

ПРИМЕНЕНИЕ ИК СПЕКТРОСКОПИИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ЗАБОЛЕВАНИЙ (Обзор)

Л. В. Бельская

УДК 543.422:616-006

Омский государственный педагогический университет,
644043, Омск, Набережная Тухачевского, 14, Россия; e-mail: ludab2005@mail.ru

(Поступила 4 сентября 2018)

Представлен обзор данных по применению ИК-фурье-спектроскопии для диагностики онкологических заболеваний. Описаны объекты исследования — биологические жидкости, ткани, модельные системы для изучения экспериментальной неоплазии, охарактеризованы методологические особенности работы с каждой исследуемой системой. Приведено детальное описание спектральных особенностей, используемых для диагностики онкологических заболеваний, в том числе применение ИК спектроскопии для мониторинга процесса лечения, оценки эффективности лекарственной терапии, определения стадии заболевания и т. д. Охарактеризованы статистические методы обработки данных, получаемых с помощью ИК спектроскопии. Показаны основные ограничения метода ИК спектроскопии для диагностики онкологических заболеваний, а также перспективные направления и возможности внедрения в клиническую практику.

Ключевые слова: ИК-фурье-спектроскопия, онкология, диагностика.

This review presents data on the use of FT-IR spectroscopy for cancer diagnosis. The objects of study, namely biological fluids, tissues, and model systems for studying experimental neoplasia, as well as the methodological features of working with each system under investigation are described. A detailed description of the spectral features applicable for cancer detection is given, including the use of IR spectroscopy to monitor the treatment process, evaluate the effectiveness of drug therapy, determine the stage of the disease, etc. Statistical methods for processing the data obtained by IR spectroscopy are shown. The main limitations of IR-spectroscopy for the detection of oncological disease and the potential of its introduction into clinical practice are described.

Keywords: IR-Fourier spectroscopy, oncology, diagnosis.

Введение. В глобальном масштабе онкологические заболевания — одна из ведущих причин смертности, в связи с чем разработка стратегий ранней диагностики рака имеет большое значение [1—3]. Биохимические изменения предшествуют морфологическим изменениям в клетках и тканях, поэтому изучение метаболизма раковых клеток представляется разумным подходом к ранней диагностике, прогнозу и мониторингу прогрессирования заболевания [4]. Известно, что ИК-фурье-спектроскопия является ценным инструментом для изучения метаболизма биологических образцов, таких как биологические жидкости, ткани, линии раковых клеток [5—7]. В отличие от процедур окрашивания и других гистопатологических подходов этот метод быстрый, неразрушающий и не требует реагентов [8, 9].

С использованием ИК-фурье-спектроскопии и многофакторного статистического анализа идентифицирован ряд изменений, касающихся содержания липидов, белков, нуклеиновых кислот и углеводов, некоторые можно рассматривать как потенциальные биомаркеры [10—12]. В ряде исследований показано, что диапазон $900\text{—}1300\text{ см}^{-1}$ является основным показателем канцерогенеза [13, 14]. Соотношение интенсивностей полос поглощения (ПП) нуклеиновых кислот ($1121/1020\text{ см}^{-1}$) признано одним из важнейших биомаркеров для дифференциации нормальных, доброкачественных и зло-

APPLICATION OF IR SPECTROSCOPY FOR CANCER DIAGNOSIS (Review)

L. V. Bel'skaya (Omsk State Pedagogical University, 14 Naberezhnaya Tukhachevskogo, Omsk, 644043, Russia; e-mail: ludab2005@mail.ru)

качественных клеток и тканей [15, 16]. В данном обзоре обобщены основные результаты по применению ИК-фурье-спектроскопии для диагностики онкологических заболеваний.

Объекты исследования в диагностике рака. В медицинских исследованиях наиболее часто используют биологические жидкости (кровь, мочу, слюну, цервикальную жидкость, синовиальную жидкость и т. д.), ткани (здоровые и опухолевые), модельные системы для изучения экспериментальной неоплазии (клеточные линии, лабораторные животные). Тип используемого образца в значительной степени определяет способ его подготовки к анализу.

Биологические жидкости. К достоинствам метода можно отнести необходимость использования небольших объемов проб, обычно порядка нескольких микролитров. Образцы, которые не используются сразу, необходимо замораживать и хранить при температуре $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Непосредственно перед анализом их следует полностью разморозить. При использовании сыворотки и плазмы крови спектры эритроцитов могут маскировать другие биомолекулы в составе образца, поэтому их следует удалять, за исключением случаев, когда исследованию подвергаются непосредственно эритроциты.

Биологические ткани. Для проведения анализа, как правило, используют образцы тканей, подготовленные для гистологических исследований. Подготовка включает в себя пропитывание образца парафином, которое необходимо для получения срезов толщиной, пригодной для исследования в световом микроскопе при проходящем свете. Парафиновый срез размещают на предметном стекле, окрашивают и исследуют под микроскопом.

Перед анализом парафин из образцов должен быть удален, поскольку известно, что он имеет интенсивные ПП при $\sim 2940, 2920, 2846, 1462$ и 1373 см^{-1} и может маскировать метиленовые группы нативной ткани. Однако методы депарафинизации мешают анализу интенсивностей ПП, в частности, наблюдается снижение уровня липидных углеводородных сигналов в области $2800\text{—}3000\text{ см}^{-1}$ [17]. Альтернативой служит моделирование вклада парафинов и численные методы депарафинизации образца [18]. Таким образом, на образец не влияет химическая депарафинизация, а интактная биохимическая информация об исследуемой ткани применяется для спектральной гистологии.

При использовании ткани для визуализации и выделения типа тканевых клеток толщина образца не является проблемой. Однако чем толще образец, тем больше вероятность зондирования гетерогенных слоев и, возможно, нескольких типов клеток, что делает сигнал менее чистым. Достоинства использования парафина — возможность хранения ткани в течение длительного времени, при этом парафин удерживает биологическую ткань от контакта с субстратами, например металлическими пленками [6, 19]. Однако в ряде исследований показано, что для сложной спектральной гистохимии подходят образцы только свежих тканей [17]. Химическая обработка образцов, типичных для депарафинизации, резко меняет выводы спектрального анализа [20].

При исследовании замороженных образцов тканей перед ИК анализом ткань должна быть полностью разморожена. После оттаивания образца компоненты могут начать разрушаться, поэтому анализировать их необходимо как можно быстрее. Однако замороженные образцы тканей можно хранить в течение нескольких месяцев без серьезных проблем помимо окисления липидов, что видно по уменьшению интенсивности ПП карбонильных групп сложных эфиров (разлагаются в течение двух недель, чего можно избежать, если хранить образцы в атмосфере N_2). Несмотря на то что при замораживании отсутствует необходимость использования фиксаторов, таких как формалин или парафин, в процессе может быть повреждена структурная целостность ткани.

Клеточные линии. При использовании фиксированных клеток среда, в которой культивировались клетки, должна быть полностью удалена до того, как клетки будут помещены в фиксатор (этанол или формалин). При фиксации формалином клетки следует дважды промыть в фосфатном буферном растворе (PBS) в течение по меньшей мере 30 мин перед тем, как поместить суспензию в формалин. Непосредственно перед проведением ИК спектроскопии клетки следует промыть в солевом растворе Хэнкса (HBSS) для удаления остаточных фосфат-ионов, для фиксации этанолом — промыть три раза в этаноле ($C_{\text{мин}} = 70\text{ об.}\%$), после чего оставить в этаноле в течение ≥ 1 ч. После фиксации слайды необходимо высушить в течение 24 ч в эксикаторе для испарения остаточного этанола.

Клеточные линии можно выращивать на ИК субстратах, которые сначала стерилизуются в 70 %-ном этаноле, поскольку выращивание непосредственно на слайдах может сохранить морфологию клеток. Клеточные культуры можно выращивать в 3D-матрице, которая затем фиксируется или замораживается для максимального приближения к естественным условиям изучения клетки. При выращивании на слайдах клетки обычно бывают тонкими, так как они растут и растягиваются по 2D-поверхности. Фиксированные клетки, которые затем помещаются на слайды, могут быть не-

равномерными по толщине, однако этого можно избежать с помощью центрифугирования для пропорционального распределения клеток по субстрату.

В случае живых клеточных культур клетки следует отделять от субстрата с использованием трипсина, а затем хранить при 4 °С для предотвращения автолиза. Клетки в суспензии должны быть промыты PBS для удаления остаточной среды или трипсина. Клеточная суспензия помещается на ИК слайды в виде микрокапель. Клетки можно выращивать непосредственно на съемном отражающем элементе. Живые клетки анализируются *in situ* с использованием микрожидкостных устройств. Для получения лучших результатов измерения необходимо выполнять на одиночных живых клетках.

Особенности регистрации ИК спектров. Существует множество методов получения ИК спектров тканей и жидкостей, простейшие из них — методы пропускания. Для биологических жидкостей небольшие объемы (5—10 мкл) образца помещаются между парой стекол из CaF₂ или BaF₂. В среднем ИК диапазоне (4000—200 см⁻¹) оптическая длина пути не должна превышать 10 мкм из-за наличия интенсивного поглощения воды. Даже в этих условиях поглощение воды доминирует в спектре, в результате чего идентификация растворенных или взвешенных веществ может быть затруднена. Проблемы, связанные с наличием воды в образце, могут быть устранены путем вычитания спектра воды или высушивания образца с образованием тонкой пленки. Следует учитывать, что сушка образцов может привести к потере летучих компонентов биологических жидкостей, а также к потере информации, касающейся гидратации материалов.

Для тканей измерения пропускания осуществляются таким же образом. Образцы могут быть представлены небольшими кусочками ткани (до 1 мм³) или тонкими срезами. В любом случае образец помещается между окнами из CaF₂. Для некоторых тканей (например, кожи, мышц) такой подход невозможен из-за высокой механической прочности образца, для них рекомендуются проводить измерения нарушенного полного внутреннего отражения (НПВО). Метод основан на отражении пучка на границе раздела двух фаз — фазы кристалла НПВО с относительно высоким показателем преломления и фазы исследуемого образца с более низким показателем преломления. Наблюдаемые частоты поглощенного излучения совпадают с частотами, получаемыми в ИК спектроскопии пропускания. Данный подход представляет большой интерес для биомедицинской области, поскольку не требует специальной подготовки образца. Однако следует отметить, что измерения НПВО ограничены проникновением затухающей волны, т. е. глубиной ~1 мкм. Это ограничение делает такие измерения очень чувствительными к “краевым эффектам”, в том числе из-за микромеханических и окислительных изменений.

Основной недостаток подходов, основанных на измерениях пропускания, — нарушение физической целостности ткани, что препятствует последующему гистологическому анализу. Этой проблемы можно избежать с помощью ИК микроскопов, в которых ИК свет фокусируется на небольшом участке среза ткани, затем спектры последовательно регистрируют со всей поверхности ткани растровым сканированием с компьютерным управлением. Таким образом можно получить полную спектроскопическую картину среза ткани с высоким пространственным разрешением. Образец или срез ткани затем можно окрашивать и анализировать стандартными гистологическими методами. Это обеспечивает прямую корреляцию между спектрами и гистологией образца, что способствует более качественной спектральной интерпретации.

Во всех исследованиях с участием биологических материалов возникают вопросы разрушения образцов со временем, что можно предотвратить путем фиксации с помощью 70 %-ного этанола или формалина. Однако данные фиксаторы сильно поглощают ИК излучение и являются источником потенциальных артефактов в спектрах. Кроме того, они сохраняют ткани путем инактивации деградирующих ферментов, которые также могут вносить артефакты в спектры, особенно в случаях, когда инактивация отражается в изменениях конформации белка. Суспензия культивируемых опухолевых клеток в 70 %-ном этаноле значительно изменяет абсорбцию клеточных белков по сравнению с суспензией в изотоническом физиологическом растворе. Это наиболее заметно по изменению интенсивности ПП белка при 1625 и 1680 см⁻¹, которая увеличивается при длительном суспендировании в спирте. Фиксация этанолом также снижает интенсивность ПП С=О эфира, что свидетельствует о снижении содержания липидов в клетках, фиксированных этанолом. Снижение содержания липидов отражает сольбилизацию мембранных липидов этанолом. ИК спектры клеток, высушенных в формалине, не показывают характерного поглощения, связанного с белковыми агрегатами. Это указывает на то, что фиксация формалином не вызывает денатурации белка. Наличие формалина приводит к появлению ПП в интервале 1000—1500 см⁻¹. Узкие ПП соответствуют формальдегиду, который

остается в кристаллах соли в пленке, и не присутствуют, если клеточную суспензию промыть изотоническим солевым раствором перед сушкой. Таким образом, более предпочтительно использовать для фиксации формалин, однако при этом клетки и ткани должны быть промыты изотоническим солевым раствором перед получением спектра.

Особенности ИК спектров при диагностике отдельных видов онкологических заболеваний.

Рак молочной железы. Сравнение спектров тканей молочной железы показывает, что при раке максимумы ПП колебаний N–H- и C=O-групп имеют другие частоты, чем при фиброзно-кистозной мастопатии и фиброаденоме [21]. При раке молочной железы полоса амид А в спектре смещается с 3295 до 3315 см^{-1} , амид I с 1656 до 1643 см^{-1} , что сопровождается изменением контура ПП амид А и уменьшением интенсивности ПП амид I при сравнении с интенсивностью ПП амид II. При раке молочной железы в спектре наблюдаются снижение интенсивности ПП в области колебаний C=O-групп, которые участвуют в образовании внутримолекулярных связей C=O...H–N (1660—1650 см^{-1}), рост интенсивности ПП в более высокочастотной области колебаний C=O (1700—1680 см^{-1}), рост поглощения в области 3480—3450 см^{-1} , где находятся ПП свободных NH-групп, и появление новых высокочастотных ПП N–H-групп в интервале 3350—3320 см^{-1} . Эти спектральные признаки обусловлены изменениями в структуре белков вследствие разрывов внутримолекулярных связей C=O...H–N. Разрывы водородных связей между NH- и C=O-группами приводят к повороту фрагментов макромолекул вокруг связи C–N и перестройке в белках злокачественных опухолей всей системы водородных связей.

Относительная интенсивность основных ПП — важный спектральный параметр для получения полуколичественной информации об относительном содержании биомолекул в исследуемых тканях [22]. Так, спектральные данные указывают на увеличение содержания белка и нуклеиновых кислот в образцах злокачественных опухолей. Относительная интенсивность ПП 1657/1539, 1657/1244 и 2928/2864 см^{-1} на фоне рака молочной железы растёт.

В целом при раке молочной железы показано снижение уровня липидов [10, 23, 24], значительное увеличение отношения интенсивностей ПП амид I и амид II, рост абсорбции белка [25, 26]. Также существенно повышается отношение РНК/ДНК (~1120/~1030 см^{-1}), что может быть объяснено более высокой метаболической активностью раковых клеток при прогрессировании рака [27].

Сравнение ИК спектров доброкачественных и злокачественных тканей молочной железы показывает, что в спектрах раковых тканей наиболее сильно проявляется ПП 1083 см^{-1} нуклеиновых кислот и ее отношение к ПП амид II 1548 см^{-1} значительно возрастает на фоне канцерогенеза [28]. Интенсивность ПП 1045 см^{-1} уменьшается по сравнению с ПП 1083 см^{-1} , что свидетельствует о снижении содержания гликогена. Соотношение интенсивностей ПП CH_2 и CH_3 увеличивается, что указывает на увеличение содержания CH_2 в злокачественных тканях.

По данным [29], основные спектральные изменения на фоне рака молочной железы регистрируются для ПП 2925 и 2910 (CH_3), 2853 (CH_2), 1035, 930, 910, 855—865 см^{-1} (рибоза). Очевидно, что изменяется картина фосфорилирования липопротеинов и гликозилирования белков.

В [30] в спектрах злокачественной ткани наблюдались ПП при 1051, 1417 и 1645 см^{-1} , которые отсутствовали в спектрах здоровой ткани. Эти максимумы уникальны для вибрации СО-связей гликогенов и СОО-связей белков. Общие ПП как для злокачественной, так и для здоровой ткани молочной железы: 964 см^{-1} (связывание в гликогенсодержащей PO_4 -группе), 1462 см^{-1} (CH_2 и CH_3), 2872 и 2958 см^{-1} (CH_3 - и CH_2 -группы липидов). Для здоровой ткани молочной железы характерны дополнительная ПП при 1049 см^{-1} , представляющая растяжение связей гликогенсодержащей СО-группы, а также ПП 1411 и 1654 см^{-1} , которые образуются первичными амидными структурами [31].

В [32] изучены замороженные образцы тканей молочной железы, которые включают в себя нормальную ткань, гиперплазию, фиброаденому и инвазивную проточную карциному. ПП 970 см^{-1} (симметричная PO_3 -2-ДНК и РНК-рибоза) проявляется сильнее для тканей карциномы и слабее для доброкачественной ткани по сравнению с нормальными тканями. Обнаружено, что ПП РНК-рибозы при 1163 см^{-1} в спектрах доброкачественной ткани сдвигается до 1171 см^{-1} для тканей карциномы и изменяется отношение интенсивностей ПП 1459 и 1239 см^{-1} . Показано, что различия в относительном содержании нуклеиновых кислот и белка коллагена в тканях молочной железы имеют важное значение не только для исследования и анализа развивающегося процесса поражения на молекулярном уровне, но и для оценки гистологических типов и классов рака молочной железы.

ИК спектры здоровой ткани, гиперплазии, фиброаденомы и карциномы молочной железы также проанализированы в [33]. Показано, что для злокачественных тканей ПП в области 3000—3600 см^{-1} смещаются в низкочастотную сторону, при этом отношение интенсивностей ПП 3300/3075 см^{-1} зна-

чительно выше для фиброаденомы. Для злокачественных тканей частота полосы α -спирали амид I уменьшается, в то время как частота полос амид β -складчатой структуры увеличивается. Соотношения I_{1657}/I_{1635} и I_{1553}/I_{1540} растут для фиброаденомы и карциномы, I_{1680}/I_{1657} уменьшается при переходе от здоровой ткани к гиперплазии, а затем фиброаденоме и карциноме молочной железы, I_{1651}/I_{1545} незначительно увеличивается для фиброаденомы и карциномы. ПП при 1204 и 1278 см^{-1} , отнесенные к колебательным модам коллагена, не появляются в исходных спектрах в виде разрешенных максимумов и отчетливо сильнее для тканей карциномы. Соотношения I_{1657}/I_{1204} и I_{1657}/I_{1278} , дающие информацию об относительном содержании коллагена, увеличиваются в ряду здоровая ткань—гиперплазия—карциномы и фиброаденомы.

В [34] изучены ИК спектры тканей молочной железы и осуществлена попытка автоматизировать постановку диагноза. Та же группа авторов в [35] работала над ИК спектроскопией внеклеточного матрикса молочной железы, где оценивались ПП 1636 и 1628 см^{-1} . Интенсивность ПП 1628 см^{-1} выше при раке, что связано с агрегацией белка на фоне прогрессирования заболевания. Кроме того, показана возможность выявлять заболевание на ранней стадии, когда морфологические изменения еще не начались. В [36] исследовано фенотипирование лимфоцитов периферической крови. Авторам впервые удалось охарактеризовать опухолевые инфильтрирующие лимфоциты при раке молочной железы. Кроме того, выявлены спектральные признаки CD4+ Т-клеток, CD8+ Т-клеток и В-клеток, а также проведена дифференциация вспомогательных и цитотоксических Т-клеток. В [37] разработаны критерии распознавания В-клеток, Т-клеток, эритроцитов, соединительной ткани и двух типов активированных В-клеток в нормальных (здоровых), реактивных и злокачественных лимфатических узлах [38, 39].

Диагностика рака молочной железы на основе спектров образцов сыворотки крови с помощью анализа PCA-LDA проведена в [40]. Показано, что в диапазоне 3090—3700 см^{-1} для разделения групп здоровых и больных важны ПП 3297, 3424, 3435 и 3451 см^{-1} . В области 1510—1760 см^{-1} выделены ПП 1550, 1593 и 1652 см^{-1} , тогда как в области 2800—3000 см^{-1} идентифицированы ПП 2873, 2884, 2930, 2946 и 2960 см^{-1} [41]. В диапазоне 1710—1760 см^{-1} получены основные дискриминирующие ПП 1726 и 1741 см^{-1} , в диапазоне 950—1200 см^{-1} — 1080, 1095, 1107, 1139, 1167 и 1188 см^{-1} [42]. Основные отличительные ПП диапазона 1190—1350 см^{-1} находятся при 1244, 1271, 1313 и 1338 см^{-1} . Результаты показали, что диагностику рака молочной железы можно провести с чувствительностью 84 %, специфичностью 74 % и точностью 83 %.

По данным [43], имеются явные различия в спектрах поглощения плазмы крови пациентов со злокачественными и доброкачественными опухолями, а также здоровых. Для получения информации и уменьшения влияния рассеяния проанализированы вторые производные спектров. Значительные различия обнаружены при ~ 1160 см^{-1} (соответствует поглощению С–О белков и углеводов) и ~ 1655 см^{-1} (поглощение амид I) [6]. Показаны значительные различия интенсивностей ПП 923, 1072 и 1205 см^{-1} между пациентами с размером опухоли больше или меньше 20 мм. Участие лимфатических узлов не связано с какими-либо изменениями в поглощении. Анализ с учетом стадии опухоли показал значительные различия ПП ~ 1316 см^{-1} (амид III) и ~ 876 см^{-1} , тогда как различия между протоковыми или лобулярными карциномами наблюдались в основном при ~ 1190 , 961 и ~ 808 см^{-1} . Поражение сосудов значительно влияет только на две области спектров: 1447 и 898 см^{-1} .

Две ПП в ИК спектрах при 1036 и 1652 см^{-1} (для гликогена и белков) проявляют выраженное увеличение интенсивности в поздней фазе метастазирования рака молочной железы в легких [44]. В нескольких исследованиях с использованием ИК спектроскопии указаны высокие уровни гликогена в опухолевых клетках, тканях и мокроте легких путем оценки интенсивности ПП в области 1030—1045 см^{-1} [45, 46]. Высокое содержание гликогена имеет важное значение для использования глюкозы и метаболической адаптации, вызванной гипоксией в злокачественных клетках [47]. Колебания С–О протеогликанов также могут способствовать появлению максимума 1036 см^{-1} [48]. Они являются основным компонентом внеклеточного матрикса и играют решающую роль в миграции опухолевых клеток и образовании метастазов [49]. Подобно [50], где изучены ИК спектры микрометастаза рака молочной железы в лимфатических узлах, отмечено увеличение поглощения полосы амид I, представляющей содержание белков. Это открытие хорошо согласуется с более высокой активностью ферментов при карциноме. Злокачественные клетки секретируют протеазы (например, коллагеназу), которые переваривают компоненты внеклеточного матрикса, помогая раковым клеткам вторгаться в соседнюю нормальную ткань. Единственное изменение, характерное для фазы раннего метастазирования, — повышение интенсивности ПП 1513 см^{-1} , приписываемой тирозину. Это может ука-

зывать на начало злокачественного процесса, связанного с увеличением содержания ферментов тирозинкиназы. Ее активность фосфорилирования играет существенную роль в клеточном цикле, пролиферации, дифференциации, подвижности и гибели или выживании клеток и в значительной степени deregулируется в раковых клетках. В здоровой паренхиме легких коллагены I и III наиболее распространены в соотношении 2:1 [44]. В данном исследовании в контрольном спектре обнаружены три ПП при 1200, 1231 и 1280 см^{-1} , типично преобладающие для тройной спирали коллагена I [51]. Когда микрометастазы колонизируют легкие, появляется новый максимум при 1297 см^{-1} . Поглощение этого сигнала увеличивается при росте опухолей, тогда как ПП 1280 см^{-1} исчезает, а две другие коллагеновые полосы сдвигаются от 1231 и 1200 см^{-1} при контроле. Эти спектральные чередования могут быть связаны с линеаризацией и переориентацией волокон коллагена, окружающих опухолевые клетки.

Исследование [23] посвящено применению ИК спектроскопии для идентификации спектральных биомаркеров при прогрессировании рака молочной железы с метастазами в кости на 3D-модели *in vitro*. Результаты показывают, что спектральные биомаркеры включают в себя липиды (асимметричное CH_2 /симметричное растяжение CH_2), амид I/амид II и РНК/ДНК.

В [52] изучены спектры нормальной ткани, гиперплазии, фиброаденомы, протоковой карциномы и инвазивной протоковой карциномы. Интенсивность ПП при 538 см^{-1} , связанной с дисульфидными мостиками в цистеине, соответствующими колебательному режиму S-S, больше для доброкачественных тканей молочной железы. Обнаружено, что литосомальные цистеиновые протеазы катепсин В и катепсин L участвуют в распространении опухолей и метастазировании. ПП при 853 см^{-1} также значима, ее интенсивность больше для доброкачественных и меньше для раковых тканей. Однако ПП ~935 см^{-1} имеет более высокую интенсивность для злокачественных тканей. Поглощение здесь связано с C-C-связыванием и α -спиральным связыванием из-за присутствия пролина, валина, белка и гликогена. ПП при 1005 см^{-1} обусловлена симметричной колебательной формой кольца из-за присутствия фенилаланина. Обнаружено, что абсорбция выше для доброкачественных тканей по сравнению с раковыми. ПП при 1080 см^{-1} связана с колебательными модами (C-C), (C-O), (PO_2), (C-N), (O-P-O). Она характеризует присутствие нуклеиновых кислот, белков и углеводов.

Детальный анализ ИК спектров опухолей молочной железы человека и экспериментальных опухолей у мышей (саркома 180, C57B1/6) позволяет идентифицировать ряд закономерностей изменений этих спектров, полезных для диагностики и мониторинга химиотерапии рака [53, 54]. Спектроскопические параметры тканей молочной железы человека в раковых и опухолевых тканях у мышей со штаммом саркомы 180 оказались идентичными. В ИК спектрах злокачественных опухолей человека в области колебаний C=O наиболее интенсивная ПП находится в интервале 1710—1680 см^{-1} ($\nu_1(\text{C=O})$), тогда как для доброкачественной опухоли молочной железы наиболее интенсивные ПП регистрируются в интервале 1675—1650 см^{-1} ($\nu_2(\text{C=O})$). Использование отношения $D(\nu_1(\text{C=O}))/D(\nu_2(\text{C=O})) \geq 1.00$ позволяет выявить заболевание, а затем контролировать процесс химиотерапии.

О разработке метода ИК микроскопии в сочетании с анализом основных компонентов (РСА) для мониторинга эффектов химиотерапии у пациентов с тройным негативным раком молочной железы сообщается в [55]. В работе [56] описан неразрушающий метод с использованием ИК микроскопии для анализа гистопатологических образцов. Это исследование является первой попыткой описать четкие спектральные различия между степенями рака протоков *in situ* (DCIS). Расширяя возможности ИК визуализации для исследования субклеточных структур, авторы [57] сообщают об извлечении интактных хромосом из клеток рака молочной железы и их ИК спектроскопическом анализе в качестве нового подхода для понимания изменений, связанных с молекулярной структурой ДНК при раке молочной железы.

Рак головного мозга. Злокачественные глиомы представляют собой агрессивные опухоли, ангиогенные и неоднородно проникающие в паренхиму головного мозга, что делает их резекцию крайне трудной. Для преодоления ограничений современных методов диагностической визуализации в [58] предложено использовать ИК визуализацию с пространственным разрешением 6—10 мкм с целью получения молекулярной информации для гистологического исследования на основе различия между нормальной и сосудистой сетями опухоли. Классификация ИК спектров кровеносных сосудов проведена с использованием интервалов 3050—2800 и 1180—950 см^{-1} с образованием двух кластеров, соответствующих здоровым и опухолевым частям срезов тканей. Этот метод классификации в дальнейшем успешно протестирован на срезах человеческой глиомы.

В [59] предсказан первичный метастаз опухоли головного мозга с использованием ИК спектроскопии, при этом достигнуты показатели классификации 98.8 % для ткани головного мозга,

98.4 % для некроза и 94.4 % для карциномы. Два разных класса глиомы человека на основе ИК изображения кровеносных сосудов различали в [60]. В [61, 62] использована ИК спектроскопия для выявления биохимических различий между популяциями клеток глиобластомы с высокой и низкой степенью злокачественности и скрининга биохимических изменений, связанных с развитием глиомы. В работе [63] дифференцировали нормальную ткань головного мозга с различными типами опухолей (менингиома, глиома и метастазы в мозг). Аналогичное исследование выполнено в [64] с целью различения нормальной мозговой ткани и метастаз опухоли головного мозга. В [65] проанализированы образцы плазмы крови для отличия нормальных тканей от первичных или метастатических опухолей головного мозга. Возможности ИК спектроскопии плазмы крови для классификации глиальных опухолей высокой и низкой злокачественности с точностью >90 % продемонстрированы в [66].

ИК спектры РНК, выделенных из опухоли головного мозга (глиомы), и ДНК, выделенной из низкодозовых γ -облученных клеток эпидидимиса крыс из зоны аварии на Чернобыльской АЭС, исследованы в работах [67, 68]. Цель состояла в изучении повреждения нуклеиновых кислот, в том числе первичной, вторичной и третичной структур, что связано, по-видимому, с модификацией оснований и сахаров и перераспределением сети Н-связей. В [69] предложен метод визуализации на основе ИК спектроскопии для пространственно разрешенного анализа вторичной структуры различных типов коллагена в сложных образцах, в частности для характеристики глиом.

Рак предстательной железы. Проведено несколько исследований клеточных линий рака предстательной железы с помощью ИК спектроскопии [70—72]. Как показано в [73], отношение ПП, связанных с колебаниями гликогена (1030 см^{-1}) и фосфата (1080 см^{-1}), можно использовать для дифференциации доброкачественных и злокачественных клеток предстательной железы. Кроме того, ИК спектры тканей, полученных при биопсии предстательной железы, коррелируют с клинической стадией опухоли и индексом Глиссона с чувствительностью >80 % [74]. Данные ИК спектроскопии и инвазивного потенциала рака предстательной железы сопоставлены в [70]. Эти результаты могут улучшить разработку диагностических методов для выявления и лечения рака предстательной железы. Большой прорыв для потенциала молекулярной гистопатологии предстательной железы сделан авторами [75], которые предложили комбинировать ИК спектроскопическую визуализацию и статистическое распознавание образов. Вместо ручной оценки биопсий ИК техника может помочь в автоматическом и быстром распознавании рака предстательной железы с точностью >97 % [76]. Аналогично автоматизированная оценка высокой пропускной способности образца биопсии рака предстательной железы на основе ИК изображения изучена в [77]. Авторы [78] использовали ИК спектроскопию для детального изучения прогрессирования рака, характеризуя молекулярные изменения, связанные с гистопатологической морфологией. Основное преимущество этого метода — изучение молекулярных компонентов биологических процессов с сохранением топографической целостности ткани и исключение длительных этапов экстракции, очистки и разделения. Кроме того, этот новый инструмент позволяет различать злокачественные и нормальные ткани с номинальным боковым разрешением $6.25 \times 6.25\text{ мкм}$ на срезах замороженной ткани. ИК микроспектроскопия в сочетании с алгоритмом анализа основных компонентов дискриминантных функций (PC-DFA) применена к классификации образцов ткани рака предстательной железы. В работе [79] показана связь спектральных характеристик с клинически агрессивным поведением рака предстательной железы с чувствительностью 92.3 % и специфичностью 99.4 %.

Рак мочевого пузыря. ИК спектроскопия применяется для дифференциации нормальных и злокачественных тканей мочевого пузыря в [80, 81]. Для сравнения спектров нормальных и злокачественных тканей использованы интенсивности ПП белка ($1650/1550\text{ см}^{-1}$), липидов ($2925/2850\text{ см}^{-1}$) и нуклеиновых кислот ($1080/1236\text{ см}^{-1}$). Показано, что соотношение интенсивностей ПП амид I/II для злокачественных тканей увеличивается, тогда как соотношение ПП липидов $2925/2850\text{ см}^{-1}$ снижается [82]. Отношения интенсивности ПП нуклеиновых кислот и фосфолипидов в злокачественных тканях значительно выше, чем в нормальных тканях [83].

Рак щитовидной железы. Методами ИК спектроскопии изучены молекулярная структура белков в тканях щитовидной железы [84]. Установлено, что ПП колебаний C=O состоит из нескольких ПП различной интенсивности с максимумами в интервалах $1710\text{—}1680$, $1675\text{—}1650$ и $1640\text{—}1620\text{ см}^{-1}$. В спектрах злокачественных опухолей наиболее интенсивны ПП в интервале $1710\text{—}1680\text{ см}^{-1}$, а в спектрах доброкачественных опухолей и тканей щитовидной железы, расположенных вне патологического очага на расстоянии $>1\text{ см}$, наиболее интенсивные ПП расположены в интервале

1675—1650 см^{-1} . Указанные различия в спектрах обусловлены изменениями структуры системы водородных связей и увеличением числа свободных С=О-групп в белках злокачественных опухолей.

В [85] показано, что при метастазировании рака щитовидной железы интенсивности ПП 1240 см^{-1} (связаны с нуклеиновыми кислотами), 3280, 1640 и 1546 см^{-1} (с азотсодержащими веществами) и 1400 см^{-1} (с липидом) значительно увеличиваются. Напротив, интенсивности ПП 2925, 2855 и 1743 см^{-1} (липиды) и 1165 см^{-1} (углеводы) заметно уменьшаются. Авторами предложено использовать положение ПП при 1400 и 1165 см^{-1} , а также отношения интенсивностей I_{3280}/I_{1460} , I_{1640}/I_{1460} , I_{1546}/I_{1460} , I_{1400}/I_{1460} , I_{1085}/I_{1460} для разделения метастатического и неметастатического рака щитовидной железы.

Рак кожи. При анализе образцов базальноклеточной карциномы и нормальной кожи показано [86], что интенсивность ПП при 972 см^{-1} , обусловленной симметричными колебаниями фосфатных групп фосфорилированных белков и нуклеиновых кислот, в злокачественных тканях увеличивается, ПП при 1241 см^{-1} , связанная с $\nu_{\text{as}}(\text{PO}_2)$ -вибрацией фосфодиэфирных групп в нуклеиновых кислотах, расщепляется на две ПП при 1245 и 1220 см^{-1} . Интенсивность ПП $\nu_{\text{s}}(\text{PO}_2)$ при 1082 см^{-1} увеличивается, максимум смещается до 1086 см^{-1} при базальноклеточной карциноме. Спектр в области 1140—1185 см^{-1} показывает, что ПП $\nu(\text{C}-\text{O})$ состоит из перекрывающихся полос 1163 и 1173 см^{-1} для нормальных тканей, 1152 и 1173 см^{-1} для злокачественных. Отмечено, что интенсивность ПП 2851 см^{-1} увеличивается ($\nu_{\text{s}}(\text{CH}_2)$), тогда как ПП 2958 см^{-1} уменьшается ($\nu_{\text{s}}(\text{CH}_3)$) при базальноклеточной карциноме.

Сравнение ИК спектров эпидермиса, опухолевой ткани, оболочек фолликулов и дермы с помощью линейного дискриминантного анализа проведено в [87]. Спектры нормального эпидермиса и базальноклеточной карциномы значительно различаются в силу тонких различий в структуре белка и содержании нуклеиновых кислот. Спектры базальноклеточной карциномы, плоскоклеточной карциномы, невуса и злокачественной меланомы качественно подобны. Поэтому спектральное разделение аномальной и нормальной ткани может быть достигнуто с высокой чувствительностью и специфичностью [87].

В работе [88] проведено сравнение нескольких линий опухолевых клеток кожи. Показаны спектральные различия для разных типов клеток, однако выявлено существенное влияние способа подготовки образцов клеток на результаты и сопоставимость спектров [89]. Увеличение интенсивности ПП 971 см^{-1} в неопластической ткани по сравнению с нормальной кожей, а также незначительный сдвиг до 970 см^{-1} отмечены в [90]. Дополнительно описаны отличия в диапазоне 1500—1700 см^{-1} , несущем информацию о пептидной связи в белках и их вторичной структуре [91, 92]. Для злокачественной ткани появляется ПП при 1517 см^{-1} , интенсивность ПП 1655 см^{-1} , связанной с колебаниями α -спиральной структуры белков, растет. ПП 1638 и 1694 см^{-1} связаны с вторичной β -складчатой структурой белков, а именно с параллельной и антипараллельной конфигурациями [93]. Показано, что ПП 1638 см^{-1} , связанная с параллельной конфигурацией, смещается в область более низких частот и ее интенсивность растет, тогда как ПП 1694 см^{-1} , напротив, смещается в высокочастотную область со снижением интенсивности.

В [94] использована ИК спектроскопия для идентификации >90 % типов клеток меланомы, а также различия стадий опухоли с точностью >88 %. Кроме того, исследована противоопухолевая активность дакарбазина, которая соответствует клинической реакции, при этом ИК спектры выявляют ключевое изменение количества липидов в клетках [95].

Рак яичников. В спектрах нормальной и злокачественной тканей яичников в средней ИК области обнаружены значительные различия в частоте и интенсивности ПП белков, нуклеиновых кислот и липидов [96]. ПП 1078 см^{-1} нормальной ткани сдвигается до 1069 см^{-1} в спектрах злокачественной ткани и увеличивается ее интенсивность. ПП 1238 см^{-1} практически “исчезает” в спектре злокачественной ткани. Разница, наблюдаемая для симметричных и антисимметричных колебаний фосфата, указывает на более высокое содержание ДНК в злокачественной ткани [97, 98]. По сравнению с нормальной тканью ИК спектр злокачественных тканей яичника проявляет сдвиг наряду с изменением интенсивности ПП, отнесенных к α - и β -структурам. Увеличение интенсивности более заметно в области, отнесенной к β -структуре белка, что можно объяснить α — β -конверсией во вторичной структуре белков в злокачественной ткани [99]. Показано, что интенсивность ПП при 2850 и 2919 см^{-1} резко возрастает для злокачественных тканей по сравнению с нормальными.

Исследования плазмы и сыворотки крови в сочетании с методами классификации для выявления рака яичников [100] показали, что для пограничных серозных опухолей наблюдается более низкий уровень липидов, особенно полос асимметричного растяжения CH_3 (2955 см^{-1}) и симметричного CH_2 -растяжения (2850 см^{-1}). Кроме того, снижается средняя абсорбция фосфолипидов и нуклеиновых кислот (1080 и 1240 см^{-1}). Эти параметры увеличиваются для злокачественных типов опухолей [101], что может быть связано с изменением метаболизма раковых клеток в сторону гликолиза, в результате чего они синтезируют большее количество жирных кислот, чем нормальные клетки [102]. Не наблюдается существенных различий в средних интенсивностях ПП белкового массива ($1700\text{—}1450 \text{ см}^{-1}$), амид I (1660 см^{-1}) и амид II (1553 см^{-1}) для злокачественных опухолей по сравнению с пограничной опухолью. Тем не менее заметно увеличивается содержание белка в клетках карциномы и аденокарциномы по сравнению с другими образцами [103]. Авторы предлагают использовать отношение интенсивностей I_{1080}/I_{1240} для разделения пограничных и злокачественных опухолей (0.33 ± 0.18 и 0.72 ± 0.19). Дополнительно рассчитывают I_{2920}/I_{2955} для дифференциации пограничных образцов по сравнению со злокачественными (1.75 ± 1.08 и 2.38 ± 0.28) [104].

В работе [105] сопоставлены подтипы овариальной карциномы в соответствии с уникальными спектральными сигнатурами их молекулярного состава. Для получения ИК спектров использованы клетки яичника, фиксированные парафином, после чего проведен хемометрический анализ в виде анализа основных компонентов (PCA), последовательного проекционного алгоритма (SPA) и генетического алгоритма (GA) с последующим линейным дискриминантным анализом (LDA), который выявил четкую сегрегацию между доброкачественными, пограничными и злокачественными опухолями. Рассчитано соотношение липидов и белков как отношение интенсивностей ПП $1730\text{—}1750 \text{ см}^{-1}$ и $1390\text{—}1410 \text{ см}^{-1}$. Данное отношение выше для неопластической ткани, ниже для пограничной и доброкачественной тканей. Также получено отношение интенсивностей ПП $1045\text{—}1055$ и $1535\text{—}1555 \text{ см}^{-1}$, которое статистически достоверно увеличивается при карциномах яичников относительно пограничной и доброкачественной тканей. Однако при сравнении отношения интенсивностей ПП РНК ($1111\text{—}1131 \text{ см}^{-1}$) и ДНК ($1010\text{—}1030 \text{ см}^{-1}$) карциномы яичников демонстрируют более низкие значения.

В [106] исследованы перитонеальные метастазы с целью дифференциации рака яичников и толстой кишки, в [107] изучены здоровые, доброкачественные и злокачественные ткани яичников с использованием ИК и КР изображений и исследованы биохимические изменения (белок, нуклеиновые кислоты и липиды), связанные с этим заболеванием. Кластерный анализ второй производной ИК спектров в областях $1540\text{—}1680$ и $1720\text{—}1780 \text{ см}^{-1}$ привел к двум четким кластерам, соответствующим злокачественной и нормальной+доброкачественной тканям. Кластер, соответствующий нормальному и доброкачественным тканям, продуцирует неперекрывающиеся подкластеры для нормальных и доброкачественных тканей с более низким уровнем гетерогенности. Используя эту методику на плазме и сыворотке крови пациентов с раком яичников, группа авторов [108] достигла точности 93.3 % для выделения здоровых пациентов, что демонстрирует потенциал в применении метода для раннего выявления рака яичников по плазме крови.

Рак шейки матки. Диагностика рака шейки матки с использованием ИК спектроскопии достаточно хорошо известна [109—113]. Продемонстрирована возможность классификации злокачественных образцов шейки матки и нормальных клеток по сравнению с золотыми стандартами, такими как гистопатология и мазки ППА. Показано различие спектральных характеристик при прогрессировании рака шейки матки (нормальные ткани до CIN1, CIN2/3 и инвазивные карциномы) [114].

В [115] установлено, что для ИК спектров нормальных эпителиальных клеток характерны интенсивные ПП гликогена при 1022 и 1150 см^{-1} и ПП $\nu_s(\text{PO}_2)$ при 1078 см^{-1} . На фоне дисплазии или злокачественных превращений наблюдалось в основном уменьшение интенсивности ПП гликогена [116]. Как показано в [117], сочетание ИК спектроскопии с PCA и последующим LDA облегчает идентификацию фосфата и гликогена в ИК области $950\text{—}1200 \text{ см}^{-1}$, что может быть использовано в качестве потенциального биомаркера.

Продемонстрированы возможности ИК микроспектроскопии в мониторинге пролиферации клеток, реакции на лекарственные препараты с использованием клеточных линий HeLa [118, 119]. Авторами разработана база данных ИК спектров для разных типов тканей, а также для разных стадий рака. Однако ИК спектроскопия требует нескольких этапов подготовки образца, что в конечном итоге может привести к возникновению артефактов, поскольку существует проблема гетерогенности реальных клеточных мазков [120].

В [121] показано, что отношение площадей двух спектральных областей между 1130—1180 и 1180—1260 см^{-1} является исключительно полезным фактором в распознавании предраковых тканей по сравнению с нормальными тканями шейки матки. Впервые оценка биопсии на основе ИК спектроскопии для различных степеней неоплазии (цервикальная интраэпителиальная неоплазия CIN1, CIN2 и CIN3) в сочетании с вероятностными нейронными сетями (PNN) и гистопатологией проведена в [122]. В работе [123] наблюдается соответствие между результатами, полученными методами полимеразной цепной реакции и ИК спектроскопии (для выявления вируса папилломы человека).

Все исследователи сходятся во мнении, что диапазон частот, используемый для анализа нормальных и злокачественных тканей, лежит в области 950—1800 см^{-1} [121, 124]. В [125] исследовано пять соотношений интенсивностей ПП (гликоген/нуклеиновые кислоты 1022—1035/1074—1082 см^{-1} ; нуклеиновые кислоты/углеводы 1074—1082/1150—1170 см^{-1} ; нуклеиновые кислоты/амид II 1074—1082/1532—1560 см^{-1} ; белки/амид I 1393—1414/1626—1654 см^{-1} ; нуклеиновые кислоты/белки 1074—1082/1393—1414 см^{-1}) для дифференциации различных типов цервикальных клеточных спектров [125]. Авторы [126] предложили алгоритм PCABFE (выделение пиково-скорректированных площадей объектов), в результате чего выявлено 32 новых признака (10 признаков из соотношения площадей ПП, 21 признак из соотношений интенсивностей ПП и 1 из угла наклона между ПП амид I и II), которые позволяют дифференцировать здоровые и злокачественные ткани.

Рак легкого. В [127] продемонстрированы спектральные различия между нормальными тканями, раком легкого и туберкулезными клетками. Наиболее значительны различия в отношении ПП 1030 и 1080 см^{-1} , относящихся к гликогену и фосфодиэфирам нуклеиновых кислот. В частности, в клетках рака легкого и в плевральных жидкостях уровни гликогена увеличены, что соответствует росту интенсивности ПП при 1030 см^{-1} .

В исследовании [128] для количественной оценки злокачественности рака легкого использованы интенсивности ПП при 1045 и 1465 см^{-1} , которые обусловлены гликогеном и холестерином. В случае $I_{1045}/I_{1465} > 1.4$ можно сделать вывод, что данный образец ткани представлен плоскоклеточным раком легкого или аденокарциномой. Кроме того, проведено микроскопическое картирование тканей, содержащих как злокачественные, так и здоровые участки, и продемонстрировано, что цветовая карта отражает небольшие изменения в пространственном распределении раковых клеток в тканях [128]. Роль гликолитического метаболизма в клетках рака легкого на основе ИК изображения на отдельных клетках описана в [129].

В [13] создана трехмерная искусственная мембрана с использованием коллагена I типа — одного из основных компонентов базальных мембран легочной ткани — для исследования инвазии опухолевых клеток рака легкого. Показано, что ПП при 1080 см^{-1} , а также ПП, соответствующие амидам A, I и II, коррелируют с гетерогенностью фенотипа клеток. Таким образом, ИК микроспектроскопия может быть быстрой и надежной методикой для оценки инвазии опухоли *in vitro*.

В [130] получены значительные различия между образцами здорового легкого и рака для ширины ПП при 1303 и 1240 см^{-1} , а также для интенсивностей ПП при 1120 и 1546 см^{-1} ; чувствительность и специфичность метода 96.7 %.

Авторы [131] предложили использовать несколько соотношений интенсивности ПП в спектрах тканей легкого, в частности ПП амид I и II (I_{1652}/I_{1546} см^{-1}). Показано, что для злокачественной ткани увеличиваются интенсивности ПП NH-групп [132], что предполагает изменения во вторичной структуре белка, а также представляет структурные изменения в α - и β -спирали белков в результате их раковой трансформации [133]. Кроме того, соотношение интенсивностей ПП липиды/амид I (I_{2861}/I_{1652}) уменьшается в случае злокачественной ткани по сравнению со здоровой. Поскольку раковые клетки реплицируются бесчисленно и очень быстро, они потребляют больше энергии, поэтому уменьшение данного отношения может быть связано с количеством липидов в клетке. Отношение интенсивностей ПП 1652 и 1252 см^{-1} дает информацию об относительном содержании коллагена и обычно увеличивается с ростом степени злокачественности [134]. Отношение интенсивности ПП 2861 и 2925 см^{-1} (CH_2/CH_3), обусловленное колебаниями растяжения метильных групп, уменьшается для злокачественных тканей и дает информацию об отклонениях в распределении липидов и белков [9]. Причина может заключаться в том, что в раковой клетке повышенное количество липидов подвергается автоокислению, приводя к образованию окисленных продуктов холестерина, а также наблюдается структурная конверсия содержания α -спирали в β -складчатую структуру. Обнаружено, что соотношение интенсивностей ПП 1045 и 1546 см^{-1} (гликоген/амид II) уменьшается для ткани рака легких по сравнению с нормальным аналогом. Уровни углеводов, как правило, связаны с прогрессиру-

ванием заболевания, а его метаболизм и абсорбция нарушаются на запущенных стадиях [135]. Для того чтобы иметь представление о распределении белков и содержания нуклеиновых кислот в опухолевой, а также в нормальной легочной ткани, авторы определили отношение интенсивностей ПП 1099 и 1546 см^{-1} (PO_2 /амид II), которое при раке уменьшается по сравнению с нормальными тканями. В [136, 137] проведено сравнение опухолевых тканей с нормальной паренхимой легкого. Отмечено, что для злокачественных тканей легкого происходит сдвиг ПП, соответствующих колебаниям функциональных групп, образующих липиды, углеводы, белки, ДНК и фосфолипиды. Для аденокарциномы отсутствуют максимумы в ИК спектрах, ответственные за присутствие групп глутамата и фосфолипидов. Кроме того, в случае аденокарциномы степени злокачественности G2 и G3 в спектре не зарегистрированы ПП ОН-групп. Показана применимость метода ИК спектроскопии к дифференциальной диагностике различных гистологических типов рака легкого (плоскоклеточный рак и аденокарцинома) [138].

В [139] ИК микроспектроскопия использована для различия нормальной, некротической и раковой тканей с точностью $>95\%$. Разработана классификация гистопатологических образцов рака легких и доброкачественной ткани [140]. Спектральный метод диагностики позволяет воспроизводимо и объективно диагностировать неокрашенные срезы тканей. В работе [141] подробное сравнение классической и спектральной гистопатологии (SHP) позволяет предположить, что SHP может достигать уровня диагностической точности, сравнимых с показателями иммуногистохимии.

В работе [142] рассчитано шесть отношений площадей ПП (A_{2959}/A_{1545} , A_{1650}/A_{1545} , A_{1080}/A_{1545} , A_{1080}/A_{1243} , A_{1080}/A_{1170} и A_{1655}/A_{1686}) для сравнения сыворотки крови пациентов с раком легких и здоровых людей. Значение A_{1080}/A_{1170} наиболее перспективно для проведения диагностики [129, 142].

Авторы [143] использовали панель из 92 ИК ПП, которые характеризуются абсорбцией, существенно различающейся для раковых и нормальных спектров мокроты, что связано с предполагаемыми изменениями уровней белка, нуклеиновой кислоты и гликогена в опухолях. Пять значимых ПП при 964 , 1024 , 1411 , 1577 и 1656 см^{-1} разделяли на две группы с использованием многомерного анализа: группа 1 — 100% случаев рака легкого, группа 2 — 92% случаев без рака. Анализ основных компонентов показывает, что эти ПП также позволяют отличать пациентов с раком легкого, у которых ранее был диагностирован рак молочной железы. Никакие образцы спектральных группировок не связаны с воспалением или другими заболеваниями дыхательных путей.

В работе [144] ИК микроспектроскопия применялась для оценки реакции клеток рака легких на химиотерапевтический агент гемцитабин. Исследования, проведенные на двух линиях клеток рака легких, показывают, что обработка таких клеток *in vitro* гемцитабином вызывает изменения их спектральной картины в области $950\text{—}1150\text{ см}^{-1}$. Наблюдается увеличение интенсивности ПП 1080 см^{-1} и I_{1080}/I_{1050} с ростом дозы гемцитабина. Кроме того, отношение I_{1080}/I_{1050} достигает фазы плато, когда достигнута смертельная доза 75 (LD75) в случае клеточной линии рака легких A549 и между LD50 и LD75 в случае клеточной линии CALU-1. Таким образом, можно не только обнаруживать изменения в спектрах при росте раковых клеток *in vitro*, но и коррелировать эти изменения с выживаемостью клеток.

Рак желудка. Опухоли из желудка, тонкого кишечника, толстой кишки, прямой кишки, печени и других частей пищеварительной системы изучены в [145]. Показано, что ПП $\text{C}=\text{O}$ липидов может наблюдаться в спектрах некоторых нормальных тканей, но редко встречается для злокачественных тканей. Относительная интенсивность ПП $1460/1400\text{ см}^{-1}$ уменьшается для злокачественной ткани. Для большинства нормальных тканей интенсивность ПП 1250 см^{-1} выше, чем ПП 1310 см^{-1} , тогда как для злокачественных тканей — наоборот.

Возможность использования ИК спектроскопии для диагностики патологий желудка, включая аденому и рак, изучена на неокрашенных образцах, полученных при биопсии [146]. Наиболее заметное отличие тканей рака и аденомы по сравнению с обычными образцами тканей — относительно низкая интенсивность ПП гликогена. ПП 1164 см^{-1} сдвинута до 1172 см^{-1} для образцов аденомы и раковых тканей. Авторами использован анализ основных компонентов (РСА) для изучения степени разделения между типами тканей. Для повышения точности прогнозирования при диагностике аденомы и рака желудка использовалось мягкое независимое моделирование классовых аналогов (SIMCA). Точность предсказания для нормальной ткани, аденомы и раковых тканей составляла 77, 30 и 87%. С помощью ИК микроскопии успешно дифференцированы нормальные и злокачественные ткани. Однако для эффективного извлечения соответствующей информации для дифференциации аденомы и рака желудка потребуется более сложный алгоритм.

В [147] проведено сравнение ИК спектров злокачественных и здоровых тканей желудка, различия наблюдались главным образом в областях ПП нуклеиновых кислот и липидов. Изучение ИК спектров образцов тканей желудка, полученных при эндоскопии, показало [148], что таким образом можно идентифицировать рак желудка, гастрит и нормальные ткани. В [149] выявлены изменения в тканях рака желудка по ПП липидов, таким как 2957, 2927, 2853 и 1740 см^{-1} , однако образцы в этих исследованиях в основном собирались из желудка при гастроскопии или хирургическом вмешательстве, что ограничивает возможности диагностики.

В работе [150] проведено сравнение эритроцитов пациентов с раком желудка и здоровых людей. Соотношения площадей ПП A_{1653}/A_{1543} (вторичные структуры белка), A_{1543}/A_{2958} (относительное содержание белков и липидов), A_{1106}/A_{1166} (структура и изменение содержания сахаров) и A_{1543}/A_{1106} (относительное содержание белков и сахаров) эритроцитов больных раком желудка существенно отличались от эритроцитов здоровых людей. Кроме того, ИК спектроскопия в сочетании с каноническим дискриминантным анализом дает возможность получить чувствительность 95 %, специфичность 70 %, точность 84.2 % и положительную прогностическую ценность 80.9 %.

ИК спектроскопия для сравнения сыворотки крови больных раком желудка и здоровых людей использована в [151]. Рассчитаны отношения I_{2959}/I_{2931} , I_{1646}/I_{1550} , I_{1314}/I_{1243} , I_{1453}/I_{1400} и I_{1080}/I_{1550} см^{-1} . Среди них I_{2959}/I_{2931} может быть стандартом для выделения пациентов с раком желудка. Дополнительно рассчитаны спектры вторых производных ИК спектров и получены три подходящие кривые с максимумами 1118 (РНК), 1076 (нуклеиновые кислоты) и 1028 см^{-1} (ДНК). Средние отношения РНК/ДНК составили 0.806 для пациентов с раком желудка и 2.902 для здоровых людей, что может быть использовано для диагностики рака желудка.

Рак пищевода. Согласно [152], спектральные критерии для выявления рака пищевода следующие: появляется новая ПП при 940 см^{-1} , исчезает ПП 1024 см^{-1} , уменьшается интенсивность ПП 1155 см^{-1} , увеличивается интенсивность ПП 1237 и 1740 см^{-1} ; происходит смещение ПП 933, 1080 и 1155 см^{-1} .

Существенные различия в ИК спектрах белков, сахаров, жиров и нуклеиновых кислот при сравнении нормальных и злокачественных тканей пищевода установлены в [153]. Белковая область спектров показывает, что ПП амид II ~ 1550 см^{-1} слабая и широкая для злокачественных тканей, а ее интенсивность уменьшается в отличие от нормальных тканей. Интенсивность ПП 1645 и 1453 см^{-1} уменьшается для злокачественных тканей по сравнению с нормальными тканями. ПП при 1080 см^{-1} интенсивнее в спектрах злокачественных тканей, что указывает на одну из наиболее важных характеристик раковых клеток — увеличение содержания ДНК в результате усиленной и неконтролируемой репликации. ПП при 1745 см^{-1} , обусловленная колебанием $\nu\text{C}-\text{O}$ ацильных цепей мембранных липидов, не наблюдается ни для одного из образцов злокачественных тканей. ПП при 2852, 2930, 2873 и 2958 см^{-1} также присутствуют в основном в спектрах нормальных тканей.

Несколько групп исследователей применяли ИК спектроскопию для обнаружения пищевода Барретта и предраковых изменений тканей пищевода [154, 155]. Показано [154], что образцы, содержащие дисплазию Барретта, характеризуются увеличением интенсивности ПП ДНК при 1026, 1081 и 1154 см^{-1} . Уникальная полоса 1117 см^{-1} в спектрах желудочной ткани объяснялась увеличением содержания гликопротеина. Аналогично авторы [155] объединили алгоритм кластеризации НСА и Ward в области 1300—930 см^{-1} с использованием пяти кластеров для различения нормальной плоскоклеточной ткани, пищевода Барретта и аденокарциномы пищевода с помощью ИК спектров. Полосы 1029, 1079 и 1150 см^{-1} во второй производной спектра связаны с накоплением гликогена в ткани Барретта по сравнению с нормальной тканью и аденокарциномой. Ткань Барретта также ассоциировалась с ПП 1080, 1124, 1171 и 970 см^{-1} , которые приписаны муцину.

Рак поджелудочной железы. В [156] изучена ДНК, выделенная из образцов аденокарциномы поджелудочной железы, для выявления структурных изменений, связанных с канцерогенезом. Кластерный анализ с использованием области 1192—1059 см^{-1} позволяет различать опухолевые и нормальные спектры ДНК с чувствительностью 87 % и специфичностью 80 %. В [157] сообщается, что интенсивность амидных ПП 1659, 1547 и 1232 см^{-1} снижена для злокачественных образцов по сравнению с нормальной тканью, а также с другими ПП, ассоциированными с белком. Наблюдается также снижение интенсивности ПП, связанных с липидом, для раковой ткани [158].

Рак печени. В [159—161] представлены результаты ИК спектроскопического исследования заболеваний печени. Основные различия ПП наблюдаются для злокачественных и нормальных клеток печени, при этом предложены коэффициенты A_{2955}/A_{2921} , A_{1744}/A_{1082} , A_{1640}/A_{1535} (A — площадь под максимумом), I_{1121}/I_{1020} , которые потенциально информативны для дифференциации клеток [162].

Рак кишечника. Авторами [163] ИК спектроскопия применена для выявления рака толстой кишки. Основные спектральные различия наблюдались в области 1740—900 см^{-1} . Несколько хемометрических методов, таких как дисперсионный анализ (ANOVA), кластерный анализ и линейный дискриминационный анализ (LDA), использовались для классификации ИК спектров. С помощью LDA спектры классифицированы с точностью 95.8 %, чувствительность и специфичность 100 и 93.1 %.

Изображения ИК спектров использованы для дифференциации воспалительных заболеваний кишечника и рака толстой кишки [164]. В [165] разработан метод, основанный на ИК спектральной гистопатологии, для автоматического определения типов тканей толстой кишки и областей аденокарциномы толстой кишки.

Исследованные в [166] с помощью ИК спектроскопии семь линий клеток аденокарциномы толстой кишки отображали почти все важные спектроскопические особенности тканей рака толстой кишки: повышение интенсивности водородных связей фосфодиэфирных групп нуклеиновых кислот, снижение интенсивности водородной связи С–ОН–групп углеводов и белков, появление ПП при 972 см^{-1} , сдвиг ПП 1082 см^{-1} до 1086 см^{-1} .

Как показано в [167], интенсивности ПП 1460 см^{-1} (связанные с липидом), 3260 см^{-1} (с азотом и водой), 1640 и 1550 см^{-1} (амидные группы, связанные с белком), 1080 см^{-1} (связанные с нуклеиновыми кислотами) значительно увеличиваются для злокачественных тканей. Напротив, интенсивности ПП 2925, 1400 и 1740 см^{-1} (связанные с липидом) и 1160 см^{-1} (с углеводами) заметно уменьшаются. Шесть параметров выбраны в качестве независимых факторов по данным PCA и *t*-теста: положение ПП 1080 и 1300 см^{-1} , отношения интенсивностей I_{1080}/I_{1460} , I_{1640}/I_{1460} , I_{3260}/I_{1460} , I_{1740}/I_{1460} .

По данным [168], в ИК спектрах опухолевых тканей отсутствуют ПП, характеризующие колебания функциональных групп нуклеиновых кислот (1085, 1249 см^{-1}), белков (1550, 1648 см^{-1}) и воды (3250 см^{-1}), по сравнению с здоровой тканью.

В [169] ИК спектроскопия применена для обнаружения структурных нарушений в ДНК колоректального рака. Незначительные структурные нарушения в раковой ДНК определены по различиям в спектральных областях, связанных с нуклеотидными основаниями и фосфодиэфирдезоксирибозным скелетом. Обнаружено, что в области 1670—1140 см^{-1} девять переменных (1659, 1616, 1599, 1582, 1525, 1500, 1356, 1228 и 1165 см^{-1}) являются оптимальными для классификационного моделирования. Спектральные данные дополнительно оценивались с помощью LDA с различными схемами перекрестной валидации, после уменьшения количества спектральных переменных до девяти достигнута диагностическая точность 70—86 %.

В [170] выявлены спектральные закономерности, используемые для выделения злокачественных тканей: обе полосы амид I и II более четкие, при этом ПП амид I смещается до 1661 см^{-1} . Соотношение интенсивностей ПП 1466/1400 см^{-1} выше для злокачественных образцов. Кроме того, в спектрах из неопластических зон ПП CH_2 (2849 и 2920 см^{-1}) более интенсивны по сравнению с ПП CH_3 (2960 и 2870 см^{-1}), вероятно, из-за процесса гипометилирования во время канцерогенеза. Небольшой синий сдвиг ПП С–ОН от 1164 до 1172 см^{-1} может быть связан с увеличением скорости процесса фосфорилирования, вызванного канцерогенезом, поскольку фрагмент С–ОН превращается в С–ОР, уменьшая количество Н-связей, которые стабилизируют здоровые ткани толстой кишки. Обнаружены различные спектральные закономерности для здоровых и злокачественных тканей в области 1150—1000 см^{-1} . Полосы при 1117 см^{-1} (здоровая ткань) и 1121 см^{-1} (рак толстой кишки) можно условно отнести к мутину [171].

Авторами [172] обнаружена дополнительная ПП при 1385 см^{-1} , которая присутствует только в спектрах злокачественных тканей, в том числе после химиотерапии, но отсутствует для здоровых образцов толстой кишки. Таким образом, эта ПП может стать ценным биохимическим маркером в диагностике колоректального рака. Кроме того, полученные результаты позиционируют ИК спектроскопию как потенциальный инструмент для определения края первичной опухоли, включая даже одиночные злокачественные клетки, перед процедурами резекции, что увеличивает шансы пациентов на выживание. Вторая производная ИК спектров демонстрирует структурные изменения в раковых тканях по сравнению со здоровыми тканями в диапазонах, типичных для нуклеиновых кислот и белков, что свидетельствует о метаболической дисфункции в раковых клетках.

Существуют различные особенности спектров злокачественных образцов толстой кишки [173]. Так, интенсивности ПП С–О \sim 1743 см^{-1} и ПП растяжения СН-колебаний \sim 2966, 2927 и 2858 см^{-1} , которые связаны с содержанием липидов и жиров, уменьшаются и даже исчезают в спектрах злокачественных тканей. Относительная интенсивность ПП амид II 1643 см^{-1} снижается в спектрах злокаче-

ственных тканей толстой кишки. Интенсивность ПП 1460 см^{-1} меньше, чем ПП 1400 см^{-1} , в спектрах раковых образцов. Спектральный профиль раковых тканей указывает на меньшее количество липидов и большее белков по сравнению с тканями колита [174]. Раковая ткань содержит больше нуклеиновых кислот, коллагена и некоторых аминокислот по сравнению с колитами. В спектрах тканей колита интенсивность ПП при 1240 см^{-1} меньше, а ПП $\sim 1310 \text{ см}^{-1}$ становится слабой и иногда исчезает. Интенсивность ПП 1080 см^{-1} явно слабее в спектрах образцов колитов, чем в спектрах раковых тканей. Интенсивность ПП при 1160 см^{-1} , отнесенная к углеводам, заметно уменьшается для раковых образцов.

Гистология считается золотым стандартом для дифференциальной диагностики. Однако она зависит от опыта наблюдателя, что может привести к расхождениям и плохим результатам [175]. Авторами [18] на тканях толстой кишки реализован биофотонный подход, основанный на ИК спектральном микроизображении в сочетании с многомерным статистическим анализом. На основе спектральной информации эпителиальных компонентов построены спектральные штрих-коды, специфичные для каждого пациента, которые позволяют охарактеризовать некоторые связанные со злокачественными новообразованиями биохимические изменения в областях поглощения муцина, нуклеотидов, углеводов и белков. Этот подход дает возможность выявить не только общие биохимические изменения для всех пациентов с раком толстой кишки, но и разницу в степени злокачественности у отдельных пациентов. ИК микроспектроскопия с пространственным разрешением в сочетании с методами цифровой визуализации является новой мощной техникой, которая может быть использована для получения сложных цветных изображений гистологических образцов. В [176] три различных метода кластеризации применены для микроспектроскопических данных срезов колоректальной аденокарциномы: КМ, FCM и иерархическая кластеризация. Использование любого из алгоритмов кластеризации значительно увеличивает информативность ИК изображения по сравнению с техникой картирования функциональных групп.

Лимфомы. ИК-фурье-спектроскопия демонстрирует высокую чувствительность и специфичность при различении Т-клеточных лимфом, В-клеточных лимфоидных клеток и клеток миелоидного лейкоза на основе внутренних биомолекулярных сигнатур [177]. Авторы [114] работали над острой миелоидной лейкемией с помощью ИК спектроскопии для анализа белых кровяных телец и показали, что соотношение липидов и белков уменьшалось, а позже после лечения эти отношения нормализовались. С использованием ИК визуализации с кластерным анализом изучен ход химиотерапии у пациентов с лейкемией [178]. Потенциальная роль ИК изображений при многомерном анализе в постановке диагноза на основе измененной клеточной биохимии в случае хронического лимфоцитарного лейкоза описана в [179]. При исследовании лимфоидных опухолей (злокачественных неходжкинских лимфом) установлено, что соотношение интенсивностей ПП 1121/1020 см^{-1} возрастает с увеличением клинико-патологического уровня злокачественной лимфомы [180]. Позже автором [181] обнаружены структурные изменения липидов и белков в области частот 2800—3000 см^{-1} , наблюдаемые как увеличение отношения ПП CH_3/CH_2 и уменьшение отношения ПП симметричного CH_2 и асимметричного CH_2 с увеличением степени злокачественности лимфомы. Отмечено, что увеличение интенсивности ПП 1121 см^{-1} коррелирует с ростом отношения 996/966 см^{-1} (индекс РНК/ДНК) и степени злокачественности.

Саркома. В ИК спектрах в [182] наблюдался сдвиг ПП фосфат-ионов (от 3 до 26 см^{-1}), связанный с наличием опухолевой ткани. После химиотерапии изменение ИК спектра связывалось с гистопатологическим ответом. У пациентов с высоким соотношением некротических клеток в опухоли (>90 % клеток) после химиотерапии показан сдвиг пиковых ПП до более высоких волновых чисел. Напротив, у пациентов с плохой реакцией на химиотерапию (<30 % некротических клеток в опухоли) наблюдалось смещение максимумов ПП в низкочастотную сторону.

Рак полости рта — один из основных видов рака, который устойчиво развивается из-за широкого распространения табачных продуктов [183—185]. В работе [183] проведено сравнение ИК спектров плазмы крови пациентов с раком полости рта, здоровых людей и употребляющих табачные продукты. Показано, что отношение интенсивностей ПП I_{1646}/I_{1550} уменьшается, тогда как I_{1243}/I_{1080} и I_{1114}/I_{1028} статистически достоверно увеличиваются при раке полости рта по сравнению с контрольной группой. Авторы [186] использовали трехмерную тканевую культуру с различными линиями раковых клеток, ответственными за рак полости рта и кожи, и изучали с помощью ИК изображения возможность отслеживать прогрессирование раковых клеток. В [187] метод спектральной цитопато-

логии, основанный на ИК спектроскопии, использован для классификации здоровых клеток полости рта и плоскоклеточного рака.

Статистические методы обработки данных, получаемых с помощью ИК спектроскопии. Из огромных массивов данных, полученных с помощью ИК спектроскопии, в сочетании с многофакторным анализом можно извлекать информацию и коррелировать ее с биологическими данными (характеристиками, типами опухолей) [188—190]. Тем не менее перед проведением анализа необходимо учитывать стандартизацию сбора, хранения и подготовки образцов для получения надежных и воспроизводимых результатов [191, 192]. После сбора данные предварительно обрабатываются, при этом необходимо учитывать их качественную проверку (водопоглощение, отношение сигнал/шум, поглощение в диапазоне линейного отклика детектора и т. д.). Следующий этап включает в себя обработку данных до хемометрического анализа, а именно преобразование исходных спектров в их вторую производную, нормализацию и т. д.

Хемометрический анализ может опираться на неконтролируемые и контролируемые методы [193]. Многомерный статистический анализ синтезирует и анализирует многовариантные экспериментальные наборы данных для комплексной диагностики. Анализ основных компонентов (PCA) описывает данные, заданные новыми переменными [194—196]. PCA позволяет уменьшить количество переменных в многомерном наборе данных и сохраняет большую часть изменения в пределах первых генерируемых компонентов, которые могут быть показаны на графике рассеяния, чтобы лучше визуализировать групповое разделение [197]. В сочетании с PCA могут быть выполнены квадратичный дискриминантный анализ (QDA), который не предполагает идентичности ковариации каждого из классов выборки, и линейный дискриминантный анализ (LDA), где линейные комбинации переменных вычисляются для определения изменения спектрального пространства, в котором можно наблюдать максимизацию дисперсии между группами в соответствии с критерием Фишера. Контролируемая классификация имеет внутреннюю силу объединения информации, поступающей от всех типов молекул, присутствующих в клетках, для создания спектральной сигнатуры, уникальной для типа ячейки. Контролируемые методы требуют выполнения трех шагов: обучения и создания моделей, проверки и определения неизвестного. Неизвестный образец может быть идентифицирован, и классификация может быть достигнута для разных таксономических уровней с использованием кластерного анализа [198]. Окончательная классификация достигается с помощью многовариантных методов распознавания образов, таких как иерархическая кластеризация, LDA и анализ искусственных нейронных сетей [199]. Методы иерархической кластеризации сравнивают наборы данных (например, индивидуально полученные спектры или спектры, полученные путем картирования ткани) и группируют их в соответствии с некоторой степенью сходства. Для картографических данных применение методов кластерного анализа позволяет идентифицировать области ткани, которые приводят к сходным спектрам и по логике имеют сходную биохимию. Преимущество таких методов состоит в том, что они проводят прямое сравнение спектральных данных (т. е. не контролируются, не требуют ввода от исследователя) и не требуют выделения спектральных признаков. Иерархическая кластеризация спектров из ИК изображения позволяет, например, дифференцировать типы опухолей (доброкачественные и злокачественные). Эти анализы приписывают цвет каждому пикселю, поэтому его легко отличить [200]. Кластерный анализ использован в качестве неконтролируемого метода классификации для дифференциации ИК спектров нормальной и опухолевой кожи [201]. Хемометрические методы, такие как метод опорных векторов (SVM) [202] и метод k -ближайших соседей (KNN) [203], обеспечивают эффективную калибровку информации и классификацию модели [204]. Метод SVM основан на идее гиперплоскостных классификаторов и служит для поиска гиперплоскости, которая максимизирует границу между двумя классами [205, 206]. SVM использует нелинейное отображение для преобразования исходных данных обучения в данные более высокого размера и выбирает линейную оптимальную разделительную гиперплоскость в этом новом измерении.

В целом простые статистические методы, например двумерный анализ гистограммы, помогают различать нормальные и измененные клетки и ткани в применении к ИК спектрам и изображениям. Более сложные математические методы, такие как PCA или искусственные нейронные сети (ANN), обеспечивают дополнительные возможности оценки, которые могут связывать спектры неизвестного образца со справочной базой ИК данных известных состояний ячеек [179].

Метод ИК спектроскопии используется для диагностики и дифференциации молекулярных различий между нормальными и злокачественными тканями и обладает несколькими преимуществами по сравнению с гистопатологией: менее трудоемкой подготовкой проб, быстрым временем измере-

ния, простотой в эксплуатации и недорогой аппаратурой. Напротив, традиционный биомедицинский диагноз требует опытного патологоанатома для подготовки проб, анализа и интерпретации данных. Кроме того, ИК спектроскопия способна дать важные сведения о молекулярных изменениях в прогрессирующем заболевании. Существует значительная разница между ИК спектрами здоровых и злокачественных тканей и биологических жидкостей. Наблюдаются различия, соответствующие распределению и структуре липидов, белков и нуклеиновых кислот. Эти различия зависят от гистологического типа и степени злокачественности рака. Показана возможность проведения мониторинга процесса лечения, в частности химиотерапии, методом ИК спектроскопии [207].

Большое количество исследователей делают акцент на том, что ИК спектроскопию можно рассматривать как перспективный метод, который будет использоваться и принят медицинским сообществом для выявления рака на ранних стадиях. Однако существует ряд проблем в отношении метода отбора проб, анализа и интерпретации данных. Одна из слабых сторон ИК спектроскопии — низкое пространственное разрешение, а также определенные трудности при анализе водных образцов. Кроме того, необходимо учитывать загрязнение образцов, поскольку оно влияет на спектральные данные и приводит к неправильной интерпретации спектров, т. е. необходима дополнительная работа по стандартизации проводимых процедур [8]. Для предотвращения неправильной интерпретации результатов требуется обширное понимание состава и свойств ткани. Так, при обсуждении влияния состава тканей и загрязнения на ИК спектры при диагностике рака из-за наличия коллагена в соединительных тканях продемонстрировано [199, 208], что коллагеновые ПП, связанные с соединительной тканью, могут быть неправильно отнесены к поглощению фосфата ДНК. Однако эти ПП могут быть критерием для диагностики инвазивной карциномы шейки матки [208]. В целом необходимо понимать морфологию и биологию образца, а также соблюдать осторожность в интерпретации спектров.

Несмотря на многочисленные исследования в данной области, практически отсутствуют работы по сравнению изменений в биологических жидкостях и тканях при разных видах онкологических заболеваний. Авторы [15, 115] исследовали ткани меланомы и рака шейки матки для обнаружения общих биомаркеров, которые встречаются при обоих типах рака и отличают их от соответствующих незлокачественных тканей. Установлено, что уровни углеводов имеют хороший диагностический потенциал для выявления рака шейки матки, но не для меланомы. Однако изменение отношения РНК/ДНК, измеренное при $1121/1020 \text{ см}^{-1}$, показывает сходные тенденции и выше для злокачественных тканей при раке обоих типов. В работе [209] проведено сравнение ИК спектров злокачественных новообразований в груди, щитовидной железе и легких в интервалах $3400\text{—}3200$ и $1700\text{—}1600 \text{ см}^{-1}$. Колебательные частоты групп N-H и C=O белка молекулы отличаются от частот колебаний тех же функциональных групп в спектрах доброкачественной опухоли молочной железы и тканей органов вне опухолей. В спектрах злокачественных новообразований щитовидной железы и легких сдвиг полос поглощения амидов I, II и III сопровождается уменьшением их интенсивности и появлением дополнительных полос поглощения в интервале $1460\text{—}1300 \text{ см}^{-1}$ [210]. Различия в ИК спектрах в области O-H и N-H-колебаний липидов, выделенных из злокачественных опухолей, по сравнению с выделенными из нормальных тканей обусловлены появлением липидов со структурой, измененной в результате активации в опухолях перекисного окисления и образования в них повышенного количества свободных радикалов. В работе [211] изучались две линии раковых клеток: карциномы шейки матки (HeLa) и карциномы мочевого пузыря (5637A, 5637B и 5637C), с целью исследования биохимических изменений в этих линиях раковых клеток и выяснения возможности различения линий раковых клеток с использованием только ИК спектров. Диаграмма рассеяния показывает разделение между различными линиями клеток, а именно: группы 5637 (A, B и C) сгруппированы, тогда как группа клеточных линий HeLa четко выделяется.

Заключение. Метод ИК спектроскопии чувствителен к структуре и концентрации макромолекул (нуклеиновых кислот, белков, липидов), присутствующих в клетках и тканях, и относительно не чувствителен к низкомолекулярным метаболитам (например, глюкозе, лактату или отдельным аминокислотам). Поскольку нуклеиновые кислоты обеспечивают наиболее характерные полосы поглощения в ИК спектрах биологических материалов, изменения в ДНК, связанные с раком, приводят к изменениям спектральной сигнатуры злокачественных клеток, которые могут быть диагностическими. Изменения абсорбции других макромолекул (белков, липидов) являются диагностическими для широкого набора нарушений, затрагивающих различные биологические жидкости и ткани. В связи с этим сложно ожидать, что данные ИК спектроскопии будут носить специфический характер и позволят связать изменения в ИК спектрах с конкретными видами онкологических или неонкологических за-

болеваний. Происходящие на фоне онкологических заболеваний изменения отражаются не только на тканях пораженного органа, исследование которых требует проведения биопсии, но и на составе биологических жидкостей (плазмы крови, слюны и т. д.), что может быть использовано для неинвазивной диагностики. Тем не менее для постановки окончательного диагноза потребуется ряд инструментальных исследований, в том числе компьютерная томография, а также последующая верификация диагноза с помощью гистологического исследования биопсийного материала.

Таким образом, в случае простых клинических вопросов (например, различения здоровой и опухолевой тканей при гистологических исследованиях) результаты ИК спектроскопических исследований являются многообещающими. Однако в качестве клинически полезного инструмента данный метод должен позволить отличать различные типы рака от здоровых клеток. Опубликованные в настоящее время результаты применения ИК спектроскопии для диагностики онкологических заболеваний получены на небольших выборках пациентов или на модельных лабораторных системах [212]. Для того чтобы по-настоящему заинтересовать практикующих врачей, необходимы клинически значимые результаты на более представительных выборках пациентов.

- [1] **J. Ferlay, M. Colombet, I. Soerjomataram, T. Dyba, G. Randi, M. Bettio, A. Gavin, O. Visser, F. Bray.** *Europ. J. Cancer*, **103** (2018) 356—387
- [2] **P. Vineis, D. Fecht.** *Europ. J. Cancer*, **103** (2018) 317—326
- [3] **P. Muller, S. Walters, M. P. Coleman, L. Woods.** *Cancer Epidemiol.*, **56** (2018) 161—170
- [4] **F. Santos, S. Magalhaes, M. C. Henriques, M. Fardilha, A. Nunes.** *Current Metabolom.*, **6**, N 2 (2018) 103—111
- [5] **S. Bhattacharyya.** *J. Phys. Chem. Biophys.*, **5**, N 4 (2015); doi: 10.4172/2161-0398.1000e128
- [6] **Z. Movasaghi, S. Rehman, I. Rehman.** *Appl. Spectrosc. Rev.*, **43** (2008) 134—179
- [7] **Л. В. Бельская, Е. А. Саф, И. А. Гундырев.** *Журн. прикл. спектр.*, **85**, № 6 (2018) 952—961
- [8] **M. J. Baker, J. Trevisan, P. Bassan, R. Bhargava, H. J. Butler, K. M. Dorling, P. R. Fielden, S. W. Fogarty, N. J. Fullwood, K. A. Heys, C. Hughes, P. Lasch, P. L. Martin-Hirsch, B. Obinaju, G. D. Sockalingum, J. Sulé-Suso, R. J. Strong, M. J. Walsh, B. R. Wood, P. Gardner, F. L. Martin.** *Nature Protoc.*, **9**, N 8 (2014) 1771—1791
- [9] **G. Bellisola, C. Sorio.** *Am. J. Cancer Res.*, **2** (2012) 1—21
- [10] **A. Derenne, O. Vandersleyen, E. Goormaghtigh.** *Biochim. Biophys. Acta*, **1841**, N 8 (2014) 1200—1209
- [11] **C. Petibois, B. Desbat.** *Trends Biotechnol.*, **28** (2010) 495—500
- [12] **D. Simonova, I. Karamancheva.** *Biotechnol. Biotechnol. Equip.*, **27**, N 6 (2013) 4200—4207
- [13] **Y. Yang, J. Sule-Suso, G. D. Sockalingum, G. Kegelaer, M. Manfait, A. J. El Haj.** *Biopolymers*, **78** (2005) 311—317
- [14] **A. Tfayli, O. Piot, A. Durlach, P. Bernard, M. Manfait.** *Biochim. Biophys. Acta*, **1724** (2005) 262—269
- [15] **S. Mordechai, R. K. Sahu, Z. Hammody, S. Mark, K. Kantarovich, H. Guterman, A. Podshyvolav, J. Goldstein, S. Argov.** *J. Microsc.*, **215**, N 1 (2004) 86—91
- [16] **P. G. Andrus.** *Technol. Cancer. Res. Treat.*, **5**, N 2 (2006) 157—167
- [17] **B. Brozek-Pluska, M. Коpec, J. Surmacki, H. Abramczyk.** *Infrared Phys. Technol.*, **93** (2018) 247—254
- [18] **J. Nallala, O. Piot, M. D. Diebold, C. Gobinet, O. Bouché, M. Manfait, G. D. Sockalingum.** *Cytometry, A*, **83** (2013) 294—300
- [19] **J. Yao, Q. Li, B. Zhou, D. Wang, R. Wu.** *Spectrochim. Acta, A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, **195** (2018) 25—30
- [20] **D. C. Fernandez, R. Bhargava, S. M. Hewitt, I. W. Levin.** *Nat. Biotechnol.*, **23** (2005) 469—474
- [21] **И. В. Скорняков, Г. Б. Толсторожев, В. А. Бутра.** *Журн. прикл. спектр.*, **76**, № 2 (2009) 261—266 [I. V. Skorniyakov, G. B. Tolstorozhev, V. A. Butra. *J. Appl. Spectr.*, **76** (2009) 245—249]
- [22] **R. Mehrotra, A. Gupta, A. Kaushik, N. Prakash, H. Kandpal.** *Indian J. Exper. Biol.*, **45** (2007) 71—76
- [23] **S. Kar, D. R. Katti, K. S. Katti.** *Spectrochim. Acta, A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, **208** (2019) 85—96
- [24] **J.-S. Wang, J.-S. Shi, Y.-Z. Xu, X.-Y. Duan, L. Zhang, J. Wang, L.-M. Yang, S.-F. Weng, J.-G. Wu.** *World J. Gastroenterol.*, **9** (2003) 1897—1899

- [25] P. Venkatachalam, L. L. Rao, N. K. Kumar, A. Jose, S. S. Nazeer. *AIP Conf. Proc.*, **1075** (2008) 144—148
- [26] N. A. Al-Muslet, E. E. Ali. *J. Appl. Spectrosc.*, **79** (2012) 139—142
- [27] A. Salman, V. Erukhimovitch, M. Talyshinsky, M. Huleihil, M. Huleihel. *Biopolymers*, **67** (2002) 406—412
- [28] G. Yu, J. Xu, Y. Niu, C. Zhang, Ch. Zhang. *Proc. SPIE*, **5630** (2005) 796—801
- [29] J. Backhaus, R. Mueller, N. Formanski, N. Szlama, H.-G. Meerpohl, M. Eidt, P. Bugert. *Vibr. Spectrosc.*, **52** (2010) 173—177
- [30] J. Depciuch, E. Kaznowska, S. Golowski, A. Kozirowska, I. Zawlik, M. Cholewa, K. Szmuc, J. Cebulski. *J. Pharmac. Biomed. Anal.*, **143** (2017) 261—268
- [31] A. Barth. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, **74**, N 3-5 (2000) 141—173
- [32] Y. X. Ci, T. Y. Gao, J. Feng; Z. Q. Guo. *Appl. Spectrosc.*, **53**, N 3 (1999) 312—315
- [33] R. Eckel, H. Huo, H.-W. Guan, X. Hu, X. Che, W.-D. Huang. *Vibr. Spectrosc.*, **27** (2001) 165—173
- [34] A. Benard, C. Desmedt, V. Durbecq, G. Rouas, D. Larsimont, C. Sotiriou. *Spectroscopy*, **24**, N 1-2 (2010) 67—72
- [35] S. Kumar, C. Desmedt, D. Larsimont, C. Sotiriou, E. Goormaghtigh. *Analyst*, **138**, N 14 (2013) 4058—4065
- [36] M. Verdonck, S. Garaud, H. Duvillier, K. Willard-Gallo, E. Goormaghtigh. *Analyst*, **140**, N 7 (2015) 2247—2256
- [37] L. S. Leslie, T. P. Wrobel, D. Mayerich, S. Bindra, R. Emmadi, R. Bhargava. *PLoS One*, **10**, N 6 (2015) e0127238
- [38] S. E. Holton, A. Bergamaschi, B. S. Katzenellenbogen, R. Bhargava. *PLoS One*, **9**, N 5 (2014) e96878
- [39] R. Kalluri, M. Zeisberg. *Nat. Rev. Cancer*, **6**, N 5 (2006) 392—401
- [40] F. Elmi, A. F. Movaghar, M. M. Elmi, H. Alinezhad, N. Nikbakhsh. *Spectrochim. Acta, A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, **187** (2017) 87—91
- [41] R. Davis, L. Mauer. *Technol. Educat. Topic. Appl. Microbiol. Microbiol. Biotechnol.*, **2** (2010) 1582—1594
- [42] C. Koch, M. Brandstetter, P. Wechselberger, B. Lorantfy, M.R. Plata, S. Radel, C. Herwig, B. Lend. *Anal. Chem.*, **87** (2015) 2314—2320
- [43] U. Zelig, E. Barlev, O. Bar, I. Gross, F. Flomen, S. Mordechai, J. Kapelushnik, I. Nathan, H. Kashtan, N. Wasserberg, O. Madhala-Givon. *BMC Cancer*, **15** (2015) 408
- [44] K. Chrabaszcz, A. Jaształ, M. Smęda, B. Zieliński, A. Błat, M. Diem, S. Chlopicki, K. Malek, K. M. Marzec. *Badis*, **1864**, N 11 (2018) 3574—3584
- [45] K. Yano, S. Ohoshima, Y. Shimizu, T. Moriguchi, H. Katayama. *Cancer Lett.*, **110** (1996) 29—34
- [46] C. E. Zois, A. L. Harris. *J. Mol. Med.*, **94** (2016) 137—154
- [47] E. Favaro, K. Bensaad, M. G. Chong, D. A. Tennant, D. J. P. Ferguson, C. Snell, G. Steers, H. Turley, J.-L. Li, U. L. Gü, F. M. Buffa, A. Mcintyre, A. L. Harris. *Cell Metab.*, **16** (2012) 751—764
- [48] G. J. Ooi, J. Fox, K. Siu, R. Lewis, K. R. Bambery, D. McNaughton, B. R. Wood. *Med. Phys.*, **35** (2008) 2151—2161
- [49] N. Zimmermann, H. Saiga, E. Houthuys, P. Moura-Alves, A. Koehler, S. Bandermann, A. Dorhoi, S. H. E. Kaufmann. *Cell. Microbiol.*, **18** (2016) 1846—1856
- [50] B. Bird, M. Romeo, N. Laver, M. Diem. *J. Biophotonic.*, **2** (2009) 37—46
- [51] K. Belbachir, R. Noreen, G. Gouspillou, C. Petibois. *Anal. Bioanal. Chem.*, **395** (2009) 829—837
- [52] G. Devi, T. S. R. Devi, S. Gunasekaran. *Int. J. Chem. Tech. Res.*, **2**, N 3 (2010) 1426—1433
- [53] Г. Б. Толсторожев, М. В. Бельков, И. В. Скорняков, В. И. Пехньо, А. Н. Козачкова, Н. И. Царик, И. П. Куценко, Н. И. Шарыкина, В. А. Бутра. *Журн. прикл. спектр.*, **81**, № 6 (2014) 921—928 [G. B. Tolstorozhev, M. V. Belkov, I. V. Skornyaakov, V. I. Pekhnyo, A. N. Kozachkova, N. I. Tsarik, I. P. Kutsenko, N. I. Sharykina, V. A. Butra. *J. Appl. Spectr.*, **81**, N 6 (2014) 1012—1018]
- [54] Г. Б. Толсторожев, М. В. Бельков, И. В. Скорняков, В. А. Бутра, В. И. Пехньо, А. Н. Козачкова, Н. И. Царик, И. П. Куценко, Н. И. Шарыкина. *Журн. прикл. спектр.*, **81**, № 3 (2014) 444—450 [G. B. Tolstorozhev, M. V. Belkov, I. V. Skornyaakov, V. A. Butra, V. I. Pekhnyo, A. N. Kozachkova, N. I. Tsarik, I. P. Kutsenko, N. I. Sharykina. *J. Appl. Spectr.*, **81**, N 3 (2014) 463—469]
- [55] I. Zawlik, E. Kaznowska, J. Cebulski, M. Kolodziej, J. Depciuch, J. Vongsvivut, M. Cholewa. *Sci. Rep.*, **6** (2016) 37333

- [56] S. Rehman, Z. Movasaghi, J. A. Darr, I. U. Rehman. *Appl. Spectrosc. Rev.*, **45** (2010) 355—368
- [57] M. J. Walsh, S. E. Holton, A. Kajdacsy-Balla, R. Bhargava. *Vibr. Spectrosc.*, **60** (2012) 23—28
- [58] K. Wehbe, R. Pineau, S. Eimer, A. Vital, H. Loiseau, G. Deleris. *Analyst*, **135**, N 12 (2010) 3052—3059
- [59] N. Bergner, B. F. Romeike, R. Reichart, R. Kalff, C. Krafft. *J. Popp. Analyst*, **138**, N 14 (2013) 3983—3990
- [60] K. Wehbe, I. Forfar, S. Eimer, G. Cinque. *Anal. Bioanal. Chem.*, **407**, N 24 (2015) 7295—7305
- [61] O. Uckermann, R. Galli, M. Anger, C. Herold-Mende, E. Koch, G. Schackert, G. Steiner, M. Kirsch. *Int. J. Radiat. Biol.*, **90**, N 8 (2014) 710—717
- [62] A. Beljebbar, S. Dukic, N. Amharref, M. Manfait. *Analyst*, **135**, N 5 (2010) 1090—1097
- [63] K. Gajjar, L. D. Heppenstall, W. Pang, K. M. Ashton, J. Trevisan, I. I. Patel, V. Llabjani, H. F. Stringfellow, P. L. Martin-Hirsch, T. Dawson, F. L. Martin. *Anal. Methods*, **5** (2012) 89—102
- [64] C. Krafft, K. Thummler, S.B. Sobottka, G. Schackert, R. Salzer. *Biopolymers*, **82**, N 4 (2006) 301—305
- [65] D. Bury, C. L. M. Morais, M. Paraskevaidi, K. M. Ashton, T. P. Dawson, F. L. Martin. *Spectrochim. Acta, A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, **206** (2019) 89—96
- [66] J. R. Hands, G. Clemens, R. Stables, K. Ashton, A. Brodbelt, C. Davis, T. P. Dawson, M. D. Jenkinson, R. W. Lea, C. Walker, M. J. Baker. *J. Neurooncol.*, **127** (2016) 463—472
- [67] G. I. Dovbeshko, N. Y. Gridina, E. B. Kruglova, O. P. Pashchuk. *Talanta*, **53** (1997) 233—246
- [68] G. I. Dovbeshko, V. I. Chegel, N. Y. Gridina, O. P. Repnytska, Y. M. Shirshov, V. P. Tryndiak, I. M. Todor, G. I. Solyanik. *Biopolymer (Biospectroscopy)*, **67** (2002) 470—486
- [69] R. Noreen, M. Moenner, Y. Hwu, C. Petibois. *Biotechnol. Adv.*, **30** (2012) 1432—1446
- [70] M. A. Mackanos, C. H. Contag. *Trends Biotechnol.*, **27**, N 12 (2009) 661—663
- [71] E. Lipiec, K. R. Bambery, P. Heraud, C. Hirschmugl, J. Lekki, W. M. Kwiatek. *J. Mol. Struct.*, **1073** (2014) 134—141
- [72] A. Derenne, R. Gasper, E. Goormaghtigh. *Analyst*, **136**, N 6 (2011) 1134—1141
- [73] E. Gazi, M. Baker, J. Dwyer, N. P. Lockyer, P. Gardner, J. H. Shanks, R. S. Reeve, C. A. Hart, N. W. Clarke, M. D. Brown. *Eur. Urol.*, **50**, N 4 (2006) 750—760
- [74] M. J. Baker, E. Gazi, M. D. Brown, J. H. Shanks, N. W. Clarke, P. Gardner. *J. Biophotonics*, **2**, N 1-2 (2009) 104—113
- [75] J. T. Kwak, A. Kajdacsy-Balla, V. Macias, M. L. Walsh, S. Sinha, R. Bhargava. *Sci. Rep.*, **5** (2015) 8758
- [76] J. T. Kwak, S. M. Hewitt, A. A. Kajdacsy-Balla, S. Sinha, R. Bhargava. *BMC Bioinformat.*, **17**, N 1 (2016) 227
- [77] P. Bassan, A. Sachdeva, J. H. Shanks, M. D. Brown, N. W. Clarke, P. Gardner. *Proc. SPIE*, **9041** (2014) 10.1117/12.2043290
- [78] C. Pezzei, J. D. Pallua, G. Schaefer, C. Seifarh, V. Huck-Pezzei, L. K. Bittner, H. Klocker, G. Bartsch, G. K. Bonn, C. W. Huck. *Mol. Biosyst.*, **6**, N 11 (2010) 2287—2295
- [79] M. J. Baker, E. Gazi, M. D. Brown, J. H. Shanks, P. Gardner, N. W. Clarke. *British J. Cancer*, **99** (2008) 1859—1866
- [80] N. A. Al-Muslet, E. E. Ali. *Austral. J. Basic Appl. Sci.*, **5**, N 9 (2011) 1734—1739
- [81] S. Gok, O. Z. Aydin, Y. S. Sural, F. Zorlu, U. Bayol, F. Severcan. *J. Biophoton.*, **9**, N 9 (2016) 967—975
- [82] Q.-B. Li, Z. Xu, N.-W. Zhang, L. Zhang, F. Wang, L.-M. Yang, J.-S. Wang, S. Zhou, Y.-F. Zhang, X.-S. Zhou, J.-S. Shi, J.-G. Wu. *World J. Gastroenterol.*, **11**, N 3 (2005) 327—330
- [83] J.-K. Du, J.-S. Shi, X.-J. Sun, J.-S. Wang, Y.-Z. Xu, J.-G. Wu, Y.-F. Zhang, S.-F. Weng. *Hepatobiliary & Pancreatic Diseases. Int.*, **8**, N 1 (2009) 75—78
- [84] Г. Б. Толсторожев, И. В. Скорняков, В. А. Бутра. *Журн. прикл. спектр.*, **77** (2010) 460—464
- [G. B. Tolstorozhev, I. V. Skorniyakov, V. A. Butra. *J. Appl. Spectr.*, **77**, N 3 (2010) 427—431]
- [85] Y. Liu, Y. Xu, Y. Liu, Y. Zhang, D. Wang, D. Xiu, Z. Xu, X. Zhou, J. Wu, X. Ling. *British J. Surgery*, **98** (2011) 380—384
- [86] P. T. T. Wong, S. M. Goldstein, R. C. Grekin, T. A. Godwin, C. Pivik, B. Rigas. *Cancer Res.*, **53**, N 4 (1993) 762—765
- [87] L. M. McIntosh, M. Jackson, H. H. Mantsch, M. F. Stranc, D. Pilavdzic, A. N. Crowson. *J. Investigat. Dermatol.*, **112** (1999) 951—956

- [88] F. Peñaranda, V. Naranjo, G. R. Lloyd, L. Kastl, B. Kemper, J. Schnekenburger, J. Nallala, N. Stone. *Comput. Biol. Med.*, **100** (2018) 50—61
- [89] S. Olsztyńska-Janus, A. Pietruszka, Z. Kielbowicz, M. A. Czarnecki. *Spectrochim. Acta, A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, **188** (2017) 37—49
- [90] C. A. Lima, V. P. Goulart, L. Côrrea, T. M. Pereira, D. M. Zezell. *Int. J. Mol. Sci.*, **16** (2015) 6621—6630; doi:10.3390/ijms16046621
- [91] A. Barth. *Biochim. Biophys. Acta*, **1767** (2007) 1073—1101
- [92] R. Khurana, A. Fink. *Biophys. J.*, **78** (2000) 994—1000
- [93] G. Zhang, D. J. Moore, C. R. Flash, R. Mendelsohn. *Anal. Bioanal. Chem.*, **387** (2007) 1591—1599
- [94] N. Wald, E. Goormaghtigh. *Analyst*, **140**, N 7 (2015) 2144—2155
- [95] N. Wald, Y. Le Corre, L. Martin, V. Mathieu, E. Goormaghtigh. *Biochim. Biophys. Acta*, **1862**, N 2 (2016) 174—181
- [96] R. Mehrotra, G. Tyagi, D. K. Jangir, R. Dawar, N. Gupta. *J. Ovarian Res.*, **3** (2010) 27; doi: 10.1186/1757-2215-3-27
- [97] J. Anastassopoulou, P. Arapantoni, E. Boukaki, S. Konstadoudakis, S. Theophanides, C. Valavanis, C. Conti, P. Ferraris, G. Giorgini, S. Sabbatini, G. Tosi. *Brilliant Light in Life and Mater. Sci.*, **13** (2007) 273—278
- [98] C. Krafft, S. B. Sobottka, G. Schackert, R. Salzera. *Analyst*, **129** (2004) 921—925
- [99] T. Yamada, N. Miyoshi, T. Ogawa, K. Akao, M. Fukuda, T. Ogasawara, Y. Kitagawa, K. Sano. *Clin. Cancer Res.*, **8** (2002) 2010—2014
- [100] K. Gajjar, J. Trevisan, G. Owens, P. J. Keating, N. J. Wood, H. F. Stringfellow, P. L. Martin-Hirsch, F. L. Martin. *Analyst*, **138**, N 14 (2013) 3917—3926
- [101] M. M. Grzelak, P. M. Wróbel, M. Lankosz, Z. Stęgowski, Ł. Chmura, D. Adamek, B. Hesse, M. H. Castillo-Michel. *Spectrochim. Acta, A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, **203** (2018) 48—55
- [102] D. K. Nomura, J. Z. Long, S. Nissen, H. S. Hoover, N. Shu-Wing, B. F. Cravatt. *Cell*, **140** (2010) 49—61
- [103] J. Dudala, M. Bialas, A. Surowka, M. Bereza-Buziak, A. Hubalewska-Dydejczyk, A. Budzynski, M. Pedziwiatr, M. Kolodziej, K. Wehbe, M. Lankosz. *Analyst*, **140** (2015) 2101—2106
- [104] C. Petibois, G. Déléris. *Cell Biol. Int.*, **29** (2005) 709—716
- [105] G. Theophilou, K. M. G. Lima, P. L. Martin-Hirsch, H. F. Stringfellow, F. L. Martin. *Analyst*, **141** (2016) 585—594
- [106] V. Untereiner, O. Piot, M. D. Diebold, O. Bouche, E. Scaglia, M. Manfait. *Anal. Bioanal. Chem.*, **393**, N 6-7 (2009) 1619—1627
- [107] C. M. Krishna, G. D. Sockalingum, R. A. Bhat, L. Venteo, P. Kushtagi, M. Pluot, M. Manfait. *Anal. Bioanal. Chem.*, **387**, N 5 (2007) 1649—1656
- [108] K. M. Lima, K. B. Gajjar, P. L. Martin-Hirsch, F. L. Martin. *Biotechnol. Prog.*, **31**, N 3 (2015) 832—839
- [109] D. E. Halliwell, C. L. M. Morais, K. M. G. Lima, J. Trevisan, M. R. F. Siggel-King, T. Craig, J. Ingham, D. S. Martin, K. A. Heys, M. Kyrgiou, A. Mitra, E. Paraskevaidis, G. Theophilou, P. L. Martin-Hirsch, A. Cricenti, M. Luce, P. Weightman, F. L. Martin. *Sci. Rep.*, **6** (2016) 29494; doi: 10.1038/srep29494
- [110] C. M. Krishna, G. D. Sockalingum, M. S. Vidyasagar, M. Manfait, D. J. Fernanades, B. M. Vadhiraaja, K. Maheedhar. *J. Cancer Res. Ther.*, **4**, N 1 (2008) 26—36
- [111] P. T. T. Wong, R. K. Wong, M. F. K. Fung. *Appl. Spectrosc.*, **47** (1993) 1058—1063
- [112] B. R. Wood, M. A. Quinn, F. R. Burden, D. McNaughton. *Biospectroscopy*, **2** (1996) 143—153
- [113] M. J. Walsh, M. J. German, M. Singh, H. M. Pollock, A. Hammiche, M. Kyrgiou, H. F. Stringfellow, E. Paraskevaidis, P. L. Martin-Hirsch, F. L. Martin. *Cancer Lett.*, **246** (2007) 1—11
- [114] R. Sahu, S. Mordechai. *Future Oncol.*, **1** (2005) 635—647
- [115] B. R. Wood, M. A. Quinn, B. Tait, M. Ashdown, T. Hislop, M. Romeo, D. McNaughton. *Biospectroscopy*, **4** (1998) 75—91
- [116] A. Podshyvalov, R. K. Sahu, S. Mark, K. Kantarovich, H. Guterman, J. Goldstein, R. Jagannathan, S. Argov, S. Mordechai. *Appl Opt.*, **44** (2005) 3725—3734
- [117] M. J. Walsh, M. N. Singh, H. M. Pollock, L. J. Cooper, M. J. German, H. F. Stringfellow, N. J. Fullwood, E. Paraskevaidis, P. L. Martin-Hirsch, F. L. Martin. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **352** (2007) 213—219

- [118] **M. Romeo, C. Matthaus, M. Miljkovic, M. Diem.** *Biopolymers*, **74** (2004) 168—171
- [119] **M. Diem, M. Romeo, S. Boydston-White, M. Miljkovic, C. Matthaus.** *Analyst*, **129** (2004) 880—885
- [120] **M. J. Romeo, B. R. Wood, M. A. Quinn, D. McNaughton.** *Biopolymers*, **72** (2003) 69—76
- [121] **J. I. Chang, Y. B. Huang, P. C. Wu, C. C. Chen, S.C. Huang, Y. H. Tsai.** *Gynecol. Oncol.*, **91** (2003) 577—583
- [122] **S. Mark, R. K. Sahu, K. Kantarovich, A. Podshyvalov, H. Guterman, J. Goldstein, R. Jagannathan, S. Argov, S. Mordechai.** *J. Biomed. Opt.*, **9** (2004) 558—567
- [123] **T. Rymysza, E. A. Ribeiro, L. F. de Carvalho, T. Bhattacharjee, R. de Azevedo Canevari.** *Spectrochim. Acta, A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, **196** (2018) 238—246
- [124] **R. Wood, L. Chiriboga, H. Yee, M. A. Quinn, D. McNaughton, M. Diem.** *Gynecol. Oncol.*, **93**, N 1 (2004) 59—68
- [125] **S. G. El-Tawil, R. Adnan, Z. N. Muhamed, N. H. Othman.** *Pathology*, **40**, N 6 (2008) 600—603
- [126] **Y. Jusman, N. A. M. Isa, R. Adnan, N. H. Othman.** *Ain Shams Engin. J.*, **3** (2012) 61—70
- [127] **H. P. Wang, H.-C. Wang, Y.-J. Huang.** *Sci. Total Environ.*, **204** (1997) 283—287
- [128] **K. Yano, S. Ohoshima, Y. Gotou, K. Kumaido, T. Moriguchi, H. Katayama.** *Anal. Biochem.*, **287** (2000) 218—225
- [129] **L. Quaroni, T. Zlateva, K. Wehbe, G. Cinque.** *Faraday Discuss.*, **187** (2016) 259—271
- [130] **X. Sun, Y. Xu, J. Wu, Y. Zhang, K. Sun.** *J. Surgic. Res.*, **179** (2013) 33—38
- [131] **R. Mehrotra, B. Ray, H. Chaturvedi.** *J. Cancer Clin. Oncol.*, **2**, N 1 (2016) 1—8
- [132] **Q. B. Li, X. J. Sun, Y. Z. Xu, L. M. Yang, Y. F. Zhang, S.-F. Weng, J.-S. Shi, J.-G. Wu.** *World J. Gastroenterol.*, **11** (2005) 3842—3845
- [133] **S. Y. Lee, K. A. Yoon, S. H. Jang, E. O. Ganbold, D. Uuriintuya, S.-M. Shin, P. D. Ryu, S.-W. Joo.** *J. Vet. Sci.*, **10** (2009) 299—304
- [134] **P. P. Provenzano, D. R. Inman, K. W. Eliceiri, J. G. Knittel, L. Yan, C. T. Rueden, J. G. White, P. J. Keely.** *BMC Med.*, **6** (2008) 1—15
- [135] **A. H. Colagar, M. J. Chaichi, T. Khadjvand.** *J. Biosci.*, **36** (2011) 669—677
- [136] **E. Kaznowska, K. Łach, J. Depciuch, R. Chaber, A. Kozirowska, S. Slobodian, K. Kiper, A. Chlebus, J. Cebulski.** *Infrared Phys. Technol.*, **89** (2018) 282—290
- [137] **E. Kaznowska, J. Depciuch, K. Łach, M. Kołodziej, A. Kozirowska, J. Vongsvivut, I. Zawlik, M. Cholewa, J. Cebulski.** *Talanta*, **186** (2018) 337—345
- [138] **J. Ollesch, D. Theegarten, M. Altmayer, K. Darwiche, T. Hager, G. Stamatis, K. Gerwert.** *Biomed. Spectrosc. Imag.*, **5** (2016) 129—144
- [139] **M. Diem, M. Miljković, B. Bird, A. I. Mazur, J. M. Schubert, D. Townsend, N. Laver, M. Almond, O. Old.** *Analyst*, **141**, N 2 (2016) 416—428
- [140] **A. Akalin, X. Mu, M. A. Kon, A. Ergin, S. H. Remiszewski, C. M. Thompson, D. J. Raz, M. Diem, B. Bird, M. S. Miljković.** *Lab. Invest.*, **95**, N 4 (2015) 406—421
- [141] **B. Bird, M. S. Miljković, S. Remiszewski, A. Akalin, M. Kon, M. Diem.** *Lab. Invest.*, **92**, N 9 (2012) 1358—1373
- [142] **X. Wang, X. Shen, D. Sheng, X. Chen, X. Liu.** *Spectrochim. Acta, A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, **122** (2014) 193—197
- [143] **P. D. Lewis, K. E. Lewis, R. Ghosal, S. Bayliss, A. J. Lloyd, J. Wills, R. Godfrey, P. Kloer, L. A. J. Mur.** *BMC Cancer*, **10** (2010) 640; <http://www.biomedcentral.com/1471-2407/10/640>
- [144] **J. Sule'-Suso, D. Skingsley, G. D. Sockalingum, A. Kohler, G. Kegelaer, M. Manfait, A. J. El Haj.** *Vibr. Spectrosc.*, **38** (2005) 179—184
- [145] **S. F. Weng, X. F. Ling, Y. Y. Song, Y. Z. Xu, W. H. Li, X. Zhang, L. Yang, W. Sun, X. Zhou, J. Wu.** *Am. Clin. Lab.*, **19**, N 7 (2000) 20
- [146] **S. C. Park, S. J. Lee, H. Namkung, H. Chung, S.-H. Han, M.-Y. Yoon, J.-J. Park, J.-H. Lee, C.-H. Oh, Y.-A. Woo.** *Vibr. Spectrosc.*, **44** (2007) 279—285
- [147] **Y. P. Tong, Y. W. Lin.** *Spectrosc. Spectr. Anal.*, **21** (2001) 324—327
- [148] **Q. B. Li, X. J. Sun, Y. F. Zhang, Y. Z. Xu, L. M. Yang, J. S. Shi, J. G. Wu.** *Chem. J. Chin. Univ.*, **25** (2004) 1624—1627
- [149] **J. S. Wang, W. A. Wu, J. Zhang, S. C. Wang, M. X. Zhang, Y. Z. Xu, J. S. Shi, J. G. Wu, J. Xi'an.** *Jiaotong Univ. (Med. Sci.)*, **30** (2009) 463—465
- [150] **H. Liu, Q. Su, D. Sheng, W. Zheng, X. Wang.** *J. Mol. Struct.*, **1130** (2017) 33—37

- [151] **D. Sheng, Y. Wu, X. Wang, D. Huang, X. Chen, X. Liu.** *Spectrochim. Acta, A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, **116** (2013) 365—369
- [152] **D. E. Maziak, M. T. Do, F. M. Shamji, S. R. Sundaresan, D. G. Perkins, P. T. T. Wong.** *Cancer Detect. Prevent.*, **31** (2007) 244—253
- [153] **J. Wang, J. Shi.** *World J. Gastroenterol.*, **9**, N 9 (2003) 1897—1899
- [154] **T. D. Wang, G. Triadafilopoulos, J. M. Crawford, L. R. Dixon, T. Bhandari, P. Sahbaie, S. Friedland, R. Soetikno, C. H. Contag.** *Proc. Nat. Acad. Sci. Am.*, **104** (2007) 15864—15869
- [155] **L. Quaroni, A. G. Casson.** *Analyst*, **134** (2009) 1240—1246
- [156] **V. R. Kondepati, M. Keese, H. M. Heise, J. Backhaus.** *Vibr. Spectrosc.*, **40** (2006) 33—39
- [157] **Y. J. Chen, Y. D. Cheng, H. Y. Liu, P. Y. Lin, C. S. Wang.** *Chang Gun Med. J.*, **29** (2006) 518—527
- [158] **S. D. Szajda, N. Waszkiewicz, S. Chojnowska, K. Zwierz.** *Biochem. Soc. Transact.*, **39** (2011) 340—343
- [159] **X. Q. Zhang, G. Thiéfin, C. Gobinet, V. Untereiner, I. Taleb, B. Bernard-Chabert, A. Heurgué, C. Truntzer.** *Transl. Res.*, **162** (2013) 279—286
- [160] **F. Lu, G. H. Lu, Y. B. Cao, Z. Y. Xiao, Y. T. Wu.** *Acad. J. Sec. Mil. Med. Univ.*, **25** (2004) 1000—1103
- [161] **M. Diem, L. Chiriboga, H. Yee.** *Biopolymers*, **57**, N 5 (2000) 282—290
- [162] **D. Sheng, F. Xu, Q. Yu, T. Fang, J. Xia, S. Li, X. Wang.** *J. Mol. Struct.*, **1099** (2015) 18—23
- [163] **M. Khanmohammadi, A. B. Garmarudi, S. Samani, K. Ghasemi A. Ashuri.** *Pathol. Oncol. Res.*, **17** (2011) 435—441
- [164] **S. Argov, R. K. Sahu, E. Bernshtain, A. Salman, G. Shohat, U. Zelig, S. Mordechai.** *Biopolymers*, **75**, N 5 (2004) 384—392
- [165] **A. Kallenbach-Thieltges, F. Groseruschkamp, A. Mosig, M. Diem, A. Tannapfel, K. Gerwert.** *J. Biophotonics*, **6**, N 1 (2013) 88—100
- [166] **B. Rigas, P. T. T. Wong.** *Cancer Res.*, **52** (1992) 84—88
- [167] **L. Dong, X. Sun, Z. Chao, S. Zhang, J. Zheng, R. Gurung, J. Du, J. Shi, Y. Xu, Y. Zhang, J. Wu.** *Spectrochim. Acta, A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, **122**, N 25 (2014) 288—294
- [168] **J. Depciuch, E. Kaznowska, A. Kozirowska, J. Cebulski.** *J. Pharmac. Biomed. Analys.*, **145** (2017) 611—615
- [169] **V. R. Kondepati, H. M. Heise, T. Oszinda, R. Mueller, M. Keese, J. Backhaus.** *Vibr. Spectrosc.*, **46** (2008) 150—157
- [170] **C. Conti, P. Ferraris, E. Giorgini, C. Rubini, S. Sabbatini, G. Tosi, J. Anastassopoulou, P. Arapantoni, E. Boukaki, S. Konstadoudakis, T. Theophanides, C. Valavanis.** *J. Mol. Struct.*, **881** (2008) 46—51
- [171] **V. R. Kondepati, M. Keese, R. Mueller, B. C. Manegold, J. Backhaus.** *Vibr. Spectrosc.*, **44**, N 2 (2007) 236—242
- [172] **E. Kaznowska, J. Depciuch, K. Szmuc, J. Cebulski.** *J. Pharmac. Biomed. Analys.*, **134** (2017) 159—268
- [173] **X. Li, Q.-B. Li, G.-J. Zhang, Y.-Z. Xu, X.-J. Sun, J.-S. Shi, Y.-F. Zhang, J.-G. Wu.** *Sci. World J.* (2012), ID 936149(1—4); doi:10.1100/2012/936149
- [174] **Q. Li, C. Hao, X. Kang, J. Zhang, X. Sun, W. Wang, H. Zeng.** *Sensors*, **17**, N 12 (2017) 2739
- [175] **J. A. de Almeida Chaves Piva, J. L. R. Silva, L. J. Raniero, C. S. P. Lima, E. A. L. Arisawa, C. de Oliveira, R. de Azevedo Canevari, J. Ferreira, A. A. Martin.** *Res. Biomed. Eng.*, **31**, N 1 (2015) 10—18
- [176] **P. Lasch, W. Haensch, N. Lewis, L. H. Kidder, D. Naumann.** *Appl. Spectrosc.*, **48** (2002) 1—10
- [177] **J. Babrah, K. McCarthy, R. J. Lush, A. D. Rye, C. Bessant, N. Stone.** *Analyst*, **134** (2009) 763—768
- [178] **J. Ramesh, M. Huleihel, J. Mordehai, A. Moser, V. Erukhimovich, C. Levi, J. Kapelushnik, S. Mordechai.** *J. Lab. Clin. Med.*, **141**, N 6 (2003) 385—394
- [179] **C. P. Schultz.** *Technol. Cancer Res. Treat.*, **1**, N 2 (2002) 95—104
- [180] **P. G. L. Andrus, R. D. Strickland.** *Biospectroscopy*, **4** (1998) 37—46
- [181] **P. G. Andrus.** *Technol. Cancer Res. Treatment*, **5**, N 2 (2006) 157—167
- [182] **R. Chaber, K. Łach, K. Szmuc, E. Michalak, A. Raciborska, D. Mazur, M. Machaczka, J. Cebulski.** *Infrared Phys. Technol.*, **83** (2017) 200—205

- [183] Adeeba, A. J. Siddiqui, S. T. H. Sherazi, S. Ahmed, M. I. Choudhary, Atta-ur-Rahman, S. G. Musharraf. *Spectrochim. Acta, A: Mol. Biomol. Spectrosc.*, **203**, N 5 (2018) 177—184
- [184] M. L. Naurecka, B. M. Sierakowski, W. Kasprzycka, A. Dojs, M. Dojs, Z. Suszyński, M. Kwaśny. *Am. J. Analyt. Chem.*, **8** (2017) 180—188
- [185] M. Salokhe, R. Phatak, H. Shinde. *Int. J. Modern Commun. Technol. Res.*, **2**, N 6 (2014) 1—2
- [186] H. Ukkonen, S. Kumar, J. Mikkonen, T. Salo, S. P. Singh, A. P. Koistinen. *Vibr. Spectrosc.*, **79** (2015) 24—30
- [187] K. Papamarkakis, B. Bird, J. M. Schubert, M. Miljković, R. Wein, K. Bedrossian, N. Laver, M. Diem. *Lab. Invest.*, **90**, N 4 (2010) 589—598
- [188] R. Bhargava. *Anal. Bioanal. Chem.*, **389**, N 4 (2007) 1155—1169
- [189] A. Benard, C. Desmedt, M. Smolina, P. Szternfeld, M. Verdonck, G. Rouas, N. Kheddoumi, F. Rothe, D. Larsimont, C. Sotiriou, E. Goormaghtigh. *Analyst*, **139**, N 5 (2014) 1044—1056
- [190] R. Bhargava, D. C. Fernandez, S. M. Hewitt, I. W. Levin. *Biochim. Biophys. Acta: Biomembranes*, **1758**, N 7 (2006) 830—845
- [191] J. M. Baker, S. R. Hussain, L. Lovergne, V. Untereiner, C. Hughes, R. A. Lukaszewski, G. Thiéfin, G. D. Sockalingum. *Chem. Soc. Rev.*, **45**, N 7 (2015) 1803—1818
- [192] L. B. Leal, M. S. Nogueira, R. A. Canevari, L. F. C. S. Carvalho. *Photodiagnos. Photodynam. Therapy*, **24** (2018) 237—244
- [193] S. Kumar, A. Srinivasan, F. Nikolajeff. *Current Med. Chem.*, **25** (2018) 1055—1072
- [194] J. A. Bispo, E. E. de Sousa Vieira, L. Jr. Silveira, A. B. Fernandes. *J. Biomed. Opt.*, **18**, N 8 (2013) 87004
- [195] J. G. Kelly, J. Trevisan, A. D. Scott, P. L. Carmichael, H. M. Pollock, P. L. Martin-Hirsch, F. L. Martin. *J. Proteome Res.*, **10**, N 4 (2011) 1437—1448
- [196] F. L. Martin, M. J. German, E. Wit, T. Fearn, N. Ragavan, H. M. Pollock. *J. Comput. Biol.*, **14** (2007) 1176—1184
- [197] L. F. C. S. Carvalho, M. S. Nogueira, L. P. M. Neto, T. T. Bhattacharjee, A. A. Matin. *Biomed. Opt. Express*, **8**, N 11 (2017) 5218—5227
- [198] D. Naumann, D. Helm, H. Labischinski. *Nature*, **351**, N 6321 (1991) 81—82
- [199] M. Jackson, G. Wagnieres, H. H. Mantsch. In: *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*, 3rd ed. (2017) 479—487; <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.12695-2>
- [200] B. Bird, M. Miljkovic, M. J. Romeo, J. Smith, N. Stone, M. W. George, M. Diem. *BMC Clin. Pathol.*, **8** (2008) 1—8
- [201] C. A. Lima, V. Goulart, D. M. Zezell. *Conf. LAOP (2014) LTh4A.24*
- [202] M. Sattlecker, R. Baker, N. Stone, C. Bessant. *Chemom. Intell. Lab.*, **107** (2011) 363—370
- [203] X. Li, Q. B. Li, Y. Z. Xu, G. J. Zhang, J. G. Wu, L. M. Yang, X. F. Ling, X. S. Zhou, J. S. Wang. *Spectrosc. Spect. Anal.*, **27** (2007) 439—443
- [204] J. Xu, J. Yang, Z. H. Lai. *Inform. Sci.*, **232** (2013) 11—26
- [205] S. S. Keerthi, C. J. Lin. *Neural Comput.*, **15** (2003) 1667—1689
- [206] P. Tian, W. Zhang, H. Zhao, Y. Lei, Lo. Cui, W. Wang, Q. Li, Q. Zhu, Y. Zhang, Z. Xu. *Int. J. Clin. Exp. Med.*, **8**, N 1 (2015) 972—981
- [207] M. Khanmohammadi, M. A. Ansari, A. B. Garmarudi, G. Garoosi. *Cancer Invest.*, **25** (2007) 397—404
- [208] M. Jackson, H. H. Mantsch. In: *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry*, 2nd ed., Ed. J. C. Lindon, Academic Press, Oxford (1999) 1494—1502
- [209] И. В. Скорняков, Г. Б. Толсторожев, В. А. Бутра. *Журн. прикл. спектр.*, **75**, № 3 (2008) 395—399 [I. V. Skorniyakov, G. B. Tolstorozhev, V. A. Butra. *J. Appl. Spectr.*, **75** (2008) 420—425]
- [210] Г. Б. Толсторожев, И. В. Скорняков, В. А. Бутра. *Журн. прикл. спектр.*, **76**, № 6 (2009) 805—816 [G. B. Tolstorozhev, I. V. Skorniyakov, V. A. Butra. *J. Appl. Spectr.*, **76**, N 6 (2009) 761—771]
- [211] E. P. Uceda Otero, G. S. N. Eliel, E. J. S. Fonseca, J. M. Hickmann, R. Rodarte, E. Barreto, K. J. Jalkanen. *Current Phys. Chem.*, **3**, N 1 (2013) 36—43
- [212] C. Hughes, M. J. Baker. *Analyst*, **141**, N 2 (2015); doi: 10.1039/c5an01858g