

Диапазон клинического применения раман-флуоресцентной диагностики в оценке состояния тканей человека в норме и при патологии

М.Т. Александров¹, В.И. Кукушкин², А.А. Баштовой³

¹ ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского», Москва, Российская Федерация

² ФГБУ науки Институт физики твердого тела им. Ю.А. Осипяна РАН, Москва, Российская Федерация

³ ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента РФ, Москва, Российская Федерация

РЕЗЮМЕ

В представленной работе дано обоснование разработки инновационного, универсального, цифрового диагностического комплекса экспрессной раман-флуоресцентной диагностики. Представлен диапазон и алгоритм его клинического применения, обеспечивающего сано- и патогенетический подход в объективности и эффективности оценки тканей и органов человека в норме и при патологии: заболеваний и процессов микробной и неопластической природы (в клинической микробиологии, стоматологии, акушерстве и гинекологии, онкологии, гастроэнтерологии, фармакологии). Решение указанных вопросов основано на методологии лазерной цифровой фотометрии, базовых требованиях и принципах современной науки и практики, обеспечивающих контролируемое лечение конкретной болезни у конкретного больного. Обозначены перспективы применения метода и аппаратуры.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: лазерное излучение, лазерная фотометрия, механизм биологического действия лазерного излучения, раман-флуоресцентная экспресс диагностика, аппаратно-программный комплекс, серс подложки, алгоритм применения, диапазон клинического применения, норма, патология, заболевания и процессы микробной и неопластической природы, клиническая микробиология, стоматология, акушерство и гинекология, онкология, гастроэнтерология, фармакология, экспресс диагностика «по месту», обратная связь, перспективы применения.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The range of clinical application of Raman fluorescence diagnostics in assessing the state of human tissues in normal and pathological conditions

M.T. Aleksandrov¹, V.I. Kukushkin², A.A. Bashtovoy³

¹ Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI) named after M.F. Vladimirovsky, Moscow Region Healthcare Institution, Moscow, Russian Federation

² Yu.A. Osipyan Institute of Solid State Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

³ Central State Medical Academy, Department of Presidential Affairs of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

SUMMARY

The presented work provides a rationale for the development of an innovative, universal, digital diagnostic complex for express Raman-fluorescence diagnostics. The range and algorithm of its clinical application are presented, providing a sano- and pathogenetic approach to the objectivity and effectiveness of assessing human tissues and organs in health and pathology: diseases and processes of microbial and neoplastic nature (in clinical microbiology, dentistry, obstetrics and gynecology, oncology, gastroenterology, pharmacology). The solution to these issues is based on the methodology of laser digital photometry, basic requirements and principles of modern science and practice, providing controlled treatment of a specific disease in a specific patient. The prospects for the use of the method and equipment are outlined.

KEYWORDS: laser radiation, laser photometry, mechanism of biological action of laser radiation, Raman-fluorescence express diagnostics, hardware and software complex, substrate SERs, application algorithm, range of clinical application, norm, pathology, diseases and processes of microbial and neoplastic nature, clinical microbiology, dentistry, obstetrics and gynecology, oncology, gastroenterology, pharmacology, express diagnostics «on site», feedback, application prospects.

CONFLICT OF INTEREST. The authors declare that they have no conflicts of interest.

Введение

Применение лазерного излучения и лазерной медицинской техники в медицине как средство лечения или диагностики является общепризнанным. Однако, диапазон его клинического применения как уникального и эффективного лечебно-диагностического фактора все еще недостаточно изучен. Это связано в основном с тем,

что при его клиническом применении крайне редко используют принципы и патогенетические механизмы его объективизации на метаболическом, морфометрическом, функциональном и клиническом уровне в их единстве и во взаимосвязи, реализуемым в экспресс режиме (диагностика со скоростью света) на принципе обратной связи. Представленный методологический подход определяет все

еще не раскрытые возможности применения лазерного излучения и лазерной медицинской техники как цифровой, лечебно-диагностической медицинской технологии широкого спектра применения. Указанные положения определили тему экспериментально-теоретического исследования и его содержание.

Цель исследования

Экспериментально-теоретическое обоснование диапазона клинического применения лазерного излучения и лазерной медицинской техники.

Задачи исследования

1. Теоретическое обоснование клинического применения лазерного излучения.
2. Провести изучение диапазона клинического применения лазерного излучения.
3. Обосновать алгоритм формирования лазерной лечебно-диагностической аппаратуры.
4. Провести сравнительную оценку диагностической чувствительности и эффективности лазерных медицинских технологий.

Материал и методы исследования

Материалом исследования послужили ряд теоретических исследований авторов и данных литературы [1–10, 13–19].

Примеры диапазона применения лазерного излучения и лазерной медицинской техники заимствованы авторами из собственных клинических наблюдений, представленных в рецензируемых источниках [1–12].

Алгоритм формирования лазерной аппаратуры сформулирован авторами.

Методы исследования, представленные в статье: теоретические, оптические, раман-флюоресцентные, микробиологические, патоморфологические, клинические (опрос, осмотр).

Объекты исследования: аппаратно-программный комплекс, Серс подложки, алгоритмы медицинского науковедения, тест объекты микробов полости рта, гнойной раны и субстрата ЖКТ (кал), твердых тканей зуба, биопсийный материал интактных тканей и опухоли малого таза женщин, фармакологические препараты.

Результаты исследования

Разработка и клиническая реализация инновационных исследований в медицине позволяет врачу расширить границы предлагаемых услуг за счет кардинального повышения их эффективности и качества на фоне совершенствования медицинских технологий и, как следствие, своих профессиональных знаний и умений, что неизбежно должно выразиться в формировании врача новой формации.

В настоящее время проводятся как экспериментальные исследования, так и клинические наблюдения по изучению возможностей использования средств квантовой электроники как источников оптического излучения (в том числе низкоинтенсивного лазерного излучения) для целей диагностики, профилактики и лечения заболеваний. В це-



Рисунок 1. Взаимодействие оптического излучения с биотканями

лом, 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 тканей (теплоемкость, теплопроводность, удельная плотность и др.), функционального состояния биологического объекта (норма/патология). В результате взаимодействия указанных выше факторов (после поглощения кванта света) в облученных тканях первично происходят следующие физико-химические изменения: возникновение возбужденных состояний молекул, образования 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 (вторичные эффекты). Часть из них связана с активацией ферментных систем, в частности, сукцинатдегидрогеназы, НАД-Н2, НАДФ-Н2, ПОЛ и др.

Лазерное излучение непосредственно и преимущественно воздействует на мембраны клеток, ферментные системы и рецепторный аппарат организма на различных уровнях его организации. Другая часть вторичных эффектов вследствие конверсии лазерного излучения в биологическом объекте (БО) приводит к образованию, например, акустических и ультразвуковых колебаний, мягких ультрафиолетового и рентгеновского излучений, флуоресценции, рэлеевского и комбинационного (рамановского) рассеяния, что приводит, в свою очередь, к еще большему усилению вторичных (локальных и общих, специфических и неспецифических) биологических эффектов и увеличению их разнообразия (рис. 1).

Кроме того, и непосредственно лазерное излучение, и продукты, возникающие в результате первичных и вторичных эффектов, оказывают выраженное воздействие на нервные окончания и, опосредованно, на нервную систему в целом. Кроме первичных и вторичных эффектов, в организме возникают ответные нервно-рефлекторные и нервно-гуморальные реакции: активируются симпатическая и иммунная системы (местные и общие, специфические и неспецифические ее факторы) увеличивается концентрация адаптивных гормонов, таким образом возникает комплекс адаптационных и компенсаторных реакций в целостном организме, направленных на восстановление его гомеостаза (1).

В результате, под воздействием лазерного облучения происходят изменения, которые регистрируются на всех уровнях организации живой материи:

- субклеточном (поглощение кванта света пигментом БО, возникновение возбужденных 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, изменение мембранного потенциала клетки и ее проницаемости, повышение метаболической и в частности синтетической активности и т. п.);
- тканевом (изменение химизма и pH межклеточной жидкости, изменение 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 его функционального состояния (гомеостаза). Данное положение соответствует понятию общего адаптационного синдрома, стресс и дистресс по Г. Селье и является, по-видимому, общебиологической закономерностью.

При этом возникает объективная возможность регистрации указанных выше оптических, метаболических и биоэнергетических процессов, морфометрических и функциональных характеристик БО 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 с целью выявления позитивных (негативных) физиологических и клинических эффектов, обеспечения своевременной

коррекции негативных эффектов лазерного воздействия на живой организм или отсутствие таковых. Эта методология и определила необходимость и обоснованность рассмотрения выше представленной общебиологической концепции взаимодействия лазерного излучения (ЛИ) с БО как лечебно-диагностической. Как первичные и вторичные эффекты, так и наведенные ими и патологическим процессом метаболические, функциональные и морфометрические изменения БО могут быть зарегистрированы современными техническими средствами и использованы для целей оптометрии течения и оценки эффективности лечения с использованием воздействующего лазерного излучения, лазерной медицинской техники и медицинской технологии [1, 4, 7, 8].

Например, микробиологический мониторинг состояния организма с помощью лазерно-флуоресцентного комплекса типа «Спектролюкс-МБ» представляется технологическим и интеллектуальным средством не прямой диагностики туберкулеза, т. е. без определения видовой специфичности патогена, оперативного массового скрининга населения и динамичного мониторинга процесса коррекции и выбора эффективной медикаментозной стратегии лечения по косвенному признаку – изменению амплитудно-спектральных характеристик плазмы крови [2].

Развитием лазерных технологий диагностики является раман-флуоресцентная диагностика.

Плюсами этой новой и перспективной для многих отраслей медицины технологии является компактность и портативность используемой аппаратуры, высокая разрешающая способность порядка $1\text{ \AA}$, чувствительность и воспроизводимость методов измерения, малая погрешность измерения, возможность использования микрообъемов исследуемого материала, отсутствие искажений снимаемого сигнала и влияния фоновой засветки на результаты измерений, возможность нормировки сигнала в режиме реального времени. Важной особенностью данного метода является возможность подавления сигнала рэлеевского рассеяния за счет обрезания Edge-фильтром [5].

Методы раман-флуоресцентной спектроскопии и их технологическая и аппаратная реализация играют все 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. Лазерная спектроскопия широко используется для контроля процессов на химических производствах, для анализа качества продукции в фармакологии и пищевой промышленности, для выявления фальсификатов, для обнаружения наркотических и сильнодействующих веществ, для анализа загрязнения воды. Рамановская спектроскопия, которая позволяет однозначно распознавать органические молекулы по спектрам неупругого рассеяния света, благодаря возбуждению большого количества разных специфических колебательных и вращательных мод, как нельзя лучше подходит для этих целей. Рамановская спектроскопия является одним из наиболее точных методов анализа органических веществ [6, 9, 10].



Результаты разработки (аппаратура)

Области применения:

- Анализ состава биологических жидкостей (кровь, моча, слюна), мазков и тканей организма
- Идентификация примесей в воде и воздухе
- Идентификация вирусов, бактерий и микроорганизмов
- Идентификация маркированных веществ и противодействие распространению контрафакта лекарственных препаратов
- Анализ ДНК

ТРЕБУЕТСЯ! Внедрение Раман-флуоресцентных технологий в клиническую практику

Рисунок 2. Аппаратно-программный комплекс раман-флуоресцентной диагностики

Флуоресцентное и рамановское излучения используются 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].

Аналогом заявляемого устройства является «Raman spectrometer», патент: US 7403281 B2, а прототипом – «Raman and photoluminescence spectroscopy», патент: US 7362426 B1. В прототипе описаны системы и методы для одновременного проведения рамановской и фотолуминесцентной спектроскопии. В рассеянном объектом свете выделяются и отделяются компоненты рамановского сигнала и сигнала фотолуминесценции. Первый детектор позволяет получить компоненту рамановского рассеяния, а второй детектор – фотолуминесценции. Недостатками устройства являются большие габариты и невозможность применения в медицинских целях.

Разработанный нами комплекс обеспечивает возможность использования его для исследования тканей и органов в норме и при патологии, как *in vivo*, так и *in vitro*, как локально, т.е. точечно, так и по площади объекта исследования. Эти возможности определяются, в целом, спектральными, энергетическими параметрами и адекватными им дозозависимыми биологическими эффектами при воздействии лазерного излучения на исследуемый объект, реализуемыми на различных уровнях его организации.

Заявленный медицинский комплекс раман-флуоресцентной диагностики состояния тканей человека в норме и при патологии состоит из двух объединенных структурно, функционально и содержащих единую программу,

компонентов, а именно – комплекса раман-флуоресцентной диагностики *in vivo* для медико-биологических исследований и комплекса раман-флуоресцентной диагностики *in vitro* для медико-биологических исследований, причем для предварительного экстра- и интракорпорального поиска патологического очага, инфекта, опухоли или другой патологии и последующего забора из него традиционными методами материала для исследования используются компоненты *in vivo* диагностики, а при исследованиях *in vitro* – компоненты *in vitro* диагностики. При этом получаемые результаты взаимно дополняют друг друга и повышают чувствительность аппаратно-программного диагностического решения. Это обеспечивается, в частности, тем, что показатели при исследованиях *in vitro* на SERS-подложках повышают чувствительность диагностики в 10^6 раз и больше, что позволяет выявлять начальные проявления патологии не доступные для исследований *in vivo*. Именно поэтому, предлагаемый аппаратно-программный комплекс раман-флуоресцентной диагностики мы рассматриваем в аппаратно-структурном и программном единстве полезной модели (рис. 2).

Приводим возможные примеры и варианты применения комплекса раман-флуоресцентной диагностики в медико-биологических исследованиях, как *in vivo*, так и *in vitro*:

1) В клинической микробиологии.

Для идентификации, индикации и дифференциации микроорганизмов, а также для определения чувствительности микробов к антимикробным препаратам (рис. 3).

Выявлено, что интенсивность флуоресценции микроба зависит от его концентрации (рис. 4).

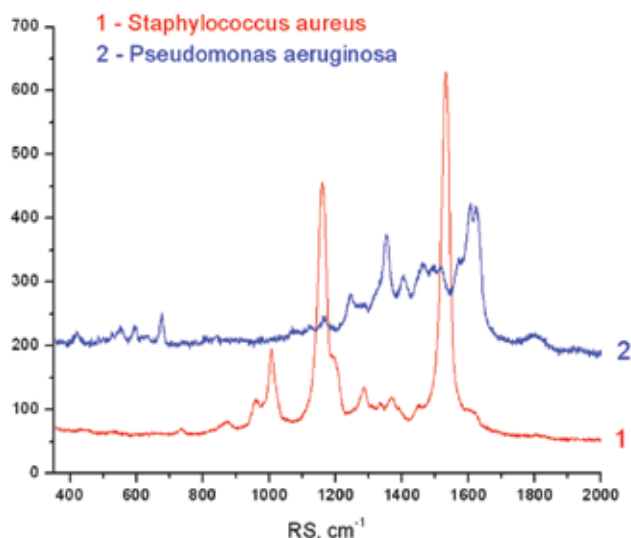


Рисунок 3. Спектры *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*

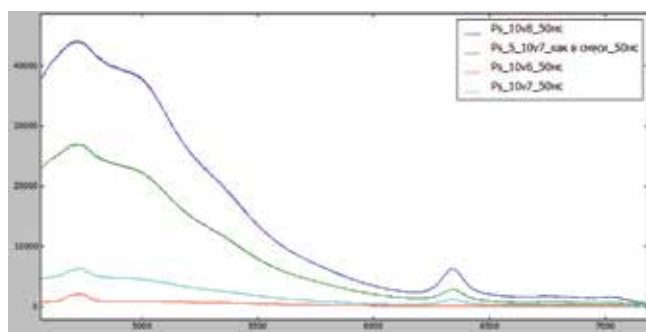


Рисунок 4. Интенсивность флуоресценции микроба зависит от его концентрации. Синий спектр – синегнойка в концентрации 10^8 КОЕ/мл, зеленый спектр – синегнойка в концентрации 5×10^7 КОЕ/мл, голубой спектр – синегнойка в концентрации 10^7 КОЕ/мл, красный спектр – синегнойка в концентрации 10^6 КОЕ/мл

Определение чувствительности микробов к антимикробным препаратам

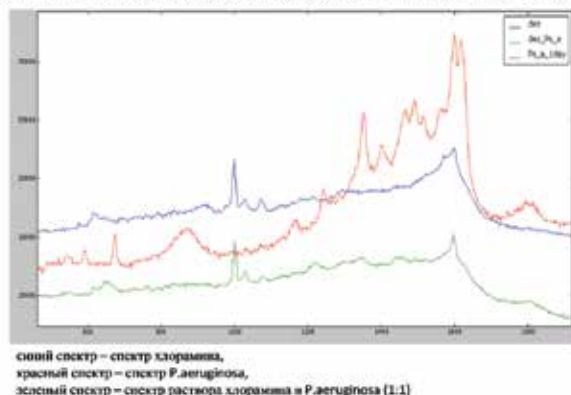


Рисунок 5. Сравнительный анализ спектров антисептика 1% хлорамина при воздействии на штамм бактерии. Время исследования 2–3 мин.

Ниже представлена раман-флуоресцентная методика для определения чувствительности микробов к антимикробным препаратам.

На рис. 5 можно увидеть три спектра с SERS-подложки для одинаковых концентраций синегнойной палочки, хлорамина и смеси хлорамина и синегнойной палочки (раствор 1:1). Видно, что после внесения хлорамина спектр синегнойной палочки исчез и спектр раствора хло-

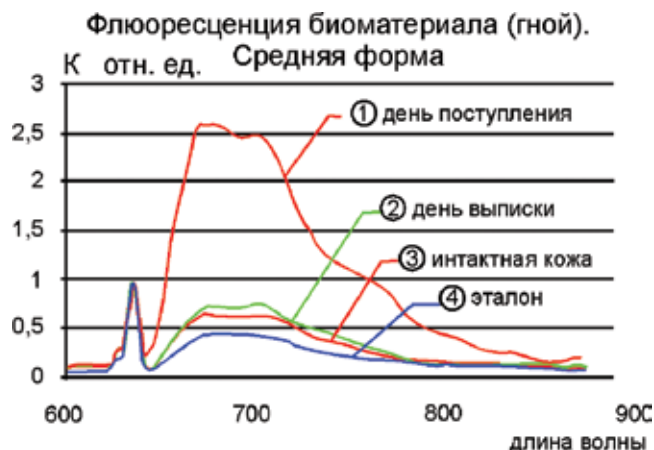


Рисунок 6. Флегмона средней тяжести. Флуоресценция гнойного отделяемого в динамике клинических наблюдений

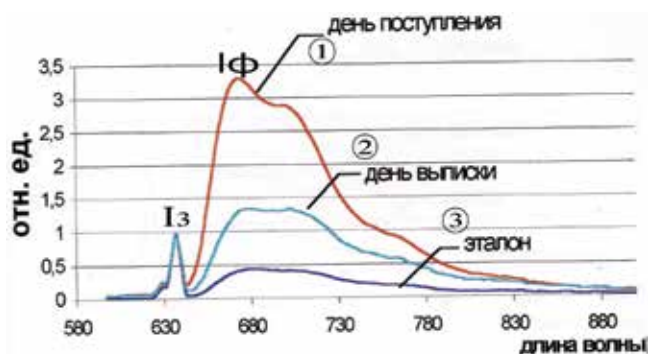


Рисунок 7. Флуоресценция субстрата ЖКТ у пациента с флегмоной средней степени тяжести снижается на фоне антибиотикотерапии (дисбиоз)

рамин + синегнойка (1:1) стал похож на спектр хлорамина. Это означает, что бактерии разрушились под действием данного антисептика. Таким образом, раман-флуоресцентная диагностика позволяет быстро и надежно определять предпочтительный антисептический препарат, который «убивает» рассматриваемый вид бактерий.

Разработана методика диагностики хирургических инфекций и дисбактериоза (рис. 6 и 7).

Наблюдается снижение интенсивности флуоресценции гнойной раны на фоне антибактериальной терапии.

Представленные материалы убедительно свидетельствуют, что при мониторинге заболеваний и процессов микробной природы в динамике наблюдений процесса реабилитации (выздоровления) всегда отмечается уменьшение интенсивности флуоресценции микробосодержащего субстрата в патологическом очаге (твердые и мягкие такни, транссудаты, экссудаты, плазма крови, биопсийный материал и др.). При этом, на фоне антибиотикотерапии флуоресцентным методом выявляется дисбиоз кишечника.

Это позволяет, по-видимому, практически в реальном времени на принципе обратной связи («прикроватная диагностика» – диагностика по месту лечения) объективно оценивать процесс реабилитации больного, оценивать эффективность выбора предпочтительного антимикробного препарата, его индивидуальную клиническую эффективность и сроки применения.

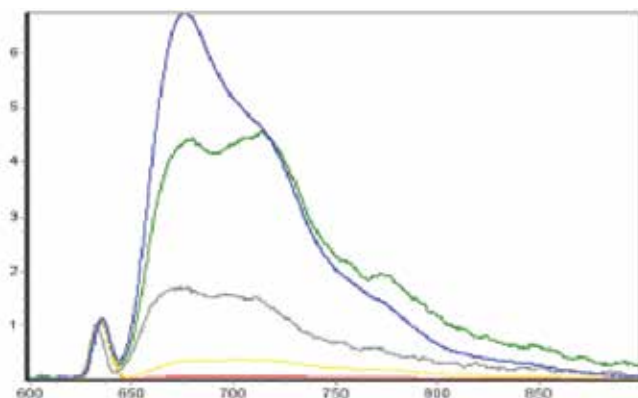


Рисунок 8. Флуоресценция плазмы крови при туберкулезе значительно возрастает (верхний график) по сравнению плазмой здорового человека (нижний график)

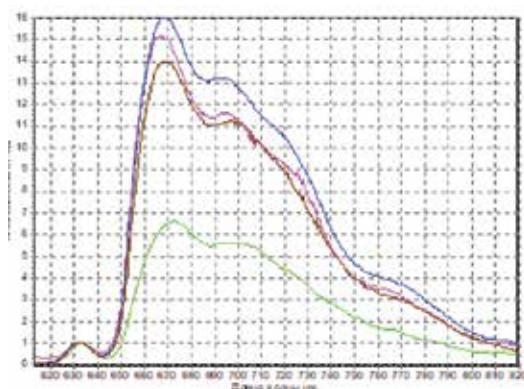


Рисунок 9. Увеличение интенсивности флуоресценции плазмы крови при сепсисе (снизу вверх) – летальный исход при отсутствии чувствительности к антибиотикотерапии

Разработана методика неспецифической диагностики туберкулеза (рис. 8).

Разработана методика неспецифической диагностики сепсиса (рис. 9).

Исследование флуоресценции плазмы крови при сепсисе позволяет провести мониторинг диагностики процесса реабилитации больного, возможность объективной оценки средств медикаментозной поддержки и сроков их применения.

Представленные результаты объективно свидетельствуют о том, что увеличение интенсивности флуоресценции в плазме крови при гнойно-воспалительных заболеваниях (нормированные показатели) характеризуют степень тяжести как патологического процесса, так и степень тяжести состояния больного вплоть до выявления терминальных показателей (несовместимых с жизнью) и позволяют оценивать эффективность и своевременность применения комплексного лечения направленного на выздоровление больного (нижний график).

2) Для проведения экспресс – диагностики кариеса и флюороза, объективизации их лечения, ускоренного исследования микробной ассоциации, определения относительной величины минерализации твердых тканей зуба.

Данные исследования проводятся как *in vitro*, так и *in vivo* на комплексе раман-флуоресцентной диагностики. При исследовании *in vitro* возможно сочетание ком-

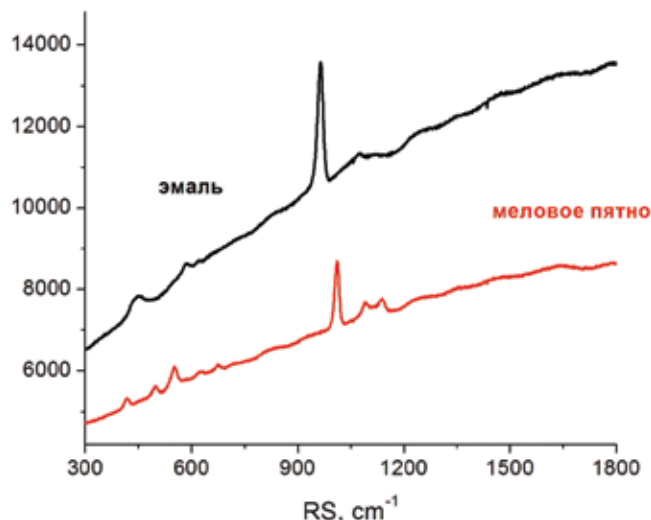


Рисунок 10. Нахождение рамановских линий гидроксиапатитов, кальций апатитов и фторапатитов в меловом пятне (это пятно возникает при флюорозе) и в эмали

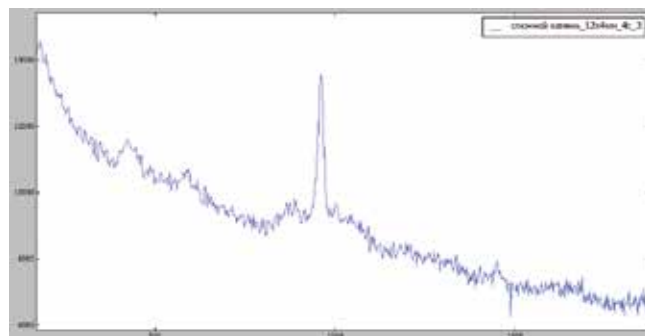


Рисунок 11. Спектр слюнного камня. Линия 960 cm^{-1} – линия апатита

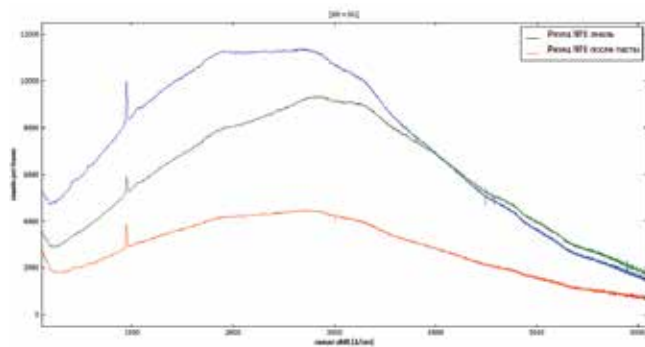


Рисунок 12. Скриншот дисплея компьютера

плекса раман – флуоресцентной диагностики с любой из прилагающихся насадок и с микроскопом. При исследовании *in vivo* используется при работе с объектом исследования спектрометр с волоконно-оптическим кабелем (рис. 10, 11, 12).

На скриншоте дисплея компьютера (рис. 12) видна одномоментная регистрация флуоресценции и Рамановских пиков на этапах гигиенической чистки зубов (динамика сверху вниз). Выявлено как уменьшение интенсивности флуоресценции (кулообразный спектр), так и рамановского пика (на спектре слева), характеризующего уменьшение минеральной компоненты зуба (поверхностный слой).

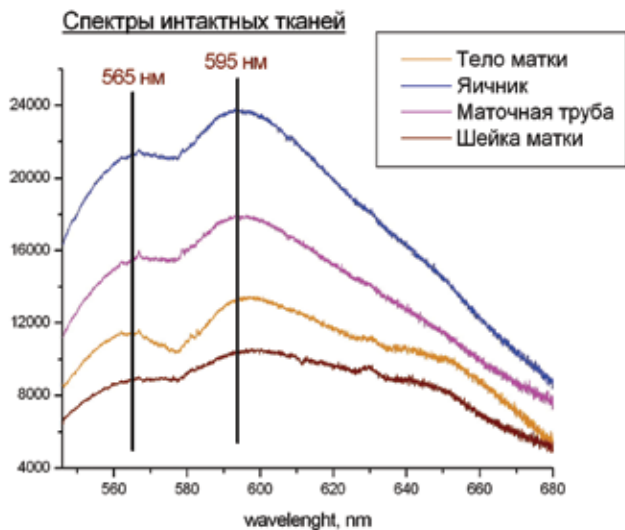


Рисунок 13. Спектры intactных тканей

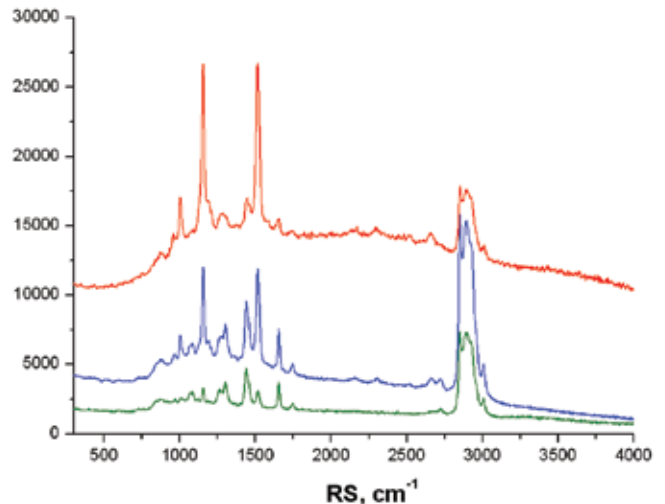


Рисунок 16. Раман-люминесцентные спектры опухолевой ткани – ангиомиолипомы почки (красный спектр), липом передней брюшной стенки (зеленый спектр) и правого плеча (синий спектр)

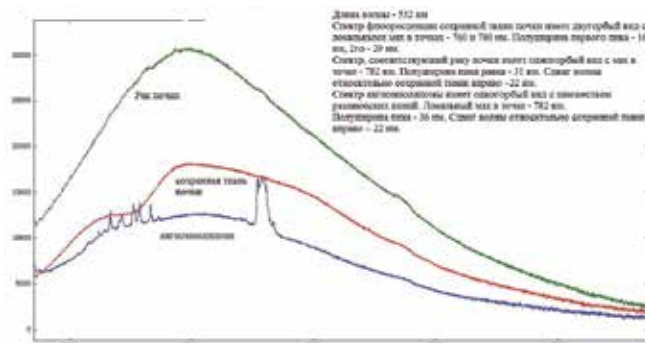


Рисунок 14. Спектры сохранной ткани, рака и ангиомиолипомы почки

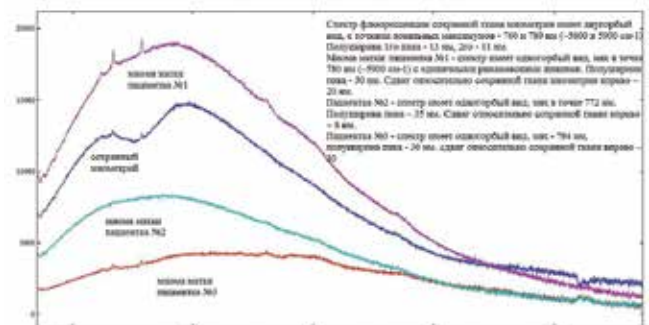


Рисунок 17. Спектры сохранной ткани миометрия и миом матки

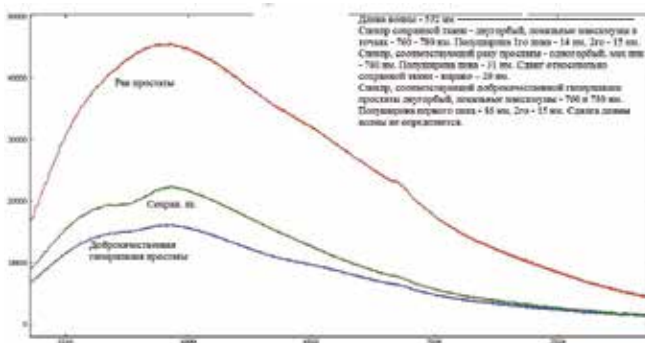


Рисунок 15. Спектры сохранной ткани, рака и доброкачественной гиперплазии простаты

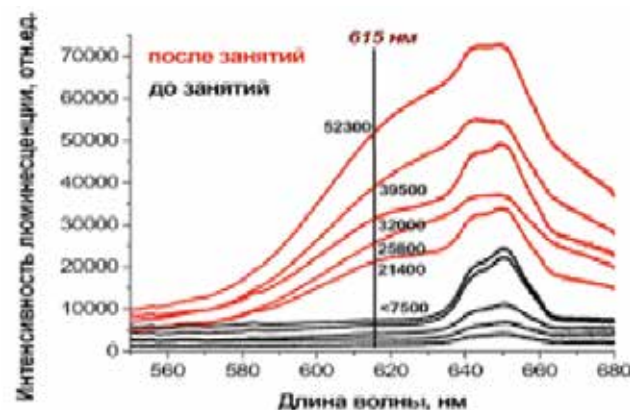


Рисунок 18. Динамика изменения интенсивности флуоресценции проб ротовой жидкости у студентов после занятий (верхний спектр) и ночного отдыха (нижний спектр). Снижение интенсивности флуоресценции характеризует уменьшение (нормализацию) постстрессовой нагрузки на организм человека

3) Для диагностики и исследования опухолевидных образований, как доброкачественных, так и злокачественных, и здоровых тканей *in vivo* и *in vitro*. Данные исследования проводятся как *in vitro*, так и *in vivo* на комплексе раман-флуоресцентной диагностики. При исследовании *in vitro* возможно сочетание комплекса раман-флуоресцентной диагностики с любой из прилагающихся насадок и с микроскопом. Путем одновременного измерения рамановского рассеяния и сигнала флуоресценции на объемном 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 (рис. 13, 14, 15, 16, 17). При исследовании *in vivo* используется спектрометр с волоконно-оптическим кабелем.

4) Для оценки стрессовой нагрузки (рис. 18).

5) Для диагностики (индикации) лекарственных препаратов (рис. 19, 20).

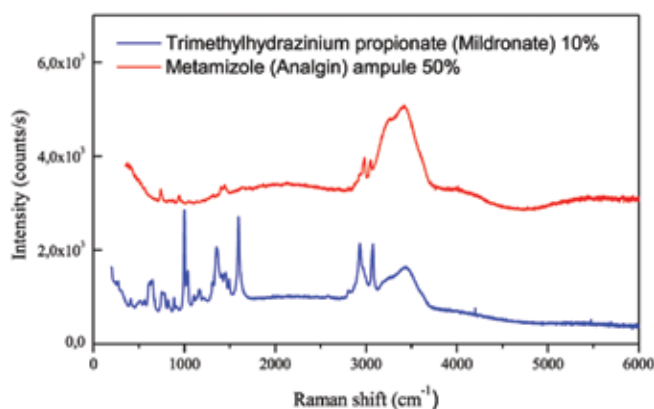


Рисунок 19. Верхний спектр (красный) – спектр метамизола; нижний (синий спектр) – спектр препарата Милдронат (Mildronate)

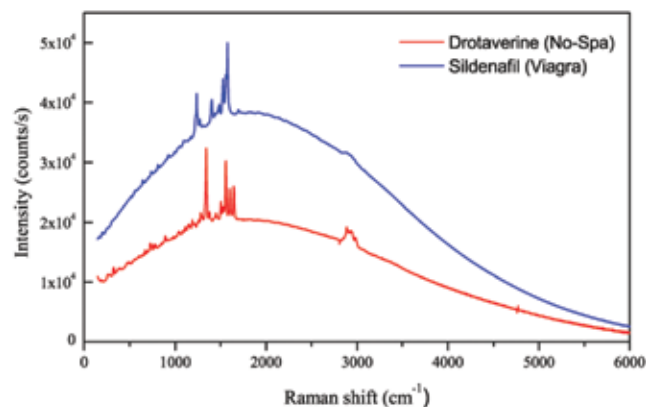


Рисунок 20. Верхний спектр (синий) – спектр виагры, нижний спектр (красный) – спектр ношпы

Таким образом, к настоящему времени разработаны базовые элементы портативных раман-флуоресцентных комплексов, использование которых имеет широкий диапазон применения:

- В биологии, медицине и микробиологии для изучения культур микроорганизмов, клеток и тканей, для диагностики и оценки эффективности лечения заболеваний и процессов микробной и неопластической природы. То есть применение комплексов раман-флуоресцентной диагностики имеют существенные преимущества, клинически целесообразны и могут быть рекомендованы для оценки как патогенетических, так и саногенетических процессов.
- 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 характеристики 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.

Возможны следующие варианты работы с комплексом раман-флуоресцентной диагностики (образцы установок представлены на рис. 2).

1. Без использования SERS – подложки.

Для исследования *in vivo* применяется комплекс раман-флуоресцентной диагностики с окончанием в виде волоконно-оптического кабеля.

Для исследования *in vitro* применяется комплекс раман-флуоресцентной диагностики 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 делает мазок БО.

2.1. В сочетании с насадкой для вертикального крепления спектрометра.

2.2. В сочетании микроскопа с устройством для вертикального крепления спектрометра.

Для этого комплекса в сочетании с микроскопом оптическая схема состоит из микроскопного модуля и модуля спектро-анализатора, сочлененных при помощи модуля светоделителя. Для визуального исследования объекта используется стандартный режим работы микроскопа с использованием окуляров и/или видеокамеры. Конфигурация прибора допускает использование любой оптической схемы иллюминации объекта как «на отражение», так и «на пропускание».

Экспрессность и эффективность раман-флуоресцентных технологий представлены в таблице.

Заключение

Таким образом, предлагаемый аппаратно-программный комплекс раман-флуоресцентной диагностики технически, технологически и методологически позволит с высокой степенью чувствительности, программно, экспрессно, в режиме онлайн, объективно и достоверно проводить наиболее важный этап обследования пациентов при заболеваниях и процессах микробной и неопластической природы – диагностику заболевания, мониторинг его течения и процесс реабилитации в целом. Кроме этого, предлагаемая медицинская технология позволяет идентифицировать средства лекарственной поддержки и оценивать их эффективность. В более широком плане раман-флуоресцентные медицинские технологии, на основе представленных технических и технологических решений следует признать лечебно-диагностическими. анализ современной литературы по проблеме профилак-

Таблица

Сравнительная оценка диагностической эффективности раман-флуоресцентных медицинских технологий

Высокая точность диагностики	90–95%	Метод	Стоимость одного исследования, руб.	Длительность исследования	Экспрессный и интегральный характер оценки эффективности лечения и его коррекции	Возможность исследования большого количества проб (in situ)	Определение эффективности препарата (антибиотик и антисептик, онко препараты, лучевая терапия) в экспресс-режиме
Высокая скорость проведения диагностики	В 10–100 раз быстрее существующих методов	Бактериологический	200–1000	7–10 дней	-	-	-
Средняя ценовая категория диагностического оборудования	От 500 тыс. до 1,5 млн рублей	Газожидкостная хроматография	200–680	30–100 мин.	-	-	-
Простота в использовании	Не требует дополнительного образования	Масспектроскопия	200–600	40–60 мин.	-	-	-
Низкая себестоимость исследования	В 10–100 раз дешевле дополнительного специального оборудования	Раман-флуоресцентная диагностика	100–500	1–2 мин.	+	+	+
Компактность и мобильность комплексов		Полимеразная цепная реакция	От 1000	Несколько часов	-	-	-
		Реакция иммунофлюоресценции	500–1000	40–60 мин.	-	-	-
		Высоковольтный электрофорез	-	60 мин.	-	-	-

тики, диагностики и при этом, следует подчеркнуть, что лечение и диагностика заболеваний и процессов микробной и неопластической природы показали (по данным литературы) отсутствие системного подхода к их применению в клинической практике на основе цифровых технологий, реализуемых в режиме онлайн «по месту» на принципе обратной связи, то есть, непосредственно в момент обследования и лечения пациента. Представленный широкий спектр действия (применения) раман-флуоресцентных методов исследования позволяет, по-видимому, применять источник лазерного излучения указанной аппаратуры как эффективный лечебный компонент под контролем диагностической его составляющей. Представленный методологический подход будет в интересах как врача, так и пациента. Эти концептуально инновационные решения должны прийти на смену традиционным субъективным методам, что представляет большой научный и прикладной интерес. Данное направление является социально значимым, так как напрямую связано с качеством здоровья людей, что обуславливает активный поиск решения указанной проблемы и ее прикладных аспектов.

Список литературы / References

- Александров М.Т., Зуев В.М., Кукушкин В.И., Карселадзе А.И., Ищенко А.И., Джибладзе Т.А., Метревели Б.Г., Хомерики Т.А. Исследование спектральных характеристик органов малого таза у женщин и их клиническое значение. Онкогинекология. 2013; 3:61–67. Aleksandrov M.T., Zuev V.M., Kukushkin V.I., Karseladze A.I., Ishchenko A.I., Dzhibladze T.A., Metreveli B.G., Khomeriki T.A. Spectral analysis of pelvic tissues in women and its clinical value. Oncogynecology. 2013;3:61–67.
- Александров М.Т., Маргарян Э.Г. Применение лазерных технологий в клинике терапевтической стоматологии (обоснование, возможности, перспективы). Российская стоматология. 2017; 3:31–36. Aleksandrov M.T., Margaryan E.G. Laser technique application in therapeutic dentistry in clinic (rationale, possibilities, perspectives). Russian Dentistry. 2017; 3:31–36.
- Александров М.Т., Маргарян Э.Г. Идентификация микроорганизмов на основе эффекта гигантского рамановского рассеивания. Российская стоматология. 2017; 4:12–19. Aleksandrov M.T., Margaryan E.G. Identification of microorganisms based on the effect of giant Raman scattering. Russian Dentistry. 2017; 4:12–19.
- Александров М.Т., Маргарян Э.Г. Обоснование применения эффекта гигантского рамановского рассеивания для идентификации основных возбудителей гнойно-воспалительных процессов челюстно-лицевой области. Стоматология. 2018;1:27–32. Aleksandrov M.T., Margaryan E.G. Rationale for the application of surface-enhanced Raman scattering for identification of main pathogens of purulent-inflammatory diseases in maxillofacial area. Dentistry. 2018;1:27–32.
- Александров М.Т., Кукушкин В.И., Маргарян Э.Г. Раман-флуоресцентная диагностика состояния тканей человека в норме и при патологии и ее аппаратно-программное решение. Российский стоматологический журнал. 2017;5:228. Aleksandrov M.T., Kukushkin V.I., Margaryan E.G. Raman fluorescence diagnostics of the state of human tissues in health and pathology and its hardware and software solution. Russian Dental Journal. 2017;5:228.
- Александров М.Т., Кукушкин В.И., Маргарян Э.Г., Пашков Е.П., Баграмова Г.Э. Возможности и перспективы применения раман-флуоресцентной диагностики в стоматологии. Российский стоматологический журнал. 2018;1:4–11. Aleksandrov M.T., Kukushkin V.I., Margaryan E.G., Pashkov E.P., Bagramova G.E. Possibilities and perspectives of raman fluorescence diagnostic application in dentistry. Russian Dental Journal. 2018; 1:4–11.
- Александров М.Т., Маргарян Э.Г., Будайчиева З.С. Применение методики оценки психоэмоционального состояния врача и пациента для гендерной гармонизации субъекта (врача) и объекта (пациента) в клинике терапевтической стоматологии. Российская стоматология. 2017; 4:42–43.
- Александров М.Т. Лазерная клиническая биофотометрия (теория, эксперимент, практика). М.: Техносфера, 2008:584. Aleksandrov M.T. Laser clinical biophotometry (theory, experiment, practice). Moscow: Tekhnosfera, 2008:584.
- Александров М.Т., Афанасьев Р.А. и соавт., Лазерная флуоресцентная диагностика в медицине и биологии. М.: НПЦ Спектролюкс. 2007:271. Aleksandrov M.T., Afanasyev R.A. et al., Laser fluorescence diagnostics in medicine and biology. Moscow: NPC Spectrolux. 2007:271.

- Aleksandrov M.T., Margaryan E.G., Budaychieva Z.S. The application of assessment methods of the psycho-emotional state of (doctor and patient) for gender harmonization of treatment and diagnostic processes in dentistry. *Russian Dentistry*. 2017;4:42–43.
10. Александров М.Т., Утюж А.С., Олесова В.Н., Юмашев А.В., Пашков Е.П., Михайлова М.В., Ахмедов А.Н., Дмитриева Е.Ф., Артемова О.А., Дмитриев А.И., Дзалаева Ф.К., Николенко Д.А. Лазерные Раман-флуоресцентные медицинские технологии в стоматологии от эксперимента к клинике. М.: КнигИздат. 2020: 384.
Aleksandrov M.T., Utyuzh A.S., Olesova V.N., Yumashev A.V., Pashkov E.P., Mikhailova M.V., Akhmedov A.N., Dmitrieva E.F., Artemova O.A., Dmitriev A.I., Dzalaeva F.K., Nikolenko D.A. Laser Raman-fluorescence medical technologies in dentistry from experiment to clinic. Moscow: KnigIzdat. 2020: 384.
 11. Александров М.Т., Подойникова М.Н., Еганын Д.Г. Оценка минерализации твёрдых тканей зуба методом раман-флуоресцентных медицинских технологий при воздействии различных физических и химических факторов у пациентов в норме и при кариозных и некариозных поражениях. *Российский стоматологический журнал*. 2023;6(27):521–531. doi: 10.17816/dent508778. Aleksandrov M.T., Podoinikova M.N., Eganyan D.G. The use of raman-fluorescent medical technologies to assess the effect of physical and chemical factors on the mineralization of hard tooth tissues in normal and noncarious lesions. *Russian Dental Journal*. 2023;6(27):521–531. doi: 10.17816/dent508778.
 12. Геворков Г. А. Комплексное лечение больных с флегмонами челюстно-лицевой области на основе индивидуального выбора антимикробного препарата экспресс-методом на лазерном аппарате «Флюол». Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. 2009: 126. Gevorkov G.L. Complex treatment of patients with phlegmon of the maxillofacial region based on individual selection of an antimicrobial drug using an express method on the laser device «Fluol». Dissertation for the degree of candidate of medical sciences. 2009: 126.
 13. Thomas Huser. Nanosensors using Surface-Enhanced Raman Scattering (SERS). Center for Biophotonics Science and Technology. 2007: Feb. 6: EAD289.
 14. Kneipp K., Kneipp H., Itzkan I., Dasari R., Feld M., Surface enhanced Raman scattering and biophysics. *Journal of Physics: Condensed Matter*. 2002;18: R597–R624.
 15. Loschenov V.B., Konov V.I., Prokharov A.M. Photodynamic Therapy and Fluorescence Diagnostics. *Laser Physics*, 2000;6:1188–1207.
 16. Shcherbo D., Shemiakina I.I., Souslova E.A., Strukova L., Shidlovskiy K.M., Britanova O.V., Zaraisky A.G., Lukyanov K.A., Chudakov D.M., Ryabova A.V., Loschenov V.B., Luker K.E., Schmidt B.T., Luker G.D., Gorodnichenko T.V. Near-infrared fluorescent proteins. *Nature Methods*. 2010: 10:827–829. doi:10.1038.
 17. R. Sheng, F. Nii, T. Cotton, *Anal. Chem.* 63, 437 (1991).
 18. J. Thornton, R. Force, *Appl. Spectrosc.* 45, 1522 (1991).
 19. URL: http://mrl.illinois.edu/sites/default/files/AMC/downloads/PrincetonInstruments_SCT-Spectrograph.pdf

Статья поступила / Received 25. 02.2025
Получена после рецензирования / Revised 27. 02.2025
Принята в печать / Accepted 28. 02.2025

Информация об авторах

Александров Михаил Тимофеевич¹ – д.м.н., профессор, лауреат государственной премии РФ в области науки и техники, кафедра стоматологии
E-mail: alex_mta@mail.ru
Кукушкин В.И.² – к.ф.-м.н., научный сотрудник
E-mail: kukushvi@mail.ru
Баштовой А.А.³ – к.м.н., доцент, доцент кафедры стоматологии
E-mail: bachtovoi@mail.ru

¹ ГБУЗ МО «МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского», Москва, Российская Федерация

² ФГБУ науки Институт физики твердого тела им. Ю.А. Осипяна РАН, Москва, Российская Федерация

³ ФГБУ ДПО «Центральная государственная медицинская академия» Управления делами Президента РФ, Москва, Российская Федерация

Контактная информация:

Александров Михаил Тимофеевич. E-mail: alex_mta@mail.ru

Author information

Aleksandrov Mikhail Timofeevich¹ – Doctor of Medical Sciences, Professor, Laureate of the State Prize
E-mail: alex_mta@mail.ru
Kukushkin V.I.² – Candidate of Physical and Mathematical Sciences, Research Associate
E-mail: kukushvi@mail.ru
Bashtovoy A.A.³ – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor, Department of Dentistry
E-mail: bachtovoi@mail.ru

¹ Moscow Regional Research and Clinical Institute (MONIKI) named after M.F. Vladimirovsky, Moscow Region Healthcare Institution, Moscow, Russian Federation

² Yu.A. Osipyan Institute of Solid State Physics, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

³ Central State Medical Academy, Department of Presidential Affairs of the Russian Federation, Moscow, Russian Federation

Contact information

Aleksandrov Mikhail Timofeevich. E-mail: alex_mta@mail.ru

Для цитирования: Александров М.Т., Кукушкин В.И., Баштовой А.А. Диапазон клинического применения раман-флуоресцентной диагностики в оценке состояния тканей человека в норме и при патологии // Медицинский алфавит. 2025;(10):99–108. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2025-10-99-108>

For citation: Aleksandrov M.T., Kukushkin V.I., Bashtovoy A.A. The range of clinical application of Raman fluorescence diagnostics in assessing the state of human tissues in normal and pathological conditions // Medical alphabet. 2025;(10):99–108. <https://doi.org/10.33667/2078-5631-2025-10-99-108>

