

Применение инфракрасной спектроскопии к исследованию биоптатов пациентов с глиальными опухолями головного мозга

© Ш.А. Тухтаева^{1,2}, Н.Е. Воинов³, А.Ю. Улитин^{3,4}, С.В. Волошин^{5,6}, Д.А. Петренко⁷, Л.В. Плотникова⁸, В.Е. Ситникова¹

¹ Университет ИТМО,
Санкт-Петербург, Россия

² Ташкентская медицинская академия,
Ташкент, Узбекистан

³ Российский научно-исследовательский институт им. А.Л. Поленова — филиал ФГБУ „НИМЦ им. В.А. Алмазова“
Минздрава России,
Санкт-Петербург, Россия

⁴ СЗГМУ им. И.И. Мечникова, кафедра нейрохирургии,
Санкт-Петербург, Россия

⁵ Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова,
Санкт-Петербург, Россия

⁶ Ленинградская областная клиническая больница,
Санкт-Петербург, Россия

⁷ Санкт-Петербургский Горный университет,
Санкт-Петербург, Россия

⁸ Санкт-Петербургский государственный университет,
Санкт-Петербург, Россия

e-mail: vesitnikova@itmo.ru

Поступила в редакцию 22.12.2025 г.

В окончательной редакции 16.02.2025 г.

Принята к публикации 27.03.2026 г.

Исследованы возможности применения инфракрасной (ИК) спектроскопии в качестве потенциального диагностического инструмента для тканей мозга. Проанализированы ИК-спектры образцов тканей глиальных опухолей в сравнении с тканью головного мозга свиньи. ИК-спектры глиальных опухолей значительно отличались от спектров ткани головного мозга свиньи. Наиболее существенные различия касались диапазона липидов и углеводов. Выявлены различия в форме полосы поглощения амид I, которые свидетельствуют об изменении соотношения белков, имеющих различные количества α -спирали и β -листов в своей структуре, а также интенсивности поглощения в диапазоне $1714\text{--}1716\text{ cm}^{-1}$ характерном для липидов. Дисперсионный анализ позволил различить различные гистологические типы глиальных опухолей по их ИК-спектрам. Таким образом, ИК-спектроскопию можно использовать в качестве дополнительного инструмента для ускорения и улучшения гистологической диагностики.

Ключевые слова:

DOI: 10.61011/OS.2026.06.63420.69-25

Введение

Ежегодная заболеваемость первичными злокачественными опухолями головного мозга составляет примерно 7 случаев на 100 000 человек, и примерно 49% первичных злокачественных опухолей головного мозга — глиобластомы. Пятилетняя выживаемость составляет примерно 36% [1]. Глиобластома (ГБМ) известна как один из самых распространённых, сложных, устойчивых к лечению и смертельно опасных видов рака. Эти опухоли поражают головной мозг, который контролирует когнитивные функции, настроение, поведение и личность, а также все функции каждого органа и части тела.

В настоящее время существуют две важные проблемы при лечении опухолей головного мозга. Первая проблема — точный диагноз для определения курса лечения

и прогнозирования выживаемости, а вторая — точность определения границ хирургического вмешательства во время операции. Текущий подход к диагностике и гистологической классификации заключается в получении срезов опухоли путем биопсии или циторедуктивной хирургии, окрашивания гематоксилином и эозином, а также с применением набора иммуногистохимических нейрональных маркерных белков. Иммуногистохимическое определение экспрессии изоцитратдегидрогеназы считается полезным маркером в глиомах [2]. Однако эти методы имеют ограничения, которые включают субъективную интерпретацию [3]. На данный момент имеется потребность в разработке более надежных и точных диагностических инструментов.

Альтернативная стратегия использует колебательную спектроскопию, в частности ИК-спектроскопию с преобразованием Фурье с нарушенным полным внутрен-

ним отражением (НПВО-ИК) для анализа сыворотки. НПВО-ИК-спектроскопия — быстрый, дешевый и неинвазивный метод, инструменты просты в эксплуатации, а метод позволяет получать биохимические отпечатки пальцев из мельчайших объемов биологических жидкостей и тканей. Инфракрасные спектры содержат огромное количество химической и биологической информации [4]. Было показано, что биомолекулярный дисбаланс в биожидкостях и тканях может указывать на болезненные состояния [5]. В сочетании со сложными системами анализа данных этот метод успешно обнаруживает различные виды рака [6–8].

Колебательная спектроскопия имеет потенциал в качестве биоаналитического инструмента для диагностики рака, поскольку она может исследовать химический состав и молекулярную структуру нормальной и патологической ткани [9]. С помощью НПВО-ИК-спектроскопии можно определить структуру молекул, включая белки, углеводы, ДНК/РНК или жирные кислоты. Метод ИК-микроспектроскопии позволяет исследовать химический состав биологических тканей, измеряя большое количество спектральных профилей от определенных подтипов, что, используя вычислительные алгоритмы, помогает идентифицировать потенциально релевантные спектральные маркеры и упрощает классификацию [10]. Такие методы предлагают средства для выявления надежных диагностических спектральных признаков даже при значительной внутриклассовой изменчивости [11]. Примерами таких методов являются анализ главных компонент (PCA), линейный дискриминантный анализ (LDA), каждый из которых использовался для анализа ИК-спектров, полученных из биологических тканей [12].

Фурье-ИК-спектроскопия позволяет получить спектры интактных клеток, записанные в течение нескольких секунд, и спектральные изображения срезов тканей в течение нескольких минут. Однако это метод *ex vivo*, и для него требуется сухой образец. В данном исследовании мы предположили, что исследование тканей мозга с помощью ИК-спектроскопии позволит провести сегрегацию опухолей. Учитывая, что конформационные изменения белков и ДНК происходят в большинстве предраковых или раковых поражений, методы спектроскопии позволяют их обнаруживать [13,14].

В данной работе мы сравнили образцы человеческого мозга с патологией и образцы здорового мозга свиньи. Схожесть человеческого и свиного мозга обусловлена общими чертами в строении и ДНК [15], что делает свиней подходящей моделью для изучения человеческих болезней.

Экспериментальная часть

Сбор образцов

Данное исследование было проведено совместно на базе Российского научно-исследовательского нейрохирургического института им. А.Л. Поленова — филиал

ФБГУ „СЗФМИЦ им. В.А. Алмазова“ и ФГАУ высшего образования Научно-исследовательского университета ИТМО в соответствии с Хельсинкской декларацией от июня 1964 г. и одобрено на заседании этического комитета ЛЭК 12-20 от 21.12.2020.

Образцы тканей мозга были получены в РНХИ имени А.Л. Поленова. Источником информации служила первичная медицинская документация от РНХИ им. А.Л. Поленова: результаты гистопатологического исследования. Образцы были получены от пациентов различного возраста, пола, гистологического типа, класса ВОЗ. Тканевые образцы включали эпилептическую лейкоэнцефалопатию ($n = 2$), глиобластому ($n = 6$), олигодендроглиому ($n = 6$) и астроцитому ($n = 5$).

Подготовка тканей к спектроскопии

Полученные после гистологического анализа образцы тканей мозга препарировались и подсушивались в токе воздуха перед фурье-ИК-спектральным анализом. Срезы тканей исследовали методами биоспектроскопии случайным образом, чтобы избежать систематической ошибки. От каждого образца опухоли было записано не менее 10 спектров. В различных местах ткани мозга свиньи также были записаны спектры и усреднены.

ИК-фурье-спектроскопия

Инфракрасные спектры были получены с использованием спектрометра BrukerTensor 37 FTIR с приставкой MIRacle ATR с кристаллом ZnSe с алмазным напылением. Спектры были получены из 10 различных мест на каждом образце. Спектры (спектральное разрешение 2 cm^{-1} , дающее интервал между данными 1 cm^{-1} , добавленные для 32 сканирований) были преобразованы в оптическую плотность с помощью программного обеспечения Bruker OPUS. Полученные ИК-спектры были скорректированы по базовой линии и векторно нормированы с помощью программы Bruker OPUS.

Статистический анализ

Экспериментальные результаты были статистически проанализированы с помощью дисперсионного анализа (ANOVA) в программе OriginPro (пробная версия, OriginLab, США). Для определения значимых различий между образцами использовался критерий наименьшей значимой разности Фишера с уровнем достоверности 95%. Спектральные данные были предварительно обработаны с использованием различных методов, включая нормализацию, стандартное нормальное распределение, коррекцию базовой линии до хемометрического моделирования.

Результаты и обсуждение

Усредненные ИК-спектры тканей мозга

На рис. 1 показаны усредненные ИК-спектры для групп условно здоровой ткани головного мозга и тканей свиного головного мозга, а на рис. 2–5 усредненные ИК-спектры опухолей разделены на подгруппы в соответствии с гистологическими типами. В целом ИК-спектры опухолей головного мозга, по-видимому, перекрываются со спектрами нормального мозга в области отпечатков пальцев клеток (от 1800 до 900 cm^{-1}), что затрудняет дифференциацию каких-либо тонких, но значимых различий (таблица). Эти сходства объясняются доминирующим вкладом белковых компонентов. Однако при ближайшем рассмотрении заметные различия предварительно обнаруживаются в ИК-спектрах в областях 1050–1000 cm^{-1} (углеводы и коллаген), 1300–1150 cm^{-1} (амид III и $\nu_{\text{as}}\text{PO}_2^-$), 1760–1700 cm^{-1} (липиды, ДНК/РНК и амид I), 950–850 cm^{-1} (белок, тирозин и коллаген), 1265–1240 cm^{-1} (амид III) и 1600–1530 cm^{-1} (аминокислоты и ДНК/РНК).

На рис. 2–4 показаны усредненные спектры тканей головного мозга свиньи, тканей глиобластомы, олигодендроглиомы, астроцитомы и их разностные спектры.

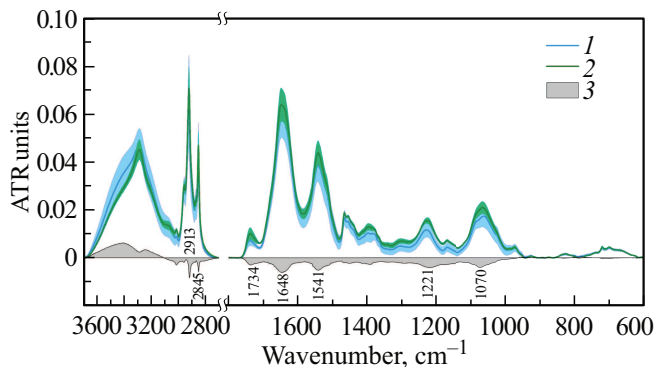


Рис. 1. Усредненные ИК-спектры со стандартным отклонением группы условно здоровой ткани головного мозга доноров (1) и свиного мозга (2), а также их разностный спектр (3).

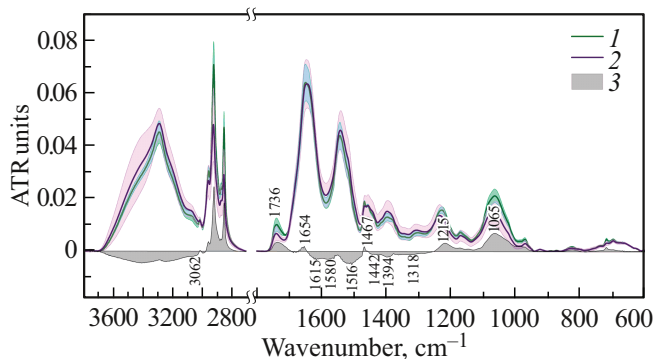


Рис. 2. Усредненные ИК-спектры со стандартным отклонением тканей свиного головного мозга (1) и тканей глиобластомы (2), а также их спектр вычитания (3).

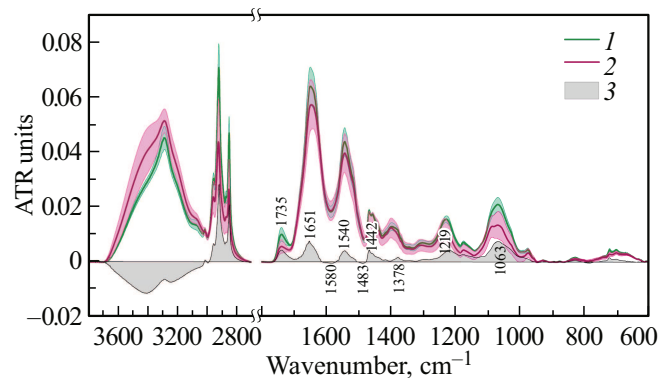


Рис. 3. Усредненные ИК-спектры со стандартным отклонением тканей свиного головного мозга (1) и тканей олигодендроглиомы (2), а также их разностный спектр (3).

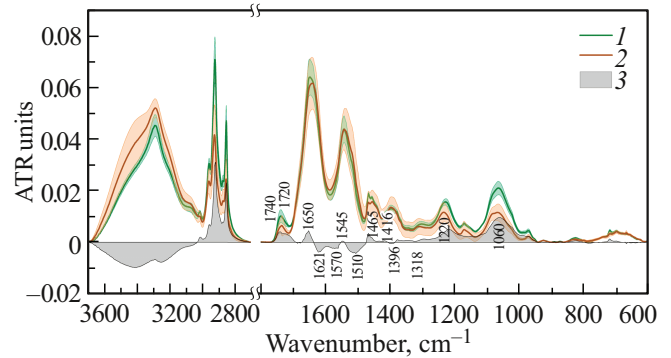


Рис. 4. Усредненные ИК-спектры со стандартным отклонением тканей свиного головного мозга (1) и тканей астроцитомы (2), а также их разностный спектр (3).

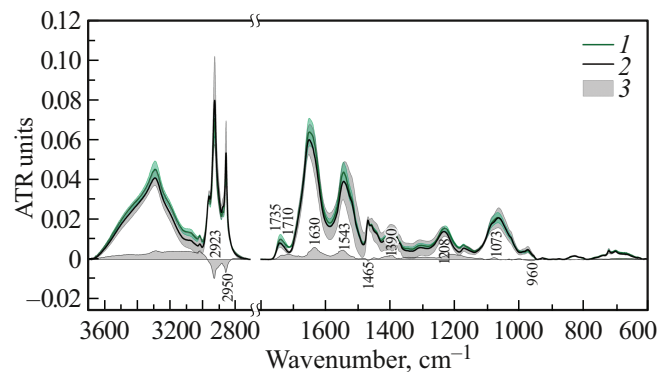


Рис. 5. Усредненные ИК-спектры со стандартным отклонением ткани свиного головного мозга (1) и тканей эпилептической лейкоэнцефалопатии (2), а также их разностный спектр (3).

Из рис. 2–4 видно, что в здоровой ткани мозга свиньи большее содержание липидов (поглощение на волновых числах 3010, 2950, 2920, 2850 cm^{-1} групп CH_2 , CH_3 , $=\text{C}-\text{H}$, и 1735 cm^{-1} группы $\text{C}=\text{O}$ в липидах) и углеводов (1063 cm^{-1} — растяжение связи $\text{C}-\text{O}$ в рибозе). Кроме того, в спектре здоровой ткани мозга

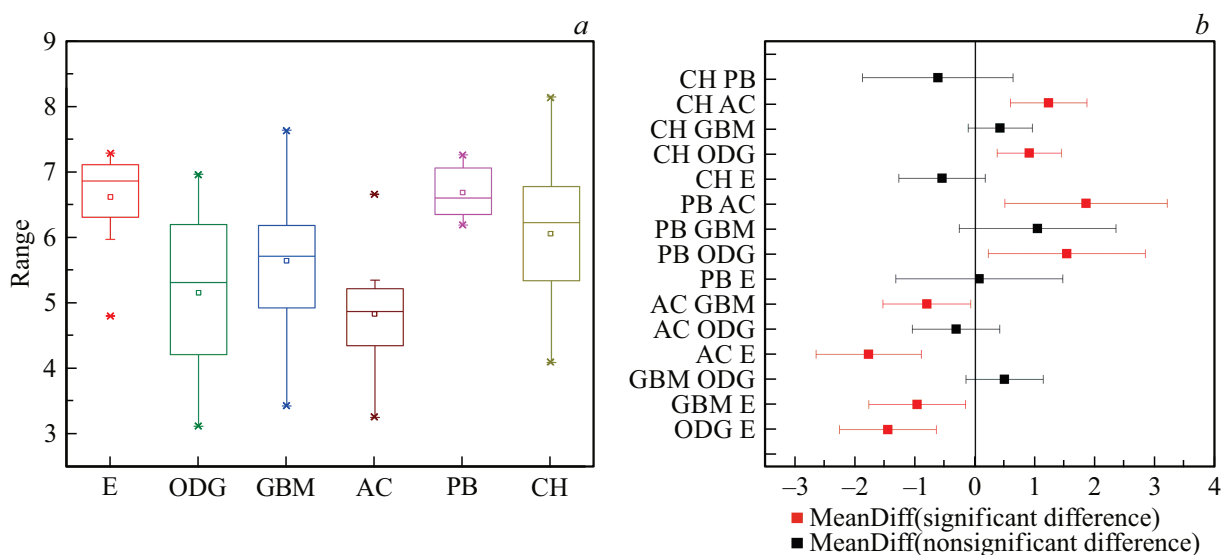


Рис. 6. Результат дисперсионного анализа в липидном диапазоне ИК-спектра (3000–2800 cm^{-1}).

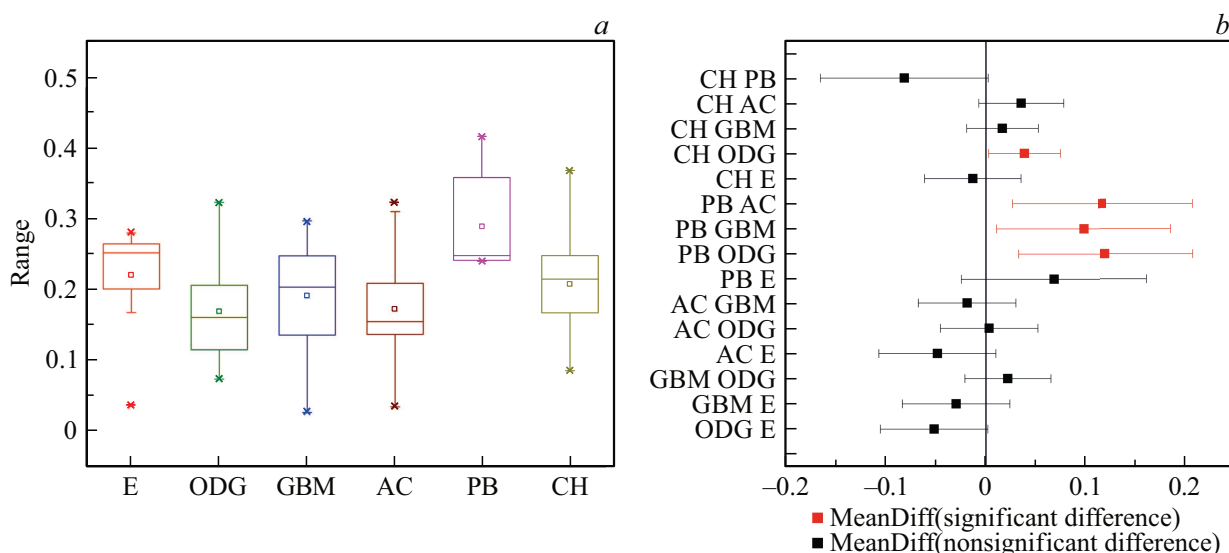


Рис. 7. Результат дисперсионного анализа в липидном диапазоне ИК-спектра (1800–1710 cm^{-1}).

свиньи большее содержание альфа-спиральных белков, о чем свидетельствует большее поглощение на волновом числе 1651 cm^{-1} . Ткани глиобластомы (рис. 2) отличает большее поглощение на волновых числах 1615 (бета-структурные агрегаты белков), 1580, 1516 (деформационные колебания C–H вне плоскости), 1442 (асимметричная деформация метильной группы), 1394, 1318 cm^{-1} .

В усредненном спектре олигодендроглиомы (рис. 3) по сравнению с глиобластомой меньше количество альфа-спиральных белков, т.е. повышенное количество белков с бета-структурными конформациями.

Для тканей астроцитомы (рис. 4) характерно еще более увеличенное количество бета-структурных белков (1621 cm^{-1} , эта же полоса поглощения отвечает ды-

ханию кольца в нуклеиновых кислотах), увеличенное поглощение на 1396 (деформационные колебания групп CH_3 в белках), $1570, 1510 \text{ cm}^{-1}$.

На рис. 5 показаны различия между усредненными спектрами тканей мозга с эпилептической энцефалопатией и тканью свиного мозга. При эпилепсии наблюдается увеличенное поглощение липидных групп на волновых числах 2923 и 2850 cm^{-1} , поглощение метильной группы на 1455 cm^{-1} , поглощение группы CH_3 белков и липидов на 960 cm^{-1} .

Дисперсионный анализ тканей мозга

Чтобы однозначно ответить, являются ли найденные различия между усредненными спектрами различных

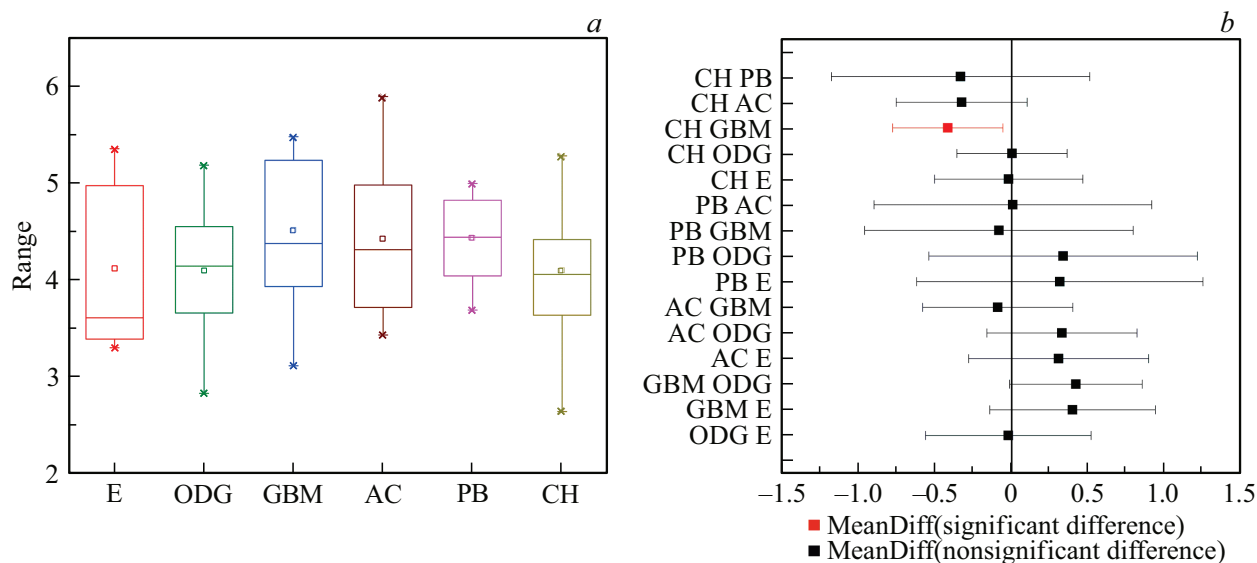


Рис. 8. Результат дисперсионного анализа в области поглощения Амид I ($1710\text{--}1600\text{ cm}^{-1}$).

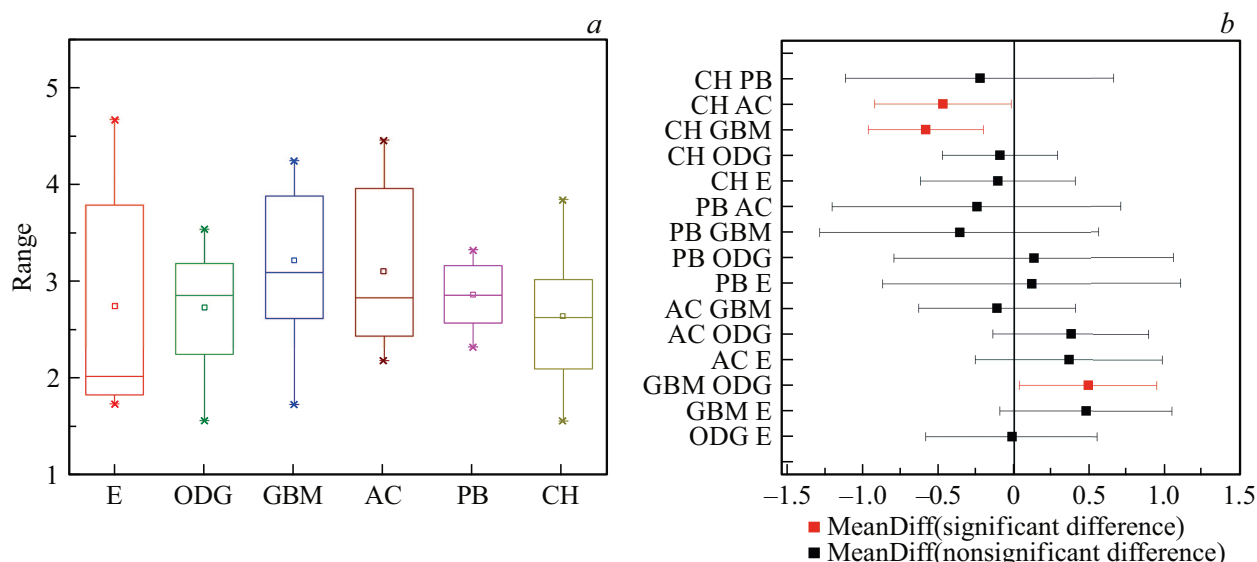


Рис. 9. Результат дисперсионного анализа в области поглощения Амид II ($1600\text{--}1500\text{ cm}^{-1}$).

групп тканей статистически значимыми, был проведен дисперсионный анализ (ANOVA). Для дисперсионного анализа у каждого спектра были рассчитаны площади под биохимически значимыми участками. Было выделено шесть таких участков: липидная область 1 — диапазон $3100\text{--}2700\text{ cm}^{-1}$, т.е. полосы поглощения групп $\text{C}=\text{H}$, CH_2 и CH_3 в липидах; липидная область 2 — диапазон $1770\text{--}1710\text{ cm}^{-1}$, т.е. полосы поглощения группы $\text{C}=\text{O}$ в липидах и фосфолипидах; Амид I — диапазон $1710\text{--}1580\text{ cm}^{-1}$, т.е. поглощение белковых групп $\text{C}=\text{O}$ в амидных группах; Амид II — диапазон $1580\text{--}1470\text{ cm}^{-1}$, т.е. поглощение белковых групп $\text{N}-\text{H}$ в амидных группах; область поглощения ДНК/РНК — диапазон $1270\text{--}1130\text{ cm}^{-1}$, т.е. поглощение фосфатных

групп в нуклеиновых кислотах; углеводная область — диапазон $1130\text{--}955\text{ cm}^{-1}$, т.е. поглощение углеводов.

Дисперсионный анализ ANOVA — статистический метод, используемый для сравнения средних значений трёх или более групп и определения, являются ли различия между ними статистически значимыми. Он разделяет общую изменчивость данных на составляющие: вариативность между группами и вариативность внутри групп, а затем сравнивает эти компоненты с помощью критерия F — отношения дисперсии между группами к дисперсии внутри групп. Результаты дисперсионного анализа сравнения шести групп (E — эпилепсия, ODG — олигодендроглиома, GBM — глиобластома, AC — астроцитомы, PB — ткани свиного мозга,

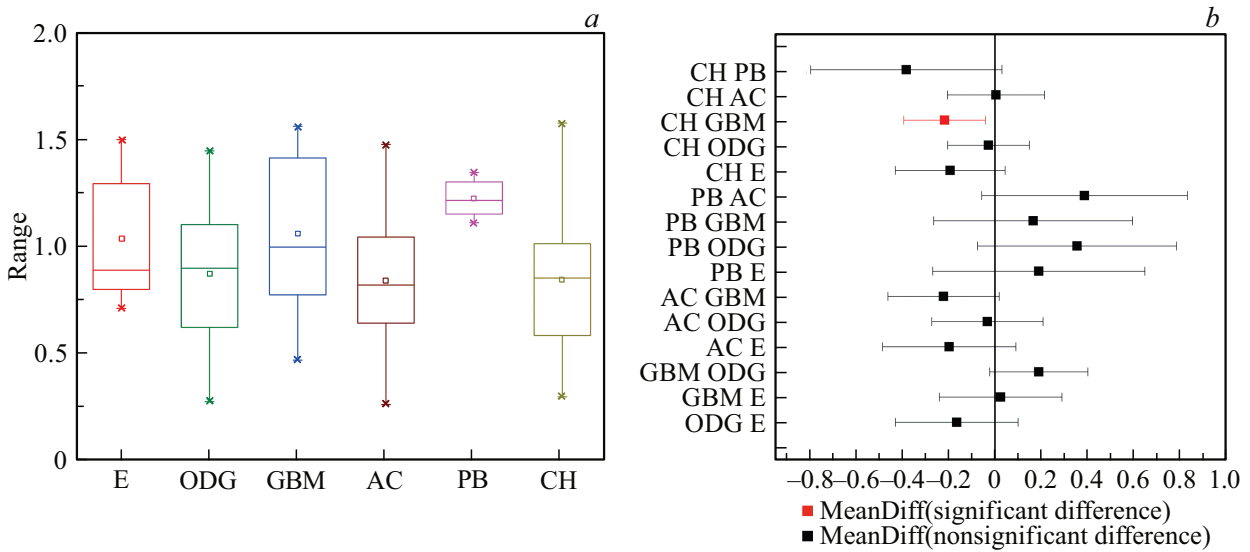


Рис. 10. Результат дисперсионного анализа области поглощения ДНК/РНК (1270–1130 cm^{-1}).

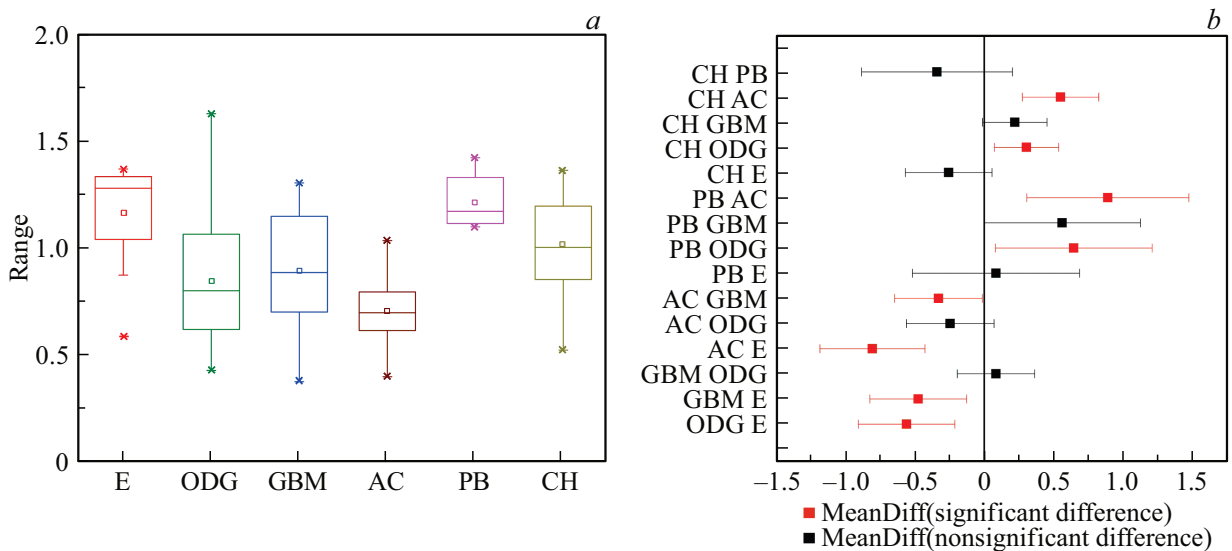


Рис. 11. Результат дисперсионного анализа в области поглощения углеводов (1130–955 cm^{-1}).

СН — условно здоровые ткани прифронтальной зоны (ПФЗ) головного мозга донора) по шести площадям под спектрами представлены на рис. 6–11. На рисунках показаны сравнения средних попарно между указанными шестью группами. Красным цветом на графиках показаны те пары, у которых различия между значениями площадей имеют значимое различие. Так, например, из рисунков видно, что условно здоровая ткань ПФЗ не имеет значимых различий с тканью свиного мозга ни в одной из выделенных областей спектра, значит, спектры тканей мозга свиньи можно использовать в качестве контрольной группы.

Из рис. 6 видно, что группы астроцитомы, олигодендроглиомы значительно отличаются от тканей мозга свиньи в углеводной части спектра. Кроме того, группа астро-

цитомы в этой же части спектра значительно отличается от глиобластомы и эпилептической энцефалопатии, как и группа глиобластомы и олигодендроглиомы.

Рисунок 7 демонстрирует значимые различия между тканями свиного мозга и группами глиобластомы, олигодендроглиомы и эпилепсии в области поглощения группы C=O в липидах и фосфолипидях.

Белковая область спектра не является чувствительной областью для дифференциации опухолевых тканей (рис. 8 и 9), однако в этой области значительно различаются группы глиобластомы и олигодендроглиомы, тогда как в липидных областях спектра они были неразличимы. Это значит, что основное различие между этими типами опухолей определяется либо различным составом белков, либо различной структурой белков.

Основные диапазоны спектров каждого из четырех типов опухоли головного мозга с предварительными биологическими отнесениями [16]

Волновое число, cm^{-1}	Биологические компоненты	Колебательные моды
1012	Углеводы	Валентные колебания C—O
1030	Гликоген	Валентные колебания C—O и C—C, деформационные колебания C—OH
1045	ДНК и РНК	Валентные асимметричные колебания PO_2^-
1050	углеводы/гликоген	Валентные колебания C—O—C
1050–1100	ДНК и РНК	S Валентные симметричные колебания PO_2^-
1240–1310	Амид III белков	Деформационные колебания N—H и валентные колебания C—N
1245	Фосфодиэфиры	Валентные асимметричные колебания PO_2^-
1340	Фосфолипиды	Деформационные колебания CH_2
1400	Липиды/Белки	Деформационные колебания CH_3
1470	Липиды	Деформационные колебания CH_2
1500–1600	Амид II белков	Деформационные колебания N—H, валентные колебания C—N
1600–1700	Амид I белков	Валентные колебания C=O и C—N, деформационные колебания N—H
1750	Липиды	Валентные колебания C=O

Как показывает рис. 10, в области поглощения ДНК/РНК значимых различий между спектрами групп не наблюдается. Область поглощения углеводов (рис. 11) показывает значимые различия спектров мозга свиньи со спектрами астроцитомы и олигодендроглиомы. Также эта область показывает значимые различия между астроцитомой и глиобластомой, а также значимые различия трех рассматриваемых опухолей с эпилептической энцефалопатией.

Заключение

В этом исследовании мы оценили ткани пациентов с различными опухолями головного мозга, сравнивая и противопоставляя их спектральные сигнатуры друг другу, а также спектрам тканей головного мозга свиньи. Как показал дисперсионный анализ, различные группы опухолевых тканей можно различить по их ИК-спектрам. Группа глиобластомы, астроцитомы и олигодендроглиомы значимо отличается площадями под ИК-спектром в области липидов и углеводов. Группа астроцитомы значимо отличается от группы глиобластомы также в области поглощения липидов и углеводов, а глиобластому от олигодендроглиомы можно отличить в области поглощения Амид II.

Продемонстрировано, что исследование ткани мозга человека с помощью фурье-ИК-спектроскопии позволяет отдифференцировать нормальную ткань от опухолей головного мозга. К важным молекулярным изменениям, которые позволяют дифференцировать различные типы глиальных опухолей, относятся изменения поглощения в липидной и белковой областях спектра, а также углеводной области ИК-спектра. Определенные соотношения могут быть использованы в качестве спектрального биомаркера для диагностики первичных опухолей головного мозга с помощью ИК-спектроскопии. Требуется дальнейшая проверка этого подхода с использованием методов биоспектроскопии с соответствующей архитектурой данных с использованием нового расширенного набора образцов.

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

- [1] А.В. Карташев, Ю.Н. Виноградова, Т.Н. Бочкарева, Д.М. Ростовцев. Медицина. Социология. Философия. Прикладные исследования, 5, 15 (2023).

- [2] D. Capper, F. Sahn, C. Hartmann, R. Meyermann, A. von Deimling, J. Schittenhelm. *Am. J. Surg. Pathol.*, **34** (8), 1199 (2010). DOI: 10.1097/PAS.0b013e3181e7740d
- [3] W.C. Allsbrook, K.A. Mangold, M.H. Johnson, R.B. Lane, C.G. Lane, J.I. Epstein. *Hum. Pathol.*, **32** (1), 81 (2001). DOI: 10.1053/hupa.2001.21135
- [4] R.K. Dukor. *Handbook of Vibrational Spectroscopy* (New York, 2002), p. 3335–3361.
- [5] V. Garzarelli, F. Ferrara, E. Primiceri, M. Serena Chiriaco. *MethodsX*, **17** (9), 101759 (2022). DOI: 10.1016/j.mex.2022.101759
- [6] T. Lilo, C.L.M. Morais, K.M. Ashton, A. Pardilho, C. Davis, T.P. Dawson, N. Gurusinghe, F.L. Martin. *Anal Bioanal Chem.*, **412**, 1077 (2020). DOI: 10.1007/s00216-019-02332-w
- [7] C. Krafft, L. Shapoval, S.B. Sobottka, G. Schackert, R. Salzer. *Technol. Cancer Res. Treat.*, **5** (3), 291 (2006). DOI: 10.1177/153303460600500311
- [8] G. Steiner, A. Shaw, L.-P. Choo-Smith, M.H. Abuid, G. Schackert, S. Sobottka, W. Steller, R. Salzer, H.H. Mantsch. *Biopolymers*, **72** (6), 464 (2003). DOI: 10.1002/bip.10487
- [9] F.L. Martin. *Nat. Methods*, **8** (5), 385 (2011). DOI: 10.1038/nmeth.1594
- [10] D.C. Fernandez, R. Bhargava, S.M. Hewitt, I.W. Levin. *Nat. Biotechnol.*, **23** (4), 469 (2005). DOI: 10.1038/nbt1080
- [11] 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** (4), 1437 (2011). DOI: 10.1021/pr101067u
- [12] F.L. Martin, J.G. Kelly, V. Llabjani, P.L. Martin-Hirsch, I.I. Patel, J. Trevisan, N.J. Fullwood, M.J. Walsh. *Nat. Protoc.*, **5** (11), 1748 (2020). DOI: 10.1038/nprot.2010.133
- [13] M. Kirsch, G. Schackert, R. Salzer, C. Krafft. *Anal. Bioanal. Chem.*, **398** (4), 1707 (2010). DOI: 10.1007/s00216-010-4116-7
- [14] C. Beleites, K. Geiger, M. Kirsch, S.B. Sobottka, G. Schackert, R. Salzer. *Anal. Bioanal. Chem.*, **400**(9), 2801 (2011). DOI: 10.1007/s00216-011-4985-4
- [15] G. Simchick, A. Shen, B. Campbell, H.J. Park, F.D. West, Q. Zhao. *Brain connectivity*, **9** (7), 566 (2019). DOI: 10.1089/brain.2019.0673
- [16] T. Lilo, C.L.M. Morais, C. Shenton, A. Ray, N. Gurusinghe. *Photodiag. Photodyn. Therapy*, **38**, 102785 (2022). DOI: 10.1016/j.pdpdt.2022.102785