyst*. 2017;142(13):2322-6. doi:10.1039/c7an00552k.
18. McKie PM, Burnett JC, Jr. NT-proBNP: The Gold Standard Biomarker in Heart Failure. *J Am Coll Cardiol*. 2016;68(22):2437-9. doi:10.1016/j.jacc.2016.10.001.
19. He Y, Wang Y, Yang X, et al. Metal Organic Frameworks Combining CoFe2O4 Magnetic Nanoparticles as Highly Efficient SERS Sensing Platform for Ultrasensitive Detection of N-Terminal Pro-Brain Natriuretic Peptide. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2016;8(12):7683-90. doi:10.1021/acssami.6b01112.
20. Danese E, Montagnana M. An historical approach to the diagnostic biomarkers of acute coronary syndrome. *Ann Transl Med*. 2016; 4(10):194. doi:10.21037/atm.2016.05.19.
21. El-Said WA, Fouad DM, El-Safty SA. Ultrasensitive label-free detection of cardiac biomarker myoglobin based on surface-enhanced Raman spectroscopy. *Sensor Actuat B-Chem*. 2016;228:401-9. doi:10.1016/j.snb.2016.01.041.
22. Papadopoulos N, Lennartsson J. The PDGF/PDGFR pathway as a drug target. *Mol Aspects Med*. 2018;62:75-88. doi:10.1016/j.mam.2017.11.007.
23. Folestad E, Kunath A, Wagsater D. PDGF-C and PDGF-D signaling in vascular diseases and animal models. *Mol Aspects Med*. 2018;62:1-11. doi:10.1016/j.mam.2018.01.005.
24. Yang H, Zhao C, Li R, et al. Noninvasive and prospective diagnosis of coronary heart disease with urine using surface-enhanced Raman spectroscopy. *Analyst*. 2018;143(10):2235-42. doi:10.1039/c7an02022h.
25. Chon H, Lee S, Yoon SY, et al. SERS-based competitive immunoassay of troponin I and CK-MB markers for early diagnosis of acute myocardial infarction. *Chem Commun (Camb)*. 2014;50(9):1058-60. doi:10.1039/c3cc47850e.
26. Chen YX, Chen MW, Lin JY, et al. Label-Free Optical Detection of Acute Myocardial Infarction Based on Blood Plasma Surface-Enhanced Raman Spectroscopy. *J Appl Spectrosc*. 2016;83(5):798-804. doi:10.1007/s10812-016-0366-2.
27. Saeed B, Banerjee S, Brilakis ES. Slow flow after stenting of a coronary lesion with a large lipid core plaque detected by near-infrared spectroscopy. *EuroIntervention*. 2010;6(4):545. doi:10.4244/EIJ30V6IA490.
28. Matthaus C, Dochow S, Egodage KD, et al. Detection and characterization of early plaque formations by Raman probe spectroscopy and optical coherence tomography: an in vivo study on a rabbit model. *J Biomed Opt*. 2018;23(1):1-6. doi:10.1117/1.JBO.23.1.015004.
29. Suter MJ1, Nadkarni SK, Weisz G, et al. Intravascular optical imaging technology for investigating the coronary artery. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2011;4(9):1022-39. doi:10.1016/j.jcmg.2011.03.020.
30. MacRitchie N, Grassia G, Noonan J, et al. Molecular imaging of atherosclerosis: spotlight on Raman spectroscopy and surface-enhanced Raman scattering. *Heart*. 2018;104(6):460-7. doi:10.1136/heartjnl-2017-311447.
31. You AF, Bergholt MS, St-Pierre JP, et al. Raman spectroscopy imaging reveals interplay between atherosclerosis and medial calcification in the human aorta. *Sci Adv*. 2017;3(12):e1701156. doi:10.1126/sciadv.1701156.
32. Dixon SR, Grines CL, Munir A, et al. Analysis of target lesion length before coronary artery stenting using angiography and near-infrared spectroscopy versus angiography alone. *Am J Cardiol*. 2012;109(1):60-6. doi:10.1016/j.amjcard.2011.07.068.
33. Noonan J, Asiala SM, Grassia G, et al. In vivo multiplex molecular imaging of vascular inflammation using surface-enhanced Raman spectroscopy. *Theranostics*. 2018;8(22):6195-209. doi:10.7150/tno.28665.
34. Bowey K, Tanguay JF, Sandros MG, et al. Microwave-assisted synthesis of surface-enhanced Raman scattering nanoprobes for cellular sensing. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2014;122:617-22. doi:10.1016/j.colsurfb.2014.07.040.
35. Chandra P, Mahajan AU, Bulani VD, et al. Pharmacokinetic Study of Sirolimus-Eluting BioResorbable Vascular Scaffold System for Treatment of De Novo Native Coronary Lesions: A Sub-Study of MeRes-1 Trial. *Cardiol Res*. 2018;9(6):364-9. doi:10.14740/cr799.
36. Balss KM, Long FH, Veselov V, et al. Multivariate analysis applied to the study of spatial distributions found in drug-eluting stent coatings by confocal Raman microscopy. *Ann Chem*. 2008;80(13):4853-9. doi:10.1021/ac7025767.
37. Garcia-Rubio DL, de la Mora MB, Badillo-Ramirez I, et al. Analysis of platelets in hypertensive and normotensive individuals using Raman and Fourier transform infrared-attenuated total reflectance spectroscopies. *J Raman Spectrosc*. 2019;50(4):509-21. doi:10.1002/jrs.5540.
38. Cerecedo D, Martinez-Vieyra I, Sosa-Peinado A, et al. Alterations in plasma membrane promote overexpression and increase of sodium influx through epithelial sodium channel in hypertensive platelets. *Bba-Biomembranes*. 2016;1858(8):1891-903. doi:10.1016/j.bbame.2016.04.015.
39. Rubina S, Krishna CM. Raman spectroscopy in cervical cancers: an update. *J Cancer Res Ther*. 2015;11(1):10-7. doi:10.4103/0973-1482.154065.
40. Patel P, Ivanov A, Ramasubbu K. Myocardial Viability and Revascularization: Current Understanding and Future Directions. *Current atherosclerosis reports*. 2016;18(6):32. doi:10.1007/s11883-016-0582-5.
41. Ker WDS, Nunes THP, Nacif MS, et al. Practical Implications of Myocardial Viability Studies. *Arq Bras Cardiol*. 2018;110(3):278-88. doi:10.5935/abc.20180051.
42. Bonow RO, Maurer G, Lee KL, et al. Myocardial viability and survival in ischemic left ventricular dysfunction. *N Engl J Med*. 2011;28;364(17):1617-25. doi:10.1056/NEJMoa1100358.
43. Yamamoto T, Minamikawa T, Harada Y, et al. Label-free Evaluation of Myocardial Infarct in Surgically Excised Ventricular Myocardium by Raman Spectroscopy. *Sci Rep*. 2018;8(1):14671. doi:10.1038/s41598-018-33025-6.
44. Birech Z, Mwangi PW, Bukachi F, et al. Application of Raman spectroscopy in type 2 diabetes screening in blood using leucine and isoleucine amino-acids as biomarkers and in comparative anti-diabetic drugs efficacy studies. *PLoS One*. 2017;12(9):e0185130. doi:10.1371/journal.pone.0185130.
45. Loomis SJ, Li M, Maruthur NM, et al. Genome-Wide Association Study of Serum Fructosamine and Glycated Albumin in Adults Without Diagnosed Diabetes: Results From the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Diabetes*. 2018;67(8):1684-96. doi:10.2337/db17-1362.
46. Dingari NC, Horowitz GL, Kang JW, et al. Raman spectroscopy provides a powerful diagnostic tool for accurate determination of albumin glycation. *PLoS One*. 2012;7(2):e32406. doi:10.1371/journal.pone.0032406.
47. Gonzalez-Solis JL, Villafan-Bernal JR, Martinez-Zerega BE, et al. Type 2 diabetes detection based on serum sample Raman spectroscopy. *Lasers Med Sci*. 2018;33(8):1791-7. doi:10.1007/s10103-018-2543-4.
48. Li D-W, Zhai W-L, Li Y-T, et al. Recent progress in surface enhanced Raman spectroscopy for the detection of environmental pollutants. *Microchimica Acta*. 2013;181(1-2):23-43. doi:10.1007/s00604-013-1115-3.
49. Nickelsparg EI. Study of cytochrome c in living mitochondria. *Nature*. 2016;(3):17-25. (In Russ.). Никельшпарт Э. И. SERS — изучение цитохрома в живых митохондриях. *Природа*. 2016(3):17-25.