

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО-ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 616-018-073.5:621.375.826

Александров М.Т., Кукушкин В.И., Маргарян Э.Г.

## РАМАН-ФЛУОРЕСЦЕНТНАЯ ДИАГНОСТИКА СОСТОЯНИЯ ТКАНЕЙ ЧЕЛОВЕКА В НОРМЕ И ПРИ ПАТОЛОГИИ И ЕЁ АППАРАТНО-ПРОГРАММНОЕ РЕШЕНИЕ

ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.И. Сеченова (Сеченовский университет)» Минздрава России, 119991, Москва

Применение лазерного излучения особенно актуально в современной клинической практике, когда требуется проводить терапию и оценку её эффективности на принципах «диагностики по месту лечения», что объективно должно обеспечивать как лечебное, так и диагностическое применение воздействующего на биологический объект лазерного излучения. Необходимо выявлять позитивные/негативные физиологические и клинические эффекты, обеспечивать своевременную коррекцию отрицательных последствий лазерного воздействия на живой организм или отсутствие таковых. Это определяет актуальность рассмотрения общебиологической концепции взаимодействия лазерного излучения с биологическим объектом как лечебно-диагностической. Первичные, вторичные эффекты и обусловленные ими и патологическим процессом функциональные изменения могут быть зарегистрированы современными техническими средствами и использованы для оптометрии течения и оценки эффективности лечения с использованием воздействующего лазерного излучения, лазерной медицинской техники и медицинской технологии. Предлагаемый аппаратно-программный комплекс раман-флуоресцентной диагностики технически и технологически позволит с высокой степенью чувствительности, объективно и достоверно обеспечивать наиболее важный этап обследования — диагностику заболевания, мониторинг его течения и процесс реабилитации в целом.

Ключевые слова: лазерное излучение; АПК-аппаратно-программный комплекс; раман-флуоресцентная диагностика.

Для цитирования: Александров М.Т., Кукушкин В.И., Маргарян Э.Г. Раман-флуоресцентная диагностика состояния тканей человека в норме и при патологии и её аппаратно-программное решение. Российский стоматологический журнал. 2017; 21(5): 228-232. <http://dx.doi.org/10.18821/1728-2802-2017-21-5-228-232>

Alexandrov M.T., Kukushkin V.I., Margaryan E.G.

## RAMAN-FLUORESCENT DIAGNOSTICS OF A CONDITION OF TISSUES OF THE PERSON IS NORMAL ALSO AT PATHOLOGY AND ITS HARDWARE-SOFTWARE SOLUTION

Use of laser radiation is especially important in modern clinical practice when it is required to carry out treatment and assessment of its efficiency on the modern principles of «diagnostics at the place of treatment» that objectively has to provide both medical, and diagnostic use of the laser radiation influencing to a biological object. It's necessary for the purpose of identification of positive (negative) physiological and clinical effects, ensuring timely correction of negative effects of laser radiation on a live organism or lack of those. It determines the need and validity of consideration of the all-biological concept of interaction of laser radiation with a biological object as medical-diagnostic. Both primary and secondary effects, and the functional changes induced by them and pathological process can be registered with modern technical means and used for the purpose of optometry of the flow and evaluation of the effectiveness of treatment using laser radiation and laser medical equipment and medical technology. The offered hardware programm complex raman-fluorescent diagnostics will technically and technologically allow high degree of sensitivity, objectively and authentically provide the most important stage of inspection — diagnosis of a disease, monitoring of his current and process of rehabilitation in general.

Keywords: laser radiation; the hardware and software complex; Raman-fluorescent diagnostics.

For citation: Alexandrov M.T., Kukushkin V.I., Margaryan E.G. Raman-fluorescent diagnostics of a condition of tissues of the person is normal also at pathology and its hardware-software solution. Rossiyskii stomatologicheskii zhurnal. 2017; 21(5):228-232. <http://dx.doi.org/10.18821/1728-2802-2017-21-5-228-232>

For correspondence: Margaryan Edita Garnikovna, Cand. med. Sci., assistant of Department of therapeutic stomatology of the I. I. Sechenov First MSMU, E-mail: [edita@mail.ru](mailto:edita@mail.ru).

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Acknowledgments.** The study had no sponsorship.

Received 12.09.17

Accepted 20.09.17

В настоящее время проводятся экспериментальные исследования и клинические наблюдения по изучению возмож-

Для корреспонденции: Маргарян Эдита Гарниковна, канд. мед. наук, ассистент кафедры терапевтической стоматологии Первого МГМУ им. И.И. Сеченова, E-mail: [edita@mail.ru](mailto:edita@mail.ru)

ностей использования средств квантовой электроники как источников оптического излучения (в том числе низкоинтенсивного лазерного) для диагностики, профилактики и лечения заболеваний. В целом биологическое воздействие и клинический эффект низкоинтенсивного лазерного излучения зависит от оптических характеристик тканей (коэффициенты отражения, пропускания, поглощения), электрических, акустических,

биохимических, физико-химических, физико-механических свойств (теплоемкость, теплопроводность, удельная плотность и др.), функционального состояния биологического объекта (норма/патология). В результате взаимодействия указанных факторов после поглощения кванта света в облучённых тканях первично происходят следующие физико-химические изменения: возникновение возбуждённых состояний молекул, образование свободных радикалов, стереохимическая перестройка молекул, коагуляция и упругие колебания белковых структур, изменение электрического поля клетки, изменение химизма клетки и т. д. Эти первичные эффекты приводят к целому ряду вторичных изменений — вторичным эффектам. Часть из них связана с активацией ферментных систем, в частности сукцинатдегидрогеназы, НАД-Н<sub>2</sub>, НАДФ-Н<sub>2</sub>, ПОЛ и др., другая — вследствие конверсии лазерного излучения в биологическом объекте (БО) приводит к образованию, например, акустических и ультразвуковых колебаний, мягкого ультрафиолетового и рентгеновского излучения, флуоресценции, рэлеевского и комбинационного рассеяния, что влечёт ещё большее усиление вторичных (локальных и общих, специфических и неспецифических) биологических эффектов и увеличение их разнообразия. Кроме того, непосредственно лазерное излучение и продукты, возникающие в результате первичных и вторичных эффектов, оказывают выраженное воздействие на нервные окончания и опосредованное — на нервную систему в целом. Кроме первичных и вторичных эффектов, в организме возникают ответные нервно-рефлекторные и нервно-гуморальные реакции: активируются симпатoadреналовая и иммунная системы (местные и общие, специфические и неспецифические её факторы) увеличивается концентрация адаптивных гормонов, таким образом возникает комплекс адаптационных и компенсаторных реакций в целостном организме, направленных на восстановление его гомеостаза.

В результате под воздействием лазерного облучения происходят изменения, которые регистрируются на всех уровнях организации живой материи: субклеточном — поглощение кванта света пигментом БО, возникновение возбуждённых состояний молекул, образование свободных радикалов, стереохимическая перестройка молекул, коагуляция белковых структур и т. п., что при позитивном разрушении приводит к увеличению скорости синтеза белка, РНК, ДНК, ускорению созревания коллагена и его предшественников и др.; клеточном — изменение заряда электрического поля клетки, мембранного потенциала клетки и её проницаемости, повышение метаболической и функциональной активности и т. п.; тканевом — изменение химизма и рН межклеточной жидкости, микроциркуляции и т. п., изменение кислородного баланса и активации окислительно-восстановительных процессов; органом — стимуляция или угнетение функции какого-либо органа; системном — возникновение ответных адаптационных нервно-рефлекторных и нервно-гуморальных реакций с активацией симпатoadреналовой и иммунной систем; восстановление метаболического и структурно-функционального гомеостаза БО на всех уровнях его организации.

В зависимости от конкретного сочетания воздействующих факторов лазерного облучения (параметров облучения, метаболического и функционального состояния облучаемой ткани и индивидуальных особенностей организма) результирующий ответ целостного организма может выражаться в активации его функций (при адекватной величине воздействия) или их угнетении (при неадекватно большой величине воздействия), а также в отсутствии сколько-нибудь существенных изменений (при неадекватно малой величине воздействия), местных и общих, специфических и неспецифических ответных реакций биологического объекта в зависимости от уровня его организации и функционального состояния (гомеостаза).

При этом возникает объективная возможность использования регистрации указанных оптических, метаболических

и биоэнергетических процессов в качестве средства диагностики, что обеспечивает обратную связь при лечении больного на принципах реального времени.

Применение лазерного излучения особенно актуально в современной клинической практике, когда требуется проводить лечение и оценку его эффективности на современных принципах «диагностики по месту лечения», что объективно должно обеспечивать как лечебное, так и диагностическое применение воздействующего на биологический объект лазерного излучения. Это необходимо для выявления позитивных/негативных физиологических и клинических эффектов, обеспечения своевременной коррекции негативных эффектов лазерного воздействия на живой организм или отсутствия таковых. Эта методология и определяет необходимость и обоснованность рассмотрения общебиологической концепции взаимодействия лазерного излучения (ЛИ) с БО как лечебно-диагностической. Первичные, вторичные эффекты и наведённые ими и патологическим процессом функциональные изменения БО могут быть зарегистрированы современными техническими средствами и использованы для оптометрии течения и оценки эффективности лечения с использованием воздействующего лазерного излучения и лазерной медицинской техники и технологии [1].

Ниже приведён ряд примеров аппаратурной реализации использования лазерного излучения в целях мониторинга, диагностики, терапии.

Установка лазерная электронно-спектральная «ЛЭСА-01-БИОСПЕК» позволяет локально определять степень накопления фотосенсибилизатора в органах пациента, доступных для волоконно-оптического зонда. Установка для локальной спектроскопии может использоваться в ходе фотодинамической терапии внутриполостных, внутритканевых и поверхностных опухолей.

Микробиологический мониторинг состояния организма с помощью лазерно-флуоресцентного комплекса «Спектролюкс-МБ» представляется технологическим и интеллектуальным средством надёжной диагностики, оперативного массового скрининга населения и динамического мониторинга процесса коррекции и выбора эффективной медикаментозной стратегии лечения [2].

Медицинский комплекс диагностики микроорганизмов «ФЛЮОЛ» на базе специализированного спектрометра «АОС-МП» предназначен для индивидуального определения чувствительности бактериальной микрофлоры к антимикробным препаратам (антисептики, антибиотики) путём временного изменения характера спектров флуоресценции этой микрофлоры, получаемой при лазерном возбуждении, включая определение чувствительности патогенов к антибактериальным препаратам.

Раман-флуоресцентная диагностика стала возможной благодаря развитию технологий лазерной флуоресцентной диагностики.

Плюсами этой новой и перспективной для многих отраслей медицины технологии является компактность и портативность используемой аппаратуры, высокая разрешающая способность (порядка 1 Å), чувствительность и воспроизводимость методов измерения, малая погрешность измерения, возможность использования микрообъёмов исследуемого материала, отсутствие искажений снимаемого сигнала и влияния фоновой засветки на результаты измерений, возможность нормировки сигнала в режиме реального времени. Важная особенность данного метода заключается в способности подавления сигнала рэлеевского рассеяния за счёт обрезания Edge-фильтром. Методы раман-флуоресцентной спектроскопии и их технологическая и аппаратная реализация играют всё большую роль в биофизике, микробиологии и медицине. При этом на первый план выходят задачи идентификации и структурной характеристики органических молекул, включая мониторинг их структурных изменений, измерение концентраций веществ, входящих в состав пробы. Рамановская

спектроскопия, которая позволяет однозначно распознавать органические молекулы по спектрам неупругого рассеяния света благодаря возбуждению большого количества разных специфических колебательных и вращательных мод — один из наиболее точных методов анализа органических веществ.

Флуоресцентное и рамановское излучение используется для диагностики состояния тканей и органов БО в норме и при патологии, а именно — при заболеваниях и процессах микробной и неопластической природы, а также при других видах их патологии [3].

Возможность применения аппаратуры, реализующей использование раман-флуоресцентной спектроскопии для целей мониторинга, диагностики, терапии, основана на исследованиях, описанных в различных источниках [1] и выявивших, что для аэробных микробов характерен показатель аэробности (отношение пика интенсивности на  $700 \pm 5$  нм к аналогичному на длине волны  $665 \pm 5$  нм), меньше или равный 1, а для анаэробных бактерий — больше 1. Данный показатель характеризует в основном преобладающий тип метаболизма (аэробный или анаэробный) и позволяет тем самым объективно характеризовать в различных органах и тканях в норме и при патологии активность метаболических процессов и их количественные данные. Это особенно актуально при оценке эффективности лечения, течения и процесса реабилитации в целом у пациентов с воспалительными заболеваниями (течение процесса происходит на фоне гипоксии и существенно увеличенного показателя анаэробности, и по мере реабилитации этот показатель становится выражено аэробным, что и соответствует метаболизму интактных здоровых тканей). Этот же показатель объективно характеризует и неопластические процессы, поскольку при злокачественных и большинстве доброкачественных новообразований сдвиг метаболизма происходит в сторону достоверного увеличения значения анаэробности (при этом максимум интенсивности флуоресценции по длине волны сдвигается достоверно вправо).

Применение детергентов (нефлуоресцирующих или слабофлуоресцирующих) позволяет выявлять в различных биологических субстратах (твёрдые и мягкие биологические ткани, плазма крови, трансудаты, экссудаты, биопсийный материал и др.) наличие живых микробов и/или «мёртвых», включая культивируемые и некультивируемые виды микробов как в чистом виде, так и в их ассоциациях [1].

Представленные материалы убедительно свидетельствуют, что при мониторинге заболеваний и процессов микробной природы в динамике наблюдений реабилитации (выздоровления) всегда отмечается уменьшение интенсивности флуоресценции микробосодержащего субстрата в патологическом очаге (твёрдые и мягкие ткани, трансудаты, экссудаты, плазма крови, биопсийный материал и др.).

Закончена разработка основных базовых элементов портативных рамановских комплексов: малощумящих ССД камер, работающих при комнатной температуре, мощных компактных полупроводниковых и твердотельных лазеров, ultra-cut-edge рамановских фильтров, обеспечивающих пропускание рассеянного лазерного излучения на уровне  $10^{-6}$  при смещении на  $100 \text{ см}^{-1}$  от линии лазера.

Основная проблема непосредственного использования подобных комплексов для анализа микродоз органических веществ состоит в малом сечении рассеяния света на молекулярных возбуждениях. При осаждении молекулы исследуемого вещества на металлическую поверхность (SERS-подложку) вероятность процесса неупругого рассеяния возрастает многократно: до сотен тысяч раз для лучших на сегодняшний день коммерческих подложек и до десятка миллионов раз для лабораторных образцов, полученных с использованием методов электронной литографии. Заметим, что подложки, выполненные стандартными методами электронной литографии, на сегодняшний день не имеют коммерческих приложений в силу высокой стоимости производства.

Комплектация портативных раман-флуоресцентных комплексов с SERS-активными подложками позволяет увеличить амплитуду рассеянного света и пропорционально уменьшить объём анализируемых веществ. Такие комплексы уже сейчас могут быть использованы для идентификации микродоз (до нескольких десятков молекул) органических веществ. Предполагается, что дешёвые SERS-активные подложки, выполненные на базе новой технологии, в комплексе с миниатюрным и дешёвым рамановским спектрометром уже в ближайшее время найдут широкое применение во многих областях науки и жизни людей. В **медицине** — для диагностики инфекционных и неинфекционных заболеваний в различных её разделах и отраслях (онкология, стоматология, гинекология, дерматология, иммунология). Для исследования различных биологических жидкостей организма. В **биологии и микробиологии** — для изучения культур микроорганизмов, клеток и тканей. В **физике** — для изучения основ спектрального анализа на примере рамановского рассеяния и флуоресценции, а также спектров поглощения. Использование оптических методов изучения физических объектов. В **нанотехнологиях** — для исследования любых типов наноструктур. В органической и неорганической **химии** — при изучении механизмов реакций и характеристизации продуктов синтеза. В **материаловедении** — при исследовании любых типов неорганических и органических материалов, включая полупроводниковые элементы. В **минералогии** — при изучении драгоценных камней и минералов. При проведении криминалистической и таможенной экспертизы. В **фармацевтике** — при разработке и контроле производства таблетированных форм и кремов. В **промышленности** — для контроля качества продуктов питания, животноводческих кормов и растениеводческой продукции. Для **экологической оценки** окружающей среды, почв и водных ресурсов.

Прототипом устройства раман-флуоресцентной диагностики состояния тканей человека в норме и при патологии служит Raman and photoluminescence spectroscopy; патент: US 7362426 B1, в котором описаны системы и методы для одновременного проведения рамановской и фотолюминесцентной спектроскопии. В рассеянном объектом свете выделяются и отделяются компоненты рамановского сигнала и сигнала фотолюминесценции. Первый детектор позволяет получить компоненту рамановского рассеяния, а второй детектор — фотолюминесценции.

Недостатки устройства — большие габариты и невозможность применения в медицинских целях.

Его аналог — Raman spectrometer; патент: US 7403281 B2, где описаны система, способ и устройство для получения спектра рамановского рассеяния образца. В одном варианте исполнения предоставляется интегрированный рамановский спектрометр. В другом предоставляется портативный спектрометр рамановского рассеяния. Существует вариант его исполнения, включающий коллимирующую лучевую трубку для передачи возбуждающего излучения на внешние оптические системы, такие как микроскоп, телескоп или камеры. В следующем варианте осуществляется способ коррекции спектра рамановского рассеяния за счёт вычитания спектра фоновых помех. В другом — осуществляется способ для вычитания спектра флуоресценции из спектра рамановского рассеяния.

Недостатки устройства — отсутствие в спектре рассеянного света сигнала флуоресценции, который несёт в себе часть информации о полученных данных; большие габариты; невозможность применения в медицинских целях.

Техническим результатом, достигаемым при использовании описываемого устройства, является повышение чувствительности, точности, улучшение специфичности метода, расширение диапазона его медицинского применения.

Устройство может использоваться для исследования тканей и органов в норме и при патологии как *in vivo*, так и *in vitro*, как локально, т. е. точно, так и по площади объекта

исследования. Эти возможности определяются спектральными, энергетическими параметрами и адекватными им дозозависимыми биологическими эффектами при воздействии лазерного излучения на исследуемый объект, реализуемыми на различных уровнях его организации.

Данный технический результат достигается тем, что описываемый раман-флуоресцентный комплекс для диагностики состояний биологических тканей человека в норме и при патологии *in vivo* и *in vitro* включает: лазер с лазерным фильтром; систему зеркал и линз; систему, собирающую сигналы, исходящие от исследуемого объекта и объекта нормировки, и отсекающий фильтр; спектрометр с CCD-камерой, который обеспечивает обратную связь управления лазером и запись сигнала рамановского рассеяния и флуоресценции; персональный компьютер, на который устанавливается специальное программное обеспечение, реализующее алгоритмы мониторинга, диагностики и коррекции состояния субъекта и/или биологических тканей человека в норме и при патологии. Для повышения точности, улучшения специфичности идентификации объектов производится программная обработка, калибровка, нормировка и масштабирование получаемых данных, а также используются различные типы насадок и модификаций прибора. Для анализа *in vivo* применяется волоконно-оптический кабель, *in vitro* — другие различные типы насадок, а для визуализации изображения служит микроскоп. Для исследований *in vitro* микродоз биологических жидкостей и мазков тканей используются специальные серебряные наноструктурированные SERS-подложки, на которые с помощью микропипетки наносится жидкая фаза исследуемого биологического объекта.

Предлагаемый медицинский комплекс раман-флуоресцентной диагностики состояния тканей человека в норме и при патологии условно состоит из двух объединённых структурно и функционально компонентов — комплексов «ИнСпектр М» и «ИнСпектр М *in vivo*» для медико-биологических исследований как *in vivo*, так и *in vitro*, причём при исследованиях *in vivo* применяется часть комплекса с условным названием «ИнСпектр М *in vivo*» — для предварительного экстра- и интракорпорального поиска патологического очага, инфекции, опухоли или другой патологии и последующего забора из него традиционными методами материала для исследования, а при исследованиях *in vitro* — комплекс «ИнСпектр М». При этом получаемые результаты взаимно дополняют друг друга и повышают чувствительность метода, поскольку показатели при исследованиях *in vitro* на SERS-подложках имеют чувствительность в  $10^6$  раз большую, что позволяет выявлять начальные проявления патологии, не доступные для исследований *in vivo*; именно поэтому описываемый аппаратно-программный комплекс раман-флуоресцентной диагностики рассматривается в структурном единстве.

«ИнСпектр М» состоит из спектрометра с дифракционной решёткой, не имеющего подвижных частей, и жёстко соединённой с ним лазерной сборки. Спектральный диапазон аппаратов покрывает область молекулярных колебаний органических и неорганических веществ, что позволяет в течение нескольких секунд производить измерение рамановского и/или флуоресцентного спектра исследуемого объекта, определять спектральное положение и относительные интенсивности рамановских и флуоресцентных спектральных линий — своего рода «отпечатков пальцев» исследуемого объекта, проводить их поиск и сравнение со спектральной базой данных известных объектов.

С помощью приборов «ИнСпектр М» исследуемый объект подвергается воздействию лазерного излучения видимого диапазона, производится сбор рассеянного излучения от исследуемого объекта и спектральный анализ этого излучения. Прибор состоит из лазерного источника излучения, спектрометра типа Czerny-Turner, системы сбора, фильтрации и анализа рассеянного излучения. Прибор оснащён малошумящим

многоканальным детектором-анализатором (ПЗС-линейкой) для регистрации амплитудных и спектральных характеристик рассеянного излучения. Доступ к аппаратным средствам приборов «ИнСпектр М» и получаемым данным осуществляется посредством встроенного микроконтроллера с USB-интерфейсом. Программное обеспечение позволяет не только получать раман-флуоресцентные спектры различных объектов, но и распознавать их путём сравнения с эталонными.

Аппаратно-программный комплекс ИнСпектр М может работать в следующих вариантах: 1) без использования SERS — подложки. Для исследования *in vivo* применяется спектрометр «ИнСпектр М» с окончанием в виде волоконно-оптического кабеля. Для исследования *in vitro* применяется спектрометр «ИнСпектр М» с любыми типами насадок и в сочетании микроскопа с устройством для крепления спектрометра; 2) с использованием SERS — подложек. Для анализа микродоз исследуемых веществ применяются специализированные нано-структурированные SERS-подложки, на которые с помощью микропипетки наносится капля исследуемого вещества или мазок БО. 3) в сочетании с насадкой для вертикального крепления спектрометра; 4) в сочетании микроскопа с устройством для вертикального крепления спектрометра. Для этого комплекса оптическая схема состоит из микроскопного модуля и модуля спектро-анализатора, сочленившихся при помощи модуля светоделиителя. Для визуального исследования объекта используется стандартный режим работы микроскопа с использованием окуляров и/или видеокamеры. Конфигурация прибора допускает использование любой оптической схемы илюминации объекта как «на отражение», так и «на пропускание».

Возможны следующие варианты применения комплексов «ИнСпектр М» в медико-биологических исследованиях как *in vivo*, так и *in vitro*.

1. Для идентификации, индикации и дифференциации микроорганизмов, а также для определения чувствительности микробов к антимикробным препаратам и мониторинга плазмы крови. Данные исследования проводятся *in vitro* с помощью SERS-подложек на комплексе «ИнСпектр М» в сочетании с вертикальной насадкой или микроскопом; также возможно сканирование по поверхности исследуемого образца в процессе измерения. Метод гигантского рамановского рассеяния на SERS-подложках повышает чувствительность обнаружения и специфичность идентификации некоторых микроорганизмов, например микроорганизмов, которые содержат пигменты или имеют рамановски-активные продукты жизнедеятельности, по сравнению с другими существующими экспресс-методами.

2. Для проведения экспресс-диагностики кариеса и флюороза, объективизации их лечения, ускоренного исследования микробной ассоциации, определения относительной величины минерализации твёрдых тканей зуба. Данные исследования проводятся как *in vitro*, так и *in vivo* на комплексе «ИнСпектр М». При исследовании *in vitro* возможно сочетание комплекса «ИнСпектр М» с любой из прилагающихся насадок и микроскопом. При исследовании *in vivo* при работе с объектом исследования применяют спектрометр с волоконно-оптическим кабелем.

3. Для диагностики и исследования опухолевидных образований (доброкачественных, и злокачественных) и здоровых тканей *in vivo* и *in vitro*. Данные исследования проводятся *in vitro* и *in vivo* на комплексе «ИнСпектр М». При исследовании *in vitro* возможно сочетание комплекса с любой из прилагающихся насадок и микроскопом. Путём одновременного измерения рамановского рассеяния и сигнала флуоресценции на объёмном куске исследуемой ткани и на тонком слое жидкой фазы мазка ткани на SERS-подложках записываются спектры доброкачественных, злокачественных и здоровых тканей, анализ которых обнаруживает ряд характерных отличий. При исследовании *in vivo* используется при

работе с объектом исследования спектрометр с волоконно-оптическим кабелем.

Для некоторых задач, например при поиске раковых клеток в биологическом субстрате или при анализе плазмы крови на предмет нахождения в ней микробов и вирусов, предусмотрено сочетание комплекса «ИнСпектр М» со сканирующей хуз-подвижкой, обеспечивающей запись спектров с исследуемого образца по заданной траектории с заданным шагом. Спектры неупругого рассеяния света и сигнала флуоресценции можно измерять с пространственным разрешением 3 мкм. Именно в такой размер удастся сфокусировать лазерный луч на объект.

Применение программно-аппаратного комплекса «ИнСпектр М» обеспечивает достоверное, высокочувствительное ( $10^4$ — $10^5$  КОЕ/мл) обнаружение этиологического фактора и его реакцию (позитивную или негативную) на лекарственную поддержку (аппараты типа ЛЭСА, ФЛЮОЛ, СПЕКТРО-ЛЮКС позволяют выявлять микрофлору патологического очага минимально при концентрации  $10^9$ — $10^{10}$  КОЕ/мл).

Указанные преимущества — отличительные для аналогичного типа установок, выпускаемых как в России, так и за рубежом, и это делает медицинские комплексы «ИнСпектр М» на сегодняшний и ближайшие годы приоритетными.

Доступность и высокая чувствительность комплекса позволяют применять его в широкой клинической практике.

Использование комплексов «ИнСпектр М» даёт возможность практически в реальное время на принципе обратной связи («прикроватная диагностика») — по месту лечения объективно оценивать процесс реабилитации больного, правильность выбора предпочтительного антимикробного препарата и его индивидуальную клиническую эффективность.

Применение аппаратов «ИнСпектр М» и представленной медицинской технологии имеет существенные преимущества, клинически целесообразно и может быть рекомендовано для оценки патогенетических и саногенетических процессов.

Описанная флуоресцентная медицинская технология свидетельствует, что по показателям интенсивности флуоресценции плазмы крови можно объективно и своевременно (индивидуально у каждого пациента) не только выявлять эффективность действия антимикробного препарата и мониторировать процесс течения и лечения заболевания, но и обнаруживать привыкание к антимикробным препаратам и осуществлять непосредственно в клинических условиях подбор адекватной лекарственной поддержки лечения, тем самым обеспечивая в итоге наименьшие сроки реабилитации (выздоровления) больного. Использование аппаратов «ИнСпектр М», чувствительность которых при исследованиях *in vitro* и *in vivo* на 4—5 порядков выше, чем у ЛЭСА, ФЛЮОЛ, СПЕКТРО-ЛЮКС, позволит существенно повысить качество и специфичность диагностики и в итоге улучшить лечение и существенно сократить сроки его проведения.

«ИнСпектр М» предназначен для измерения, регистрации и интерпретации спектров рамановского рассеяния и/или спектров фотолюминесценции биологических жидкостей, кожных покровов, слизистых оболочек и тканей организма (*in vivo* и *in vitro*), для диагностики и лечения широкого круга заболеваний и функциональных расстройств организма человека и животных, для анализа содержимого таблеток, капсул, порошков и жидкостей. Кроме того, данный комплекс может быть использован для оценки среды обитания человека.

Для экспресс-анализа не требуется предварительной подготовки или обработки исследуемых объектов. Их идентификация может производиться непосредственно в закрытых контейнерах, сосудах, бутылках, колбах и ампулах с прозрачными или полупрозрачными стенками.

Для «ИнСпектра М» не требуется специального помещения, поэтому прибор может применяться для контроля органических и неорганических веществ как на начальной и конечной стадии производства, так и в процессе транспорти-

ровки. Результаты анализа обрабатываются с помощью удобного пользовательского программного интерфейса.

Работа с прибором ведётся с помощью персонального компьютера через USB-порт. Программное обеспечение позволяет проводить качественный и количественный анализ получаемых спектров.

Широкий диапазон местного и общего, неспецифического и специфического действия лазерного излучения определяется общебиологической закономерностью, которую можно сформулировать следующим образом: любой физический, химический, биологический фактор или их сочетание, действуя на биологический объект, в зависимости от параметров воздействующего фактора (доза, концентрация и т. д.), уровня организации биологического объекта (молекулярный, субклеточный, тканевый, органный, организменный, экологический) и его функционального состояния (норма, патология, фаза цикла, беременность и др.) может не оказывать никакого воздействия на его специфическую функцию, стимулировать её или угнетать, вплоть до разрушения. При этом для каждого из биологических объектов может быть установлена (выявлена, получена) качественная и количественная зависимость параметров воздействующего фактора (для лазерного излучения это спектральный диапазон, интенсивность, доза, временная последовательность и т. д.) от уровня организации и функционального состояния биологического объекта (норма, патология, патогенез заболевания, реактивность организма, подвергаемого воздействию лазерного облучения), что в итоге приводит к определённым результатам (стимуляция, угнетение, разрушение, отсутствие эффекта и др.). В целом представленный комплекс факторов определяет возможности и перспективы применения лазерного излучения и лазерной медико-биологической техники для диагностики, профилактики и лечения заболеваний. Предлагаемый аппаратно-программный комплекс раман-флуоресцентной диагностики технически и технологически позволит с высокой степенью чувствительности, заложенной в нём аппаратно и программно, объективно и достоверно обеспечивать наиболее важный этап обследования — диагностику заболевания, мониторинг его течения и процесс реабилитации в целом.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Александров М.Т. *Лазерная клиническая биофотометрия (теория, эксперимент, практика)*. М.: Техносфера; 2008.
2. Александров М.Т., Афанасьев Р.А. и др. *Лазерная флуоресцентная диагностика в медицине и биологии (теория и возможности применения)*. М.: НПЦ Спектролюкс; 2007.
3. Александров М.Т., Зуев В.М., Кукушкин В.И., Карселадзе А.И., Ищенко А.И., Джибладзе Т.А. и др. Исследование спектральных характеристик органов малого таза у женщин и их клиническое значение. *Онкогинекология*. 2013; 3: 61—7.

## REFERENCES

1. Alexandrov M.T. *Laser Clinical Biophotometry (theory, experiment, practice)*. [Lazernaya klinicheskaya Biofotometriya (teoriya, experiment, praktika)]. Moscow: Tekhnosfera; 2008. (in Russian)
2. Alexandrov M.T., Afanasyev R.A. et al. *Laser fluorescent diagnostics in medicine and biology (the theory and possibilities of application)*. [Lazernaya flyuorescentnaya diagnostika v meditsine i biologii (teoriya i vozmozhnosti primeneniya)]. Moscow: NPT Spektrolyuks; 2007. (in Russian)
3. Alexandrov M.T., Zuyev V.M., Kukushkin V.I., Karseladze A.I., Ishchenko A.I., Dzhibladze T.A. et al. Research of spectral characteristics of bodies of a small pelvis at women and their clinical value. *Onkoginekologiya*. 2013; 3: 61—7. (in Russian)

Поступила 12.09.17

Принята в печать 20.09.17