20

Применение терагерцовой спектроскопии высокого разрешения для исследования химического состава продуктов термического разложения тканей раковых опухолей мочевого пузыря

© В.Л. Вакс[1,2], В.А. Анфертьев[1], Е.Г. Домрачева[1,2], М.Б. Черняева[1,2], В.А. Атдуев[3,4], К.А. Атдуев[3], А.С. Черняева[1]

[1] ИФМ РАН,
Нижний Новгород, Россия
[2] ННГУ им. Н.И. Лобачевского,
Нижний Новгород, Россия
[3] ФБУЗ ПОМЦ ФМБА,
Нижний Новгород, Россия
[4] ФГБОУ ВО „ПИМУ“,
Нижний Новгород, Россия
e-mail: elena@ipm.sci-nnov.ru

Поступила в редакцию 31.10.2025 г.
В окончательной редакции 17.11.2025 г.
Принята к публикации 25.11.2025 г.

В связи с необходимостью выявления онкологических заболеваний на более ранних стадиях, когда проведение своевременного оперативного или терапевтического лечения повышает вероятность выживаемости пациентов, актуальными являются поиск и разработка эффективных диагностических и терапевтических стратегий. Подходы на основе метаболомики имеют потенциал для выявления наборов метаболитов-маркеров онкологических заболеваний, что актуально для раннего распознавания рака. Одним из трудно выявляемых в современных условиях на ранних стадиях видов рака является уротелиальный рак, для выявления которого на ранних стадиях метаболический подход является перспективным. Работа посвящена изучению химического состава продуктов термического разложения первичных метаболитов для тканей опухолей мочевого пузыря, проведенному впервые с использованием методов ТГц-спектроскопии высокого разрешения.

Ключевые слова: рак мочевого пузыря, биологическая ткань, продукты термического разложения, метаболиты, терагерцовая спектроскопия высокого разрешения.

DOI: 10.21883/0000000000

Введение

Рак мочевого пузыря (РМП) занимает существенное место в структуре онкоурологической заболеваемости, характеризуясь высоким потенциалом к местным рецидивам и прогрессированию. Ведущим этиологическим фактором данного заболевания является курение, связанное с воздействием ароматических аминов и полициклических углеводородов табачного дыма [1]. Существенную роль также играет работа в красильной, резиновой, нефтяной и других отраслях промышленности, связанная с контактом с ароматическими аминами [2]. Среди прочих установленных факторов риска выделяют потребление воды с высоким содержанием мышьяка или побочных продуктов хлорирования [3], прием некоторых лекарственных препаратов (циклофосфамид [4], пиоглитазон [5]), перенесенная лучевая терапия на область малого таза [6], шистосоматоз, хронический цистит [7].

Как и для всех злокачественных новообразований, дальнейший прогноз пациентов с раком мочевого пузыря напрямую зависит от стадии на момент установки диагноза. Так, например, 5-летняя выживаемость при немышечноинвазивных формах РМП (pTa, pT1, pTis) превышает 90% [8], а при метастатическом РМП этот показатель падает до 10% и ниже [9]. Современным стандартом первичной диагностики РМП является цистоскопия с дальнейшим проведением прицельной биопсии или трансуретральной резекции [10]. Несмотря на высокую точность, данные методики инвазивны, сопряжены с дискомфортом для пациента и риском инфекционных осложнений. Цитологическое исследование мочи обладает крайне низкой чувствительностью для выявления опухолей с низким злокачественным потенциалом (G1–G2). [11]. Многочисленные неинвазивные мочевые тесты (BTA, NMP22, UroVysion FISH и др.), несмотря на одобрение для клинического применения, не обладают достаточной диагностической точностью, особенно для выявления ранних стадий РМП. Их широкому внедрению препятствует в первую очередь недостаточная специфичность, ведущая к ложноположительным результатам на фоне воспалительных процессов и других неопухолевых состояний [12]. РМП также может быть диагностирован с помощью ультразвукового иссле-

дования и методов визуализации, таких как компьютерная томография (КТ) или внутривенная пиелограмма, а также рентгенограммы (при съемках с контрастом) для получения детальных изображений [4,13]. Однако все эти методы также имеют недостаточную специфичность.

В связи с этим разработка новых, высокоточных и неинвазивных диагностических методов, способных повысить выявляемость РМП на самых ранних стадиях, остается достаточно актуальной проблемой.

В этом контексте одним из наиболее многообещающих направлений является метаболомика. Злокачественная трансформация нормальной клетки в опухолевую сопровождается перестройкой ее метаболизма (феномен Варбурга, изменения в биосинтезе нуклеотидов, липидов и аминокислот) [14], что находит отражение в качественном и количественном составе метаболитов (метаболоме) как в самой опухолевой ткани, так и в биологических жидкостях организма [13]. Таким образом, метаболический профиль становится так называемым „отпечатком" того или иного патологического процесса, обладающим потенциально большой диагностической ценностью.

Исследования метаболома человека и его биологических составляющих позволили создать постоянно пополняющуюся базу метаболитов человека Human Metabolome Database [15]. Поскольку моча является одним из легкодоступных объектов исследования, информативно отражающим изменения состояния организма, изучению ее метаболического состава в мире уделяется большое внимание. Создана база данных специфических летучих веществ мочи, содержащая 841 соединение из 80 химических классов, некоторые из которых возникают при ряде онкологических заболеваний [16].

Метаболому РМП, включая метаболомы как жидкостей (мочи и сыворотки крови), клеточных линий, так и тканей опухоли, посвящен ряд обзоров, например [17], в котором суммарно по выбранным 25 работам был представлен список из 1031 изменённого метаболита, связанного с диагностикой и стадированием РМП, выявленных в образцах тканей человека или мышей. В исследовании [18], использовавшем высокоразрешающую жидкостную хроматографию в сочетании с масс-спектрометрией (ЖХ–МС) и биоинформатический анализ для определения глобального метаболома и липидома 25 образцов тканей РМП, было обнаружено, что 533 метаболита были изменены РМП при низкой и высокой стадии. В целом изменённые метаболиты включали, среди прочего, нуклеотиды, полиамины, простагландины и карнитины, в то время как изменённые липиды включали семь отдельных классов липидов, а именно кардиолипин, фосфатидилхолин, фосфатидилэтаноламин, фосфатидилинозитол, плазменил-фосфатидилэтаноламин, фосфатидилсерин и триглицериды.

В ИФМ РАН развиты подходы на основе газовой спектроскопии на нестационарных эффектах терагерцового (ТГц) частотного диапазона, обладающей высокой разрешающей способностью и чувствительностью одновременно, для качественного выявления состава продуктов термического разложения биологических тканей и жидкостей [19,20]. Анализ результатов спектроскопических измерений позволяет получить важную информацию о различиях химического состава продуктов термического разложения здоровых и патологически измененных тканей, т. е. продуктов распада крупных биологических молекул при нагреве.

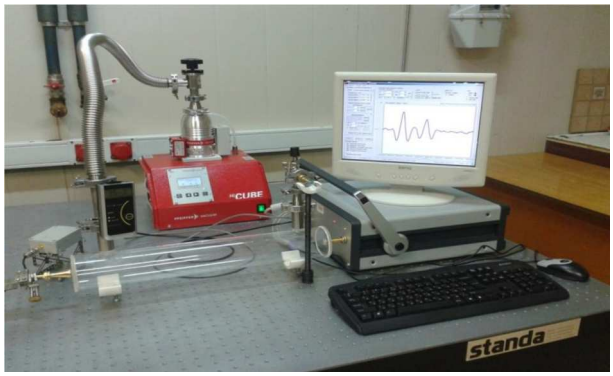

Рис. 1. Фотография экспериментальной установки на основе ТГц газового нестационарного спектрометра (118–178 GHz) [21,22].

Целью настоящей работы являются пилотные исследования химического состава продуктов термического разложения первичных метаболитов для тканей опухолей мочевого пузыря с помощью ТГц спектроскопии высокого разрешения.

Материалы и методы

Измерения спектров исследуемых многокомпонентных газовых смесей проводились с использованием разработанного авторами ТГц нестационарного спектрометра высокого разрешения [21]. В результате взаимодействия фазоманипулированного (ФМ) излучения с резонансно поглощающими молекулами газа происходит периодический процесс наведения и распада макроскопической поляризации молекул. Возникающие в результате этого переходные сигналы регистрируются и накапливаются в приемной части спектрометра. По величине и форме этих сигналов с высокой точностью производится определение концентрации исследуемых компонент газовой смеси. В спектрометре используется система фазовой автоподстройки частоты (ФАПЧ) для автоматического контроля частоты лампы обратной волны (ЛОВ) и фазового сдвига. Сигнал переходного процесса регистрируется во временной области, происходит его усреднение и компьютерная обработка сигнала. В спектрометре могут быть реализованы два режима работы: измерения на фиксированной частоте и сканирующий режим. Анализ регистрируемых сигналов может проводиться не только во временной, но и в частотной области после применения преобразования

Таблица 1. Характеристики из протоколов пациентов

Номер образца	Возраст	Стадия до операции	Стадия после операции	ВПХТ/БЦЖ /НАПХТ	Рецидив	Сопутствующие заболевания	Общий анализ мочи
47	85	cT1N0M0	pT3bN0M0	+/−/−	+	1) ГБ II ст., риск 3 2) Катаральный колит 3) Серопозитивный РА	PRO — 0.48 g/l, WBC — 15 в п/з; RBC до 100; VTC +++
48	78	cT3bN0M0	pT2bN1M0	−/−/−	−	1) ГБ II ст., риск 3	BAC +, WBC — 11 в п/з
49	65	cT3bN0M0	pT2bN1M0	−/−/−	−	1) Паховая грыжа слева 2) Хронический вирусный гепатит B	PRO — 1 g/l

Фурье к исходному сигналу. Фотография экспериментальной установки приведена на рис. 1 [21,22].

В качестве источника излучения использована пакетированная ЛОВ ОВ-87 (118–178 GHz). Мощность выходного сигнала ЛОВ достигает значения десятков милливатт. После неизбежных потерь в волноводных узлах мощность выходного сигнала все равно будет превышать 10 mW. Питание ЛОВ осуществляется тремя высокостабильными источниками питания постоянного тока — катода, сетки и накала, обладающими малым уровнем помех и шумов (не более нескольких милливольт), имеет цепь защиты от короткого замыкания и пробоя по высокому напряжению. Напряжение питания катода определяет частоту выходного излучения и для заданного диапазона частот должно лежать в пределах 700–1600 V. Напряжения питания сетки и накала фиксированы и равны 200 и 1 V соответственно.

В приборе используется 3-петлевая система синтеза частот. Первая петля — это формирующий крупную сетку частот $F_{оп}$ микроволновый синтезатор частоты. Вторая петля — это цифровой синтезатор промежуточной частоты $F_{пч}$, формирующий мелкую сетку частот. И третья петля — система ФАПЧ ЛОВ, включающая в себя ЛОВ, направленный ответвитель, гармонический смеситель, усилитель промежуточной частоты (УПЧ) и частотно-фазовый детектор (ЧФД). В третьей петле происходит умножение и смешивание выходных частот, формируемых первыми двумя петлями. Частота на выходе ЛОВ $F_{лов} = NF_{оп} - F_{пч}$, где N — номер гармоники сигнала опорного синтезатора частот, $F_{оп}$ – частота опорного синтезатора, $F_{пч}$ — частота синтезатора ПЧ. Минимальный шаг частоты на выходе источника излучения определяется минимальным шагом частоты синтезатора ПЧ. Оба синтезатора имеют единый опорный сигнал 10 MHz. Чтобы обеспечить фазовую манипуляцию ФМ частоты на выходе ЛОВ во всем диапазоне частот, в приборе используется фазовая манипуляция сигнала синтезатора ПЧ и широкополосная ФАПЧ, которая позволяет передать ФМ без искажений от синтезатора ПЧ до выхода ЛОВ. Система фазовой автоподстройки частоты ЛОВ включает в себя направленный ответвитель, гармонический смеситель, малошумящий

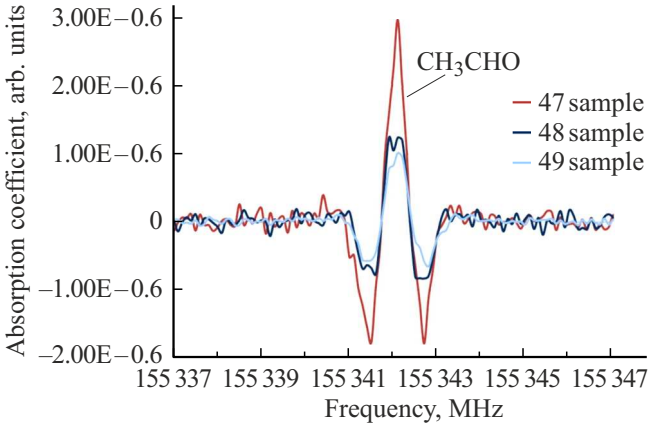

Рис. 2. Линия ацетальдегида (CH_3CHO), записанная в смесях продуктов терморазложения для трех образцов тканей раковых опухолей мочевого пузыря на частоте 155342.0881 MHz [23,24].

УПЧ, частотно-фазовый детектор и ферритовый вентиль. Полоса управления ФАПЧ в режиме синхронизма должна быть не менее 2.5 MHz во всем диапазоне частот ЛОВ, чтобы передать без искажений ФМ синтезатора ПЧ на выход ЛОВ.

Приемная часть прибора состоит из амплитудного детектора, видеоусилителя и широкополосного АЦП.

Объектом изучения были образцы тканей злокачественных опухолей мочевого пузыря, полученных при хирургическом удалении опухоли, с проведенным при этом гистологическим исследованием. Данные по исследуемым образцам приведены в табл. 1 (где использованы обозначения: ВПХТ — внутрипузырная химиотерапия, БЦЖ — БЦЖ (от Бацилла Кальмета–Герена) терапия, НАПХТ — неоадъювантная полихимиотерапия, ГБ — гипертоническая болезнь, РА — ревматоидный артрит, стандартные показатели общего анализа мочи: PRO – белок, WBC — лейкоциты, RBC — эритроциты, BAC – бактерии).

Методика исследования состава газовых смесей продуктов термического разложения биологических тканей, включая пробоподготовку образцов, была разработа-

Таблица 2. Химический состав паров и продуктов термического разложения образцов раковых опухолей мочевого пузыря

Химические соединения	Количество линий поглощения в спектре образца, шт.		
	Номер образца		
	49	48	47
Ацетон с изотопологами	4	3	2
Гидроксиацетон	7	2	5
Дигидроксиацетон	6	0	5
Уксусная кислота	61	26	25
Изоциановая кислота с изотопологами	19	10	9
Метанол	21	8	9
Пропандиол-1,2	11	7	6
Пропандиол-1,3	9	4	4
Аланинол	4	0	3
Глицерин	5	2	5
Диэтиловый эфир	3	0	4
Ацетальдегид с изотопологом	89	55	64
Пропаналь	3	0	4
Бензальдегид	2	4	7
Гликольальдегид с изотопологом	2	4	4
Малоновый диальдегид	4	3	4
Лактальдегид	4	2	2
Ацетонитрил	11	6	10
Пропионитрил с изотопологами	25	5	21
Бутиронитрил с изотопологами	11	5	13
Пентаннитрил	11	4	12
Бензонитрил	4	1	5
Метилбутиронитрил с изомером	9	3	10
3,4-пентадиеннитрил с изомером	7	6	5
2,4-пентадиеннитрил с изомером	4	2	4
Аминопропионитрил с изомером	4	3	3
Акрилонитрил с изотопологом	3	3	5
Метилмеркаптан с изотопологом	43	51	58
Аланин	3	3	7
Мочевина	10	5	7
Этиленгликоль	5	3	3
Глицинамид	4	3	3
Гликольамид	4	3	3
Акриламид	4	3	2
Пиридин	5	1	7
Пиррол	16	2	16
Цианоэтинилбензол	2	6	3
Сероокись углерода с изотопологом	14	13	17
Диоксид серы с изотопологом	23	10	12

на авторами ранее и неоднократно описана, например в [19]. Суть подхода состоит в нагреве исследуемого образца ткани до температуры свыше 200°C и напуске смеси продуктов термического разложения в измерительную ячейку (кварцевую, длиной 1 m, предварительно вакуумированную) до рабочего давления около 5×10^{-2}mbar. После напуска прописывался спектр, который сохраняется в компьютере спектрометра. Затем проводится анализ спектра: выявление линий поглощения, их идентификация с использованием спектроскопических баз данных [23,24], а также подсчет линий поглощения для каждого химического соединения для качественной оценки содержания данного соединения в смеси.

Результаты

В табл. 2 приведены обобщенные результаты по химическому составу паров и продуктов термического разложения образцов раковых опухолей мочевого пузыря.

В спектрах всех образцов опухолевых тканей идентифицированы такие химические соединения, как органические кислоты (уксусная кислота, изоциановая кислота с изотопологом), спирты (метанол, два изомера пропандиола), альдегиды (ацетальдегид, гликольальдегид, малоновый диальдегид), нитрилы (ацетонитрил, пентадиеннитрил с изомерами, аминопропионитрил с изомером), серосодержащие вещества (метилмеркаптан, сероокись углерода с изотопологом, диоксид серы), ряд органических соединений (мочевина, этиленгликоль, глицинамид, гликольамид, акриламид). Относительное содержание этих веществ сравнимо для всех трех образцов. Кроме того, следует отметить, что в спектрах двух образцов отмечено значительное превышение количества линий поглощения в спектрах по сравнению с третьим образцом для таких веществ, как пропионитрил и бутиронитрил с изотопологами, пентаннитрил, метилбутиронитрил с изомером, пиридин и пиррол.

Примеры характерных линий поглощения ацетальдегида (CH_3CHO) и уксусной кислоты (CH_3COOH), записанных в смесях продуктов терморазложения для трех образцов тканей раковых опухолей мочевого пузыря приведены на рис. 2 и 3 соответственно. Инструментальная обработка при проведении нестационарных измерений линии поглощения приводит к тому, что экспериментально записанная линия имеет вид, схожий со второй производной от формы линии Лоренца (или Фойгта) [25]. Из рис. 3 видно, что для образца 48 обе представленные для уксусной кислоты линии поглощения более слабые, что говорит о несколько меньшем ее содержании в исследуемой смеси продуктов терморазложения для данного образца.

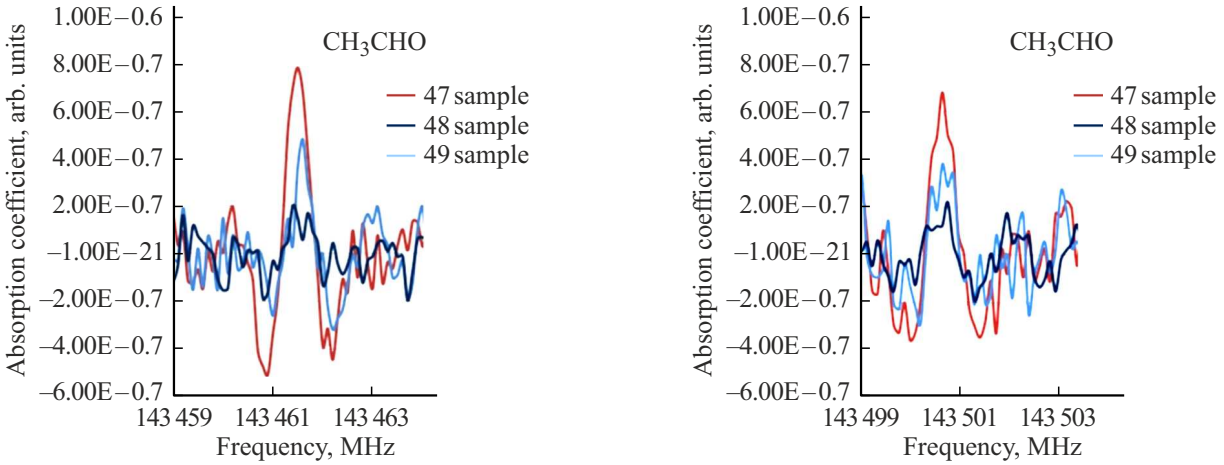

Рис. 3. Линии уксусной кислоты (CH_3COOH), записанные в смесях продуктов терморазложения для трех образцов тканей раковых опухолей мочевого пузыря на частотах 143461.5241 MHz [24] (слева) и 143500.5243 MHz [24] (справа).

Заключение

Показана потенциальная возможность применения подхода на основе ТГц спектроскопии высокого разрешения для анализа метаболического состава тканей новообразований мочевого пузыря. Выявлены вещества, появляющиеся при термическом разложении ткани опухоли. Выявлен ряд веществ (уксусная кислота, ацетальдегид и др.), появляющиеся в значительном относительном количестве при терморазложении рассматриваемых опухолей, которые могут рассматриваться как потенциальные маркеры РМП. Кроме выявления возможных биомаркеров как на генном, так и на молекулярном уровне, возникает необходимость стандартизации протоколов работы на всех этапах экспериментального исследования, сочетающей подходящий экспериментальный дизайн с передовыми методами анализа для повышения воспроизводимости.

Финансирование работы

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект 24-19-00623, https://rscf.en/project /24-19-00623/).

Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Список литературы

[1] *IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. Tobacco smoke and involuntary smoking.* IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum (International Agency for Research on Cancer, 2004), **83**, 1–143.

[2] S. Chavan, F. Bray, J. Lortet-Tieulent, M. Goodman, A. Jemal. Eur Urol., **66**, 59–73 (2014). DOI: 10.1016/j.eururo.2013.10.001

[3] M. Burger, J.W.F. Catto, G. Dalbagni, H.B. Grossman, H. Herr et al. Eur Urol., **63**, 234–241 (2013). DOI: 10.1016/j.eururo.2012.07.033

[4] C. Steinmaus, C. Ferreccio, J. Acevedo, Y. Yuan, J. Liaw et al. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev., **23**, 1529–1538 (2014). DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-14-0059

[5] M. Tuccori, K.B. Filion, H. Yin, O.H. Yu, R.W. Platt, L. Azoulay. BMJ, **352**, i1541 (2016). DOI: 10.1136/bmj.i1541

[6] K. Chrouser B. Leibovich, E. Bergstralh, H. Zincke, M. Blute, J. Urol., **174** (1), 107–110 (2005). DOI: 10.1097/01.ju.0000163459.57305.a1

[7] V.A. Moyer.Ann. Intern. Med., **155** (4), 246–51 (2011). DOI: 10.7326/0003-4819-155-4-201108160-00008

[8] M. Babjuk, M. Burger, O. Capoun, D. Cohen et al. Europ. Eur. Urol., **81** (1), 75–94 (2022). DOI: 10.1016/j.eururo.2021.08.010

[9] National Cancer Institute (NCI). SEER Cancer Stat Facts: Bladder Cancer, 2023. [Электронныйресурс]. URL: https://seer.cancer.gov/statfacts/html/urinb.html

[10] *Campbell-Walsh-Wein Urology*, 12th Edition, ed. by A.J. Wein, T.F. Colon et al. (Elsevier, 2020).

[11] F.A. Yafi F Brimo, J. Steinberg, A.G. Aprikian, S. Tanguay, W. Kassouf. Urol. Oncol., **33** (66), e25 (2015). DOI: 10.1016/j.urolonc.2014.06.008

[12] V.B. Lokeshwar, T. Habuchi, H.B. Grossman, W.M. Murphy, S.H. Hautmann et al. Urology, **66**, 35–63 (2005). DOI: 10.1016/j.urology.2005.08.064

[13] M. Ahangar, F. Mahjoubi, S.J. Mowla. Front. Oncol., **14**, 1453278 (2024). DOI: 10.3389/fonc.2024.1453278

[14] M.G. Vander Heiden, L.C. Cantley, C.B. Thompson. Science, **324** (5930), 1029–1033 (2009). DOI: 10.1126/science.1160809

[15] Human Metabolome Database [Электронный ресурс]. URL:www.hmdb.ca

[16] M. Llambrich, J. Brezmes, R. Cumeras. Biological Procedures Online, **24** (1), 20 (2022). DOI: 10.1186/s12575-022-00184-w

[17] F. Pereira, M.R. Domingues, R. Vitorino, I.M.S. Guerra, L.L. Santos, J.A. Ferreira, R. Ferreira. Int. J. Mol. Sci., **25**, 3347 (2024). DOI: 10.3390/ijms25063347

[18] V. Vantaku, J. Dong, C.R. Ambati, D. Perera, S.R. Donepudi, C.S. Amara, V. Putluri, S.S. Ravi, M.J. Robertson, D.W.B. Piyarathna et al. Clin. Cancer Res., **25**, 3689–3701 (2019). DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-1515

[19] V. Vaks, E. Domracheva, M. Chernyaeva et al. J. Biophotonics, **18** (12), e202400316 (2024). DOI: 10.1002/jbio.202400316

[20] V. Vaks, E. Domracheva, M. Chernyaeva, V. Anfertev, A. Maslennikova, V. Atduev, K. Atduev, M. Rodionov.Appl. Sci., **14**, 1955 (2024). DOI: 10.3390/app14051955

[21] В.Л. Вакс, В.А. Анфертьев, В.Ю. Балакирев, С.А. Басов, Е.Г. Домрачева, А.В. Иллюк, П.В. Куприянов, С.И. Приползин, М.Б. Черняева. УФН, **190** (7), 765–776 (2020). DOI: 10.3367/UFNr.2019.07.038613

[22] В.Л. Вакс, Е.Г. Домрачева, М.Б. Черняева, В.А. Анфертьев, А.А. Айзенштадт, А.В. Масленникова, В.А. Атдуев. *Терагерцовая фотоника (к 300-летию Российской академии наук (РАН))* (Издательство РАН, М., 2023), с. 576–632.

[23] H.M. Pickett, E.A. Cohen, B.J. Drouin, J.C. Pearson et al. *Submillimeter, Millimeter, and Microwave Spectral Line Catalog. JPL Molecular Spectroscopy* (California Institute of Technology). http://spec.jpl.nasa.gov/ftp/pub/catalog/catform.html

[24] C.P. Endres, S. Schlemmer, P. Schilke, J. Stutzki, H.S.P. Müller. J. Mol. Spectrosc., **327**, 95–104 (2016). https://cdms.astro.uni-koeln.de/cgi-bin/cdmssearch

[25] W. Gordy, R.L. Cook. *Microwave molecular spectra* (J. Wiley&Sons, N.Y., 1984).