



РАМАНОВСКАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ

Julietta V. Rau



Institute of the Structure of Matter,
Italian National Research Council,
Rome, Italy



Открытие комбинационного рассеяния света (эффект Рамана)



ЧАНДРАСЕКХАРА ВЕНКАТА РАМАН

(7 ноября 1888 г. - 21 ноября 1970 г.)

индийский физик

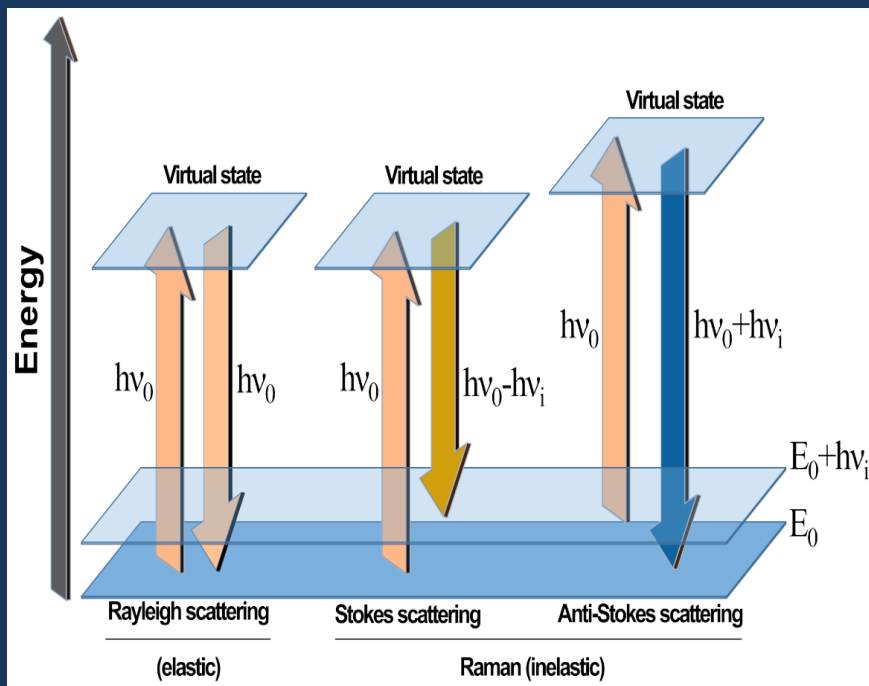
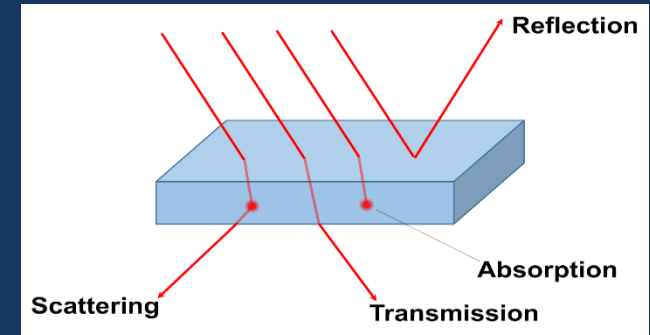
*Лауреат Нобелевской премии по физике
1930 года.*

*Формулировка Нобелевского комитета:
«За работы по рассеянию света и за
открытие эффекта, названного в его
честь».*

Рамановская спектроскопия: основные принципы

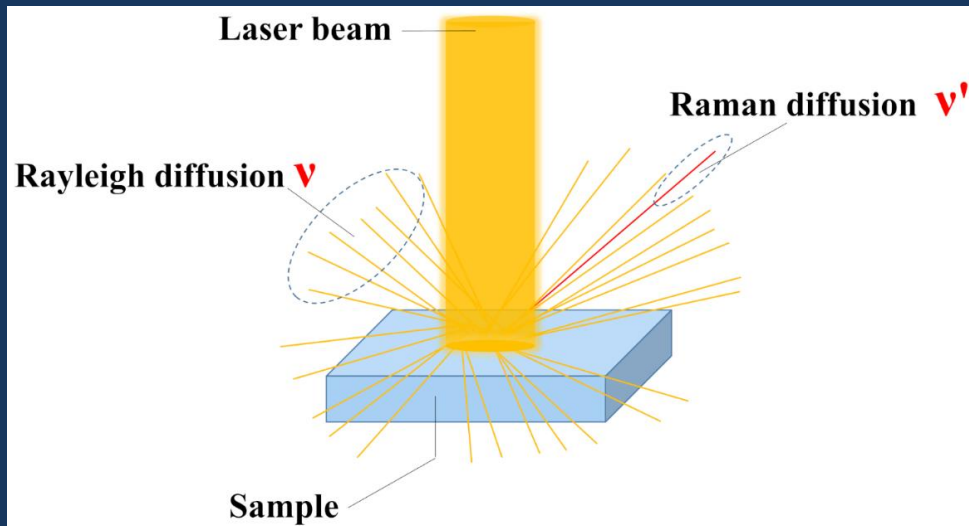
Спектроскопия - это изучение взаимодействия между электромагнитным излучением и материей

Монохроматический свет, попадающий на объект, может проходить через него, может быть адсорбирован (ИК, УФ-ВИС), отражен или рассеян (явление рассеяния).



Свет, сталкивающийся с молекулой, рассеивается/распространяется в разных направлениях. Сэр Венката Раман обнаружил, что небольшая часть рассеянного света меняет длину волны относительно источника света. Это происходит потому, что часть энергии падающих фотонов может быть передана молекуле, изменяя ее колебательный статус/энергетическое состояние. Если падающий свет рассеивается с одинаковым количеством энергии, то это явление называется Рэлеевским рассеянием или упругим рассеянием. В случае эффекта комбинационного рассеяния у рассеянного света имеется небольшой сдвиг частоты: либо потеря энергии (Стокс, наиболее распространенный случай), либо увеличение энергии (Антистокс). Этот сдвиг называется Рамановским сдвигом или Рамановским рассеянием (неупругим рассеянием). Рамановское рассеяние специфично для химических связей и может быть использовано для идентификации молекул.

Рамановская спектроскопия: основные принципы

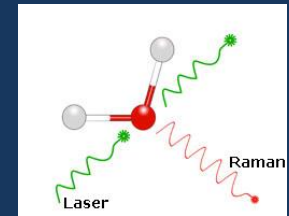
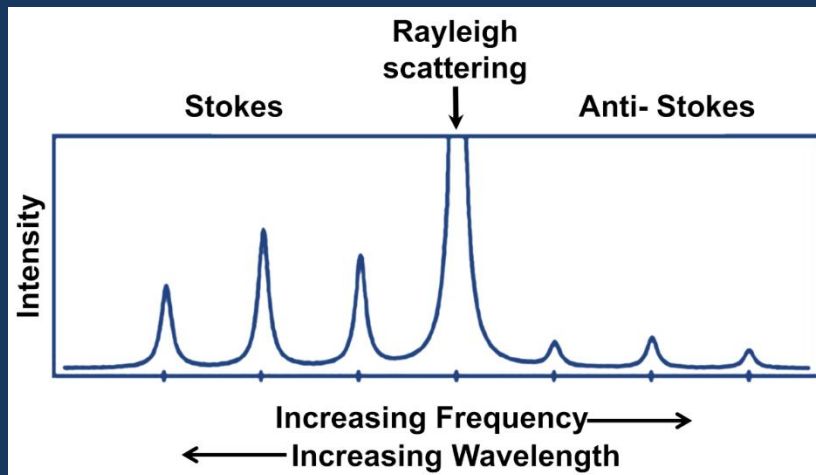


Упругая диффузия / рассеяние (Рэлеевское) - это основная часть излучения.

Неупругая диффузия / рассеяние (Раман) происходит в ограниченном числе событий 1 из 10^6

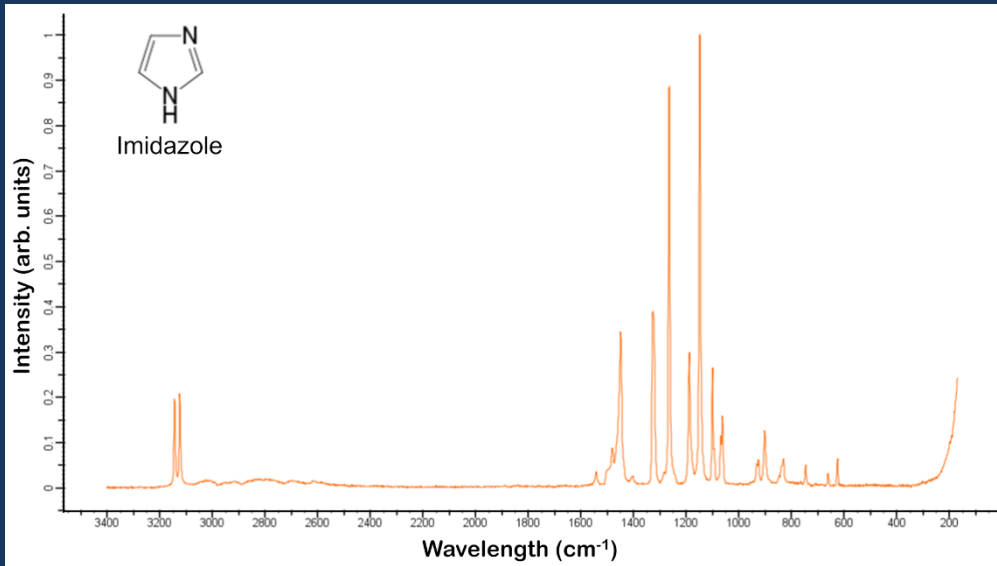
$$\nu' = \nu + \Delta\nu$$

$\Delta\nu$ – Рамановский сдвиг



$$E = h\nu = hc \frac{1}{\lambda}$$

Рамановский спектр



Source: Bio-Rad's SpectraBase

(<https://spectrabase.com>)

Ref: Bio-Rad Laboratories, Inc.

SpectraBase; SpectraBase Compound

ID=5r9V0rqgO0I SpectraBase Spectrum

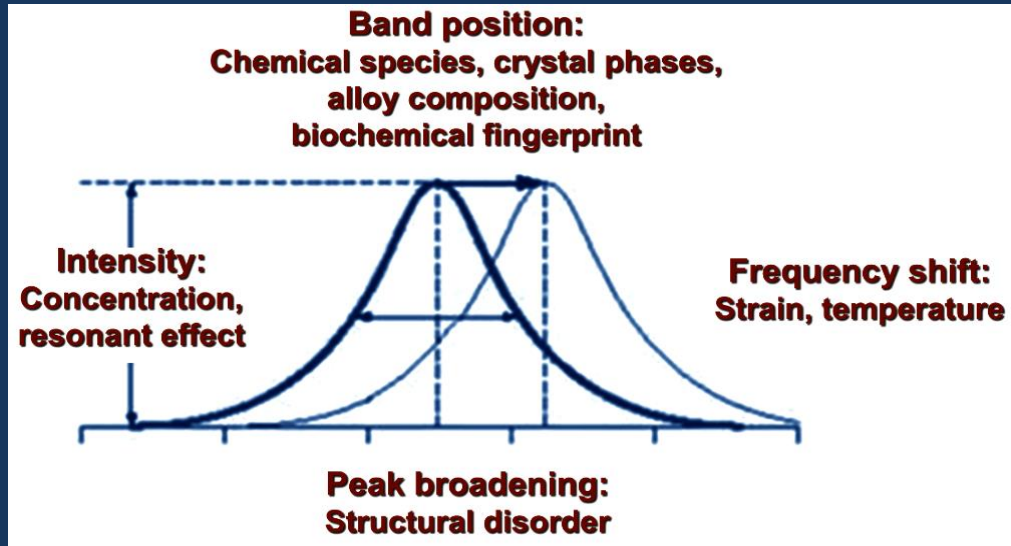
ID=3HMsCsQv0eI

[http://spectrabase.com/spectrum/3HMsCsQv0eI](http://spectrabase.com/spectrum/3HMsCsQv0eI?a=SPECTRUM_3HMsCsQv0eI)
[a=SPECTRUM_3HMsCsQv0eI](http://spectrabase.com/spectrum/3HMsCsQv0eI?a=SPECTRUM_3HMsCsQv0eI)

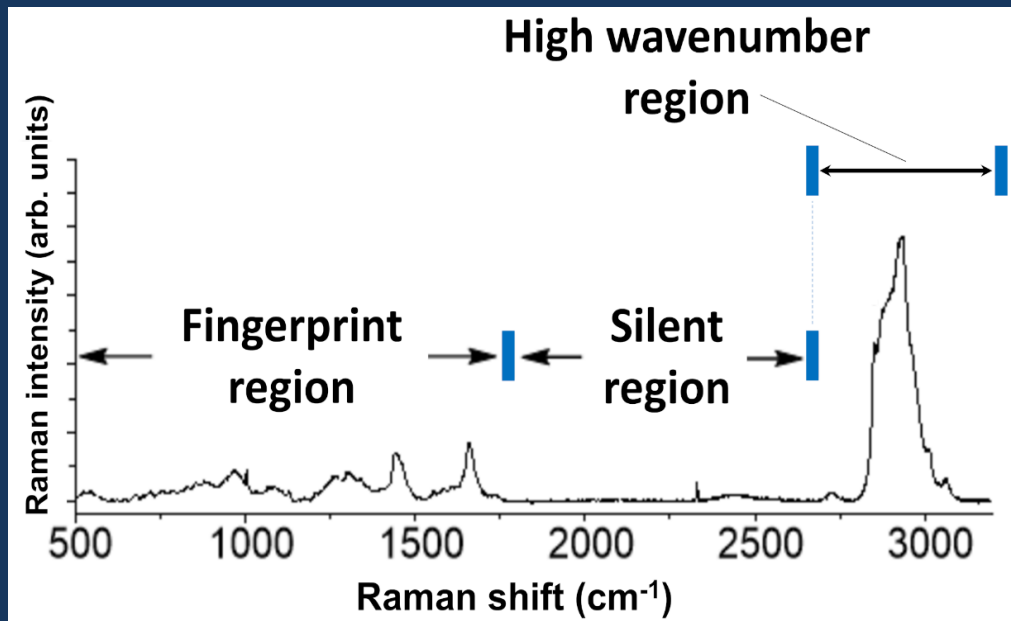
РС дает информацию о структуре энергетических колебательных уровней молекул. Эта структура специфична для каждой молекулы: ее отпечаток.

Полученная информация графически представляется в виде спектра (интенсивность рассеянного света (ось y) для каждой энергии/частоты (ось x)). Частота традиционно измеряется в единицах волнового числа (число волновых колебаний на см, см^{-1}). Интенсивность комбинационного рассеяния пропорциональна количеству фотонов, зарегистрированных на детекторе. Интервал энергий, охватываемый Рамановским спектром, находится в диапазоне от десятков см^{-1} до примерно 3500 см^{-1} , характерном почти для всех фундаментальных молекулярных колебаний.

Рамановский спектр



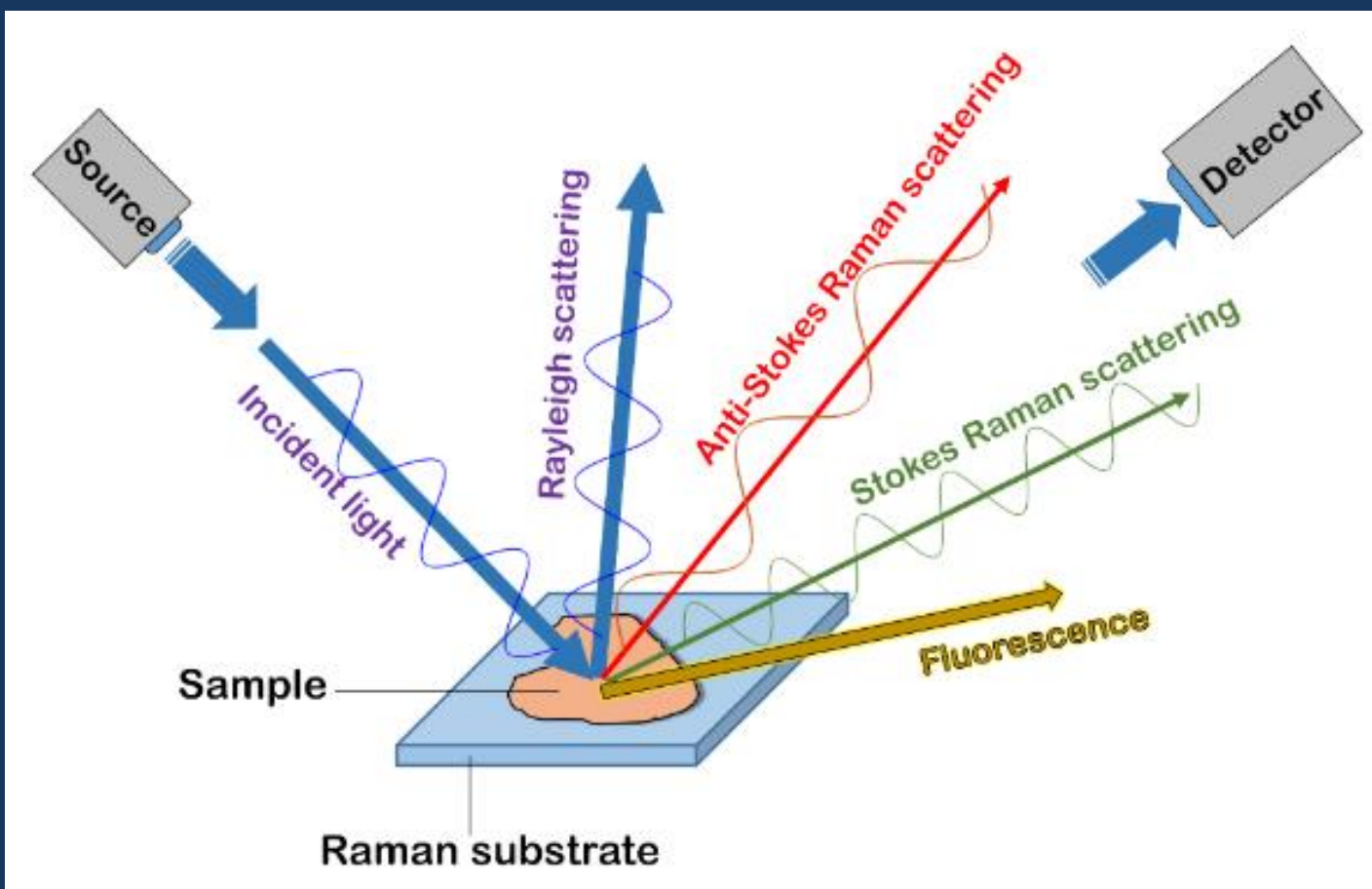
Профиль спектра (положение пика и относительная интенсивность) обеспечивает уникальный «отпечаток», который может быть использован для идентификации молекулы / материала.



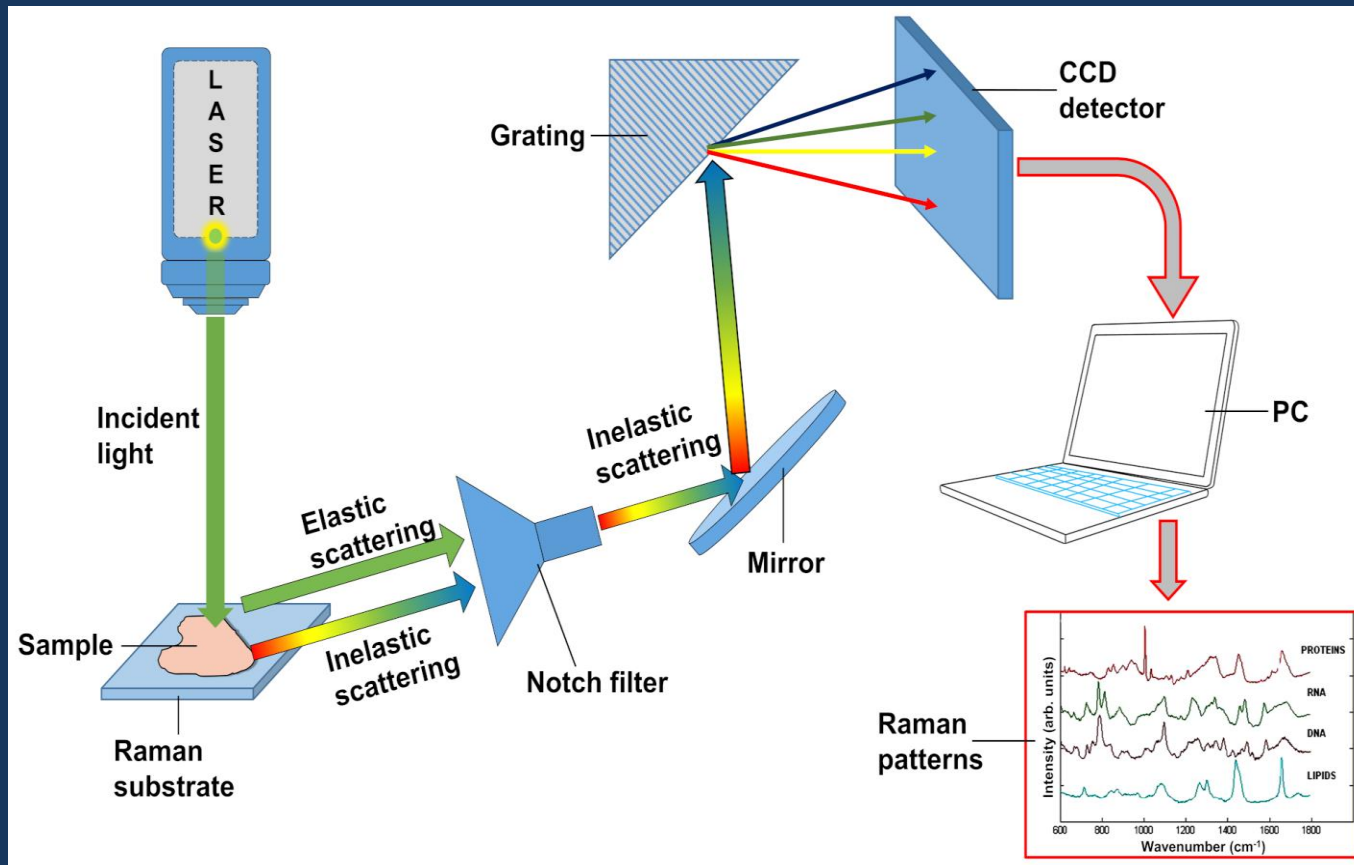
Спектр комбинационного рассеяния обеспечивает молекулярный «отпечаток», поскольку колебательные частоты, характерные для химических связей или группы связей, химической структуры и локальной среды, фазы, полиморфности, кристалличности и относительной интенсивности собственных напряжений / деформаций, прямо пропорциональны концентрации.

Как работает метод?

Образец подвергают лазерному излучению, в результате происходят различные взаимодействия:



Рамановская спектроскопия: оборудование



Базовая установка RS включает в себя лазерный источник (455 нм, 532 нм, 633 нм, 785 нм), ряд зеркал и микроскоп, направляющий свет на образец. После взаимодействия с образцом рассеянный свет собирается оптической системой (линзой, зеркалами) и направляется на анализируемый спектрометр. Упруго рассеянный свет удаляется специальным фильтром. Небольшая часть рассеянных фотонов с измененной частотой направляется в сторону спектрометра, подключенного к детектору (ПЗС). Полученные данные передаются на компьютер.

Рамановские микроскопы

Рамановский микроскоп - это оптический микроскоп, совмещенный с Рамановским спектрометром. Он работает следующим образом: лазерное излучение попадает на образец, а рассеянный свет собирается микроскопом и анализируется спектрометром.



Этот метод способен зондировать поверхности с разрешением менее 1 мкм и используется для изучения отдельных клеток, тканей, в фармакологии и т. д.



Рамановская спектроскопия: преимущества



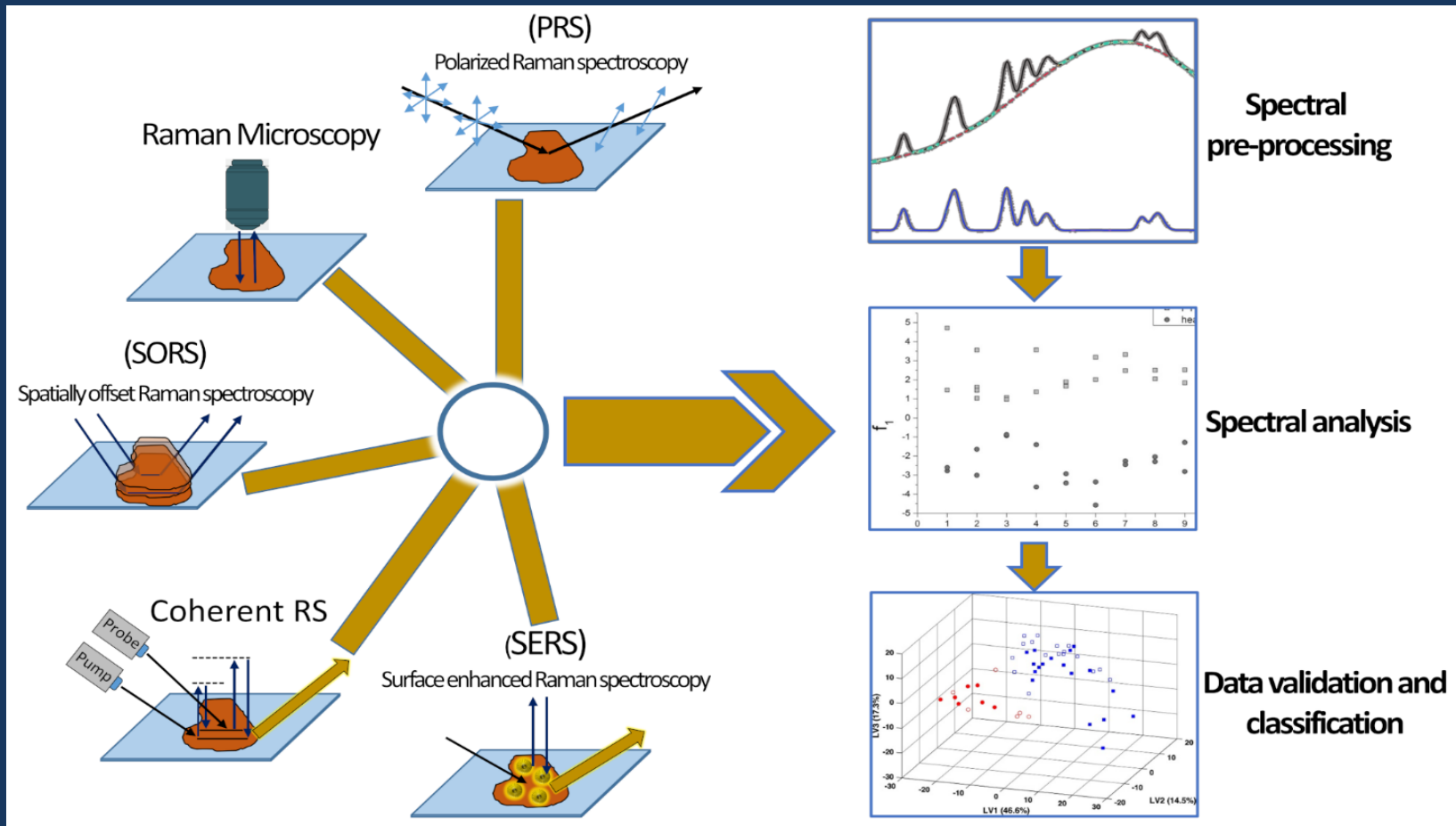
- простота пробо-подготовки;
- неразрушающий характер анализа;
- высокая скорость анализа;
- большой объём получаемой информации (метод позволяет получать как количественную, так и качественную информацию об образце);
- водная среда исследуемого объекта не представляет сложности при анализе.

РС, как метод исследования, может внести значительный вклад в изучение различных аспектов биологии, медицинской диагностики и фармацевтики



Методы Рамановской спектроскопии

Рамановский сигнал достаточно слаб. В последние десятилетия было приложено немало усилий для поиска путей его усиления. На сегодняшний день существует более двадцати усовершенствованных методов РС, характеризующихся усиленным сигналом.

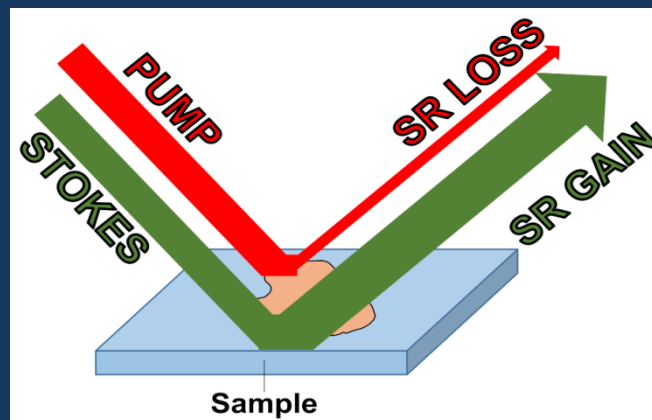


Спонтанное и стимулированное комбинационное рассеяние

Процесс комбинационного рассеяния происходит спонтанно. Стимулированное комбинационное рассеяние происходит тогда, когда Стоксовы / Антистоксовы фотоны ранее были порождены спонтанным комбинационным рассеянием. Когда Стоксовы (антистоксовы) фотоны вводятся в систему вместе с исходным источником света ("свет накачки"), суммарный Рамановский сигнал значительно усиливается. Стимулированный Раман - это пример нелинейной Рамановской спектроскопии с усилением сигнала на 4-5 порядков.

Стимулированная Рамановская рассеивающая микроскопия (SRS) стала мощным методом визуализации химических связей с высокой чувствительностью, разрешением, скоростью и специфичностью. Объединение богатой химической информации в спектре комбинационного рассеяния света с геномикой, транскриптомикой и протеомикой, а также метаболомикой может позволить SRS достичь крупномасштабного профилирования клеток экономически эффективным способом.

Nature Methods | VOL 16 | SEPTEMBER 2019 | 830–842 | www.nature.com/naturemethods

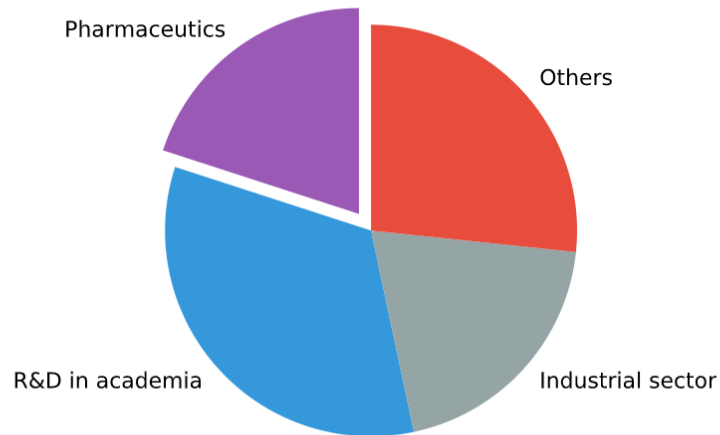


Применение Рамановской спектроскопии в фармацевтике

Рамановская спектроскопия является ключевым аналитическим инструментом для фармацевтической промышленности. Одним из наиболее распространенных применений в этой области является идентификация поступающего сырья и контроль готовой продукции. Рамановская спектроскопия идеально подходит для фармацевтики, являясь инструментом идентификации «отпечатков». Еще одним важным применением является анализ полиморфов и солевых форм как при контроле качества, так и при разработке продукции.



Global Raman Spectroscopy Market Study 2016-2026 market share by application, 2019 (%)
www.marketintellica.com



РС улучшает фармацевтические и биотехнологические производственные процессы и помогает обеспечить безопасность пациентов.

Применение Рамановской спектроскопии в фармацевтике



Как портативные, так и стендовые Рамановские системы в настоящее время широко используются в фармацевтике. Портативные анализаторы РС могут сканировать через пластиковые пакеты, стеклянные контейнеры, блистерные упаковки и гелевые колпачки. Точечный отбор проб этих анализаторов является бесконтактным и неразрушающим, что сводит к минимуму риск перекрестного загрязнения и воздействия оператора.



Спектроскопические анализаторы Thermo Scientific™ TruScan RMTM и TurScan GPTM

Применение Рамановской спектроскопии в фармацевтике

- методы тщательной сортировки и проверки высокой производительности;
- кристаллизация, определение момента завершения процесса;
- технология постоянного анализа процессов (РАТ), контроль на линии и управление: контроль процессов сушки, покрытия оболочкой, смешивания препаратов;
- идентификация и анализ присадок и наполнителей;
- контроль состояния лекарств: чистота и качество.

Применение Рамановской спектроскопии в фармацевтике



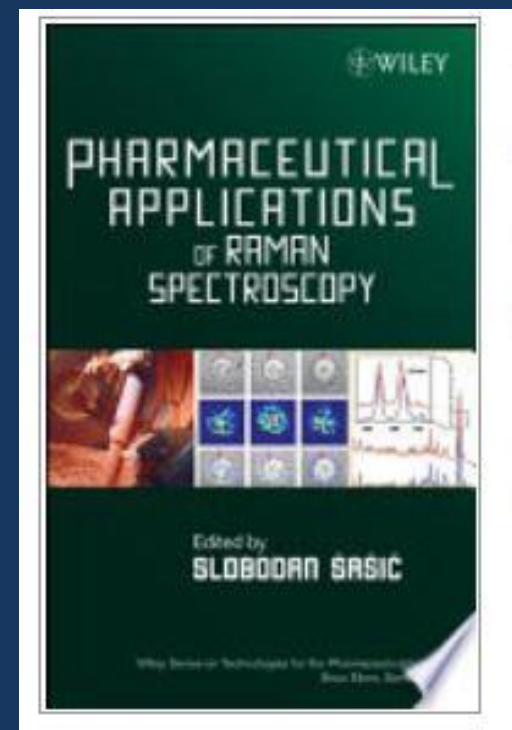
TrAC Trends in Analytical Chemistry

Volume 114, May 2019, Pages 251-259



Vibrational spectroscopy in analysis of pharmaceuticals: Critical review of innovative portable and handheld NIR and Raman spectrophotometers

Riccardo Deidda¹, Pierre-Yves Sacre¹, Matthieu Clavaud, Laureen Coïc, Hermene Avohou, Philippe Hubert, Eric Ziemons 



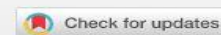
Review

Principles and applications of Raman spectroscopy in pharmaceutical drug discovery and development

Urvi Gala , B Pharm (Graduate Student) & Harsh Chauhan , PhD (Assistant Professor of Pharmaceutics)

Pages 187-206 | Published online: 15 Nov 2014

 Download citation  <https://doi.org/10.1517/17460441.2015.981522>



ФАРМАКОПЕЯ 13- онлайн (РФ)

ОФС.1.2.1.1.0009.15

Рамановская спектрометрия (введена впервые)

В ОФС представлены:

- СУЩНОСТЬ МЕТОДА
- ОБОРУДОВАНИЕ (ХАРАКТЕРИСТИКИ РАМАНОВСКИХ СПЕКТРОМЕТРОВ)
- ИДЕНТИФИКАЦИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СТАНДАРТНОГО ОБРАЗЦА
- ИДЕНТИФИКАЦИЯ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ БИБЛИОТЕК СПЕКТРОВ

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Рамановская спектрометрия	ОФС.1.2.1.1.0009.15
	Вводится впервые

Рамановская спектрометрия является экспрессным (1–2 с) и неразрушающим аналитическим методом идентификации и контроля качества лекарственных средств, поскольку дает возможность получить индивидуальный спектр молекулы вещества.

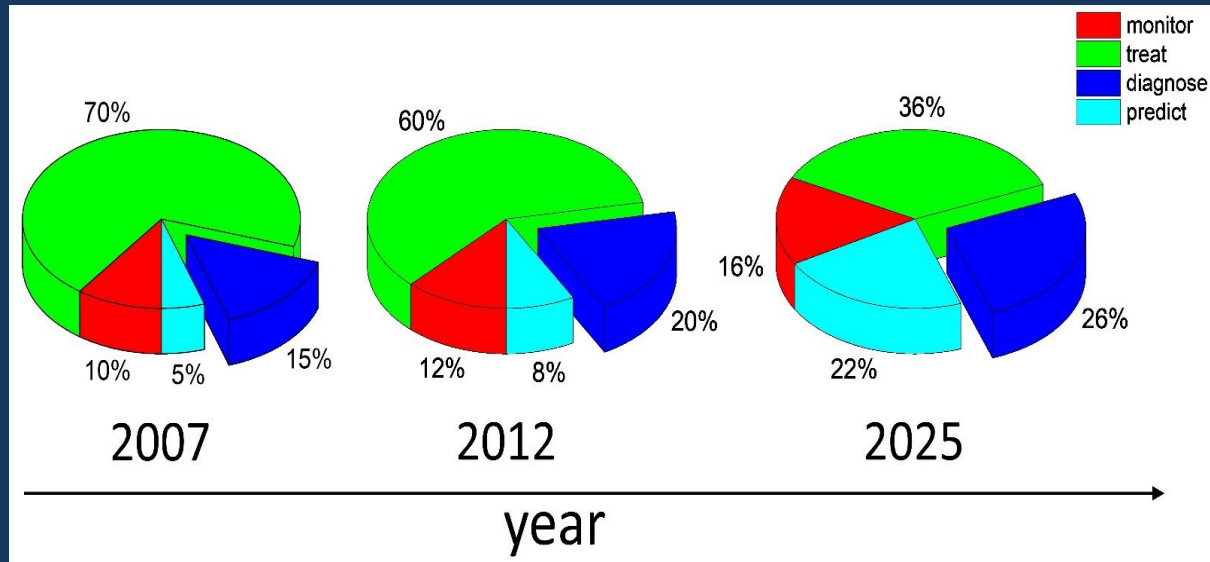
К преимуществам Рамановской спектрометрии следует отнести: возможность бесконтактного анализа твердых, жидких и газообразных веществ; метод не требует большого количества вещества (около 50 мг); анализ проводится без разрушения образца; кроме того, метод позволяет анализировать вещества в стеклянной и пластиковой упаковке.

Рамановская спектрометрия может быть использована для анализа таких физических свойств, как кристалличность, фазовые переходы и полиморфные состояния.

Метод. Рамановский спектр (он же спектр комбинационного рассеяния) возникает при облучении вещества монохроматическим лазерным излучением ультрафиолетового или видимого диапазона (диапазон длин волн от ультрафиолетовой до ближней инфракрасной области). Под действием излучения молекулы вещества поляризуются и рассеивают свет в интервале от 2 до 4000 см⁻¹. Если взаимодействие кванта падающего излучения с молекулой, находящейся в основном или возбужденном колебательном состоянии, является упругим, то энергетическое состояние молекулы не меняется, и частота рассеянного

Применение Рамановской спектроскопии в медицине

Рост роли диагностики

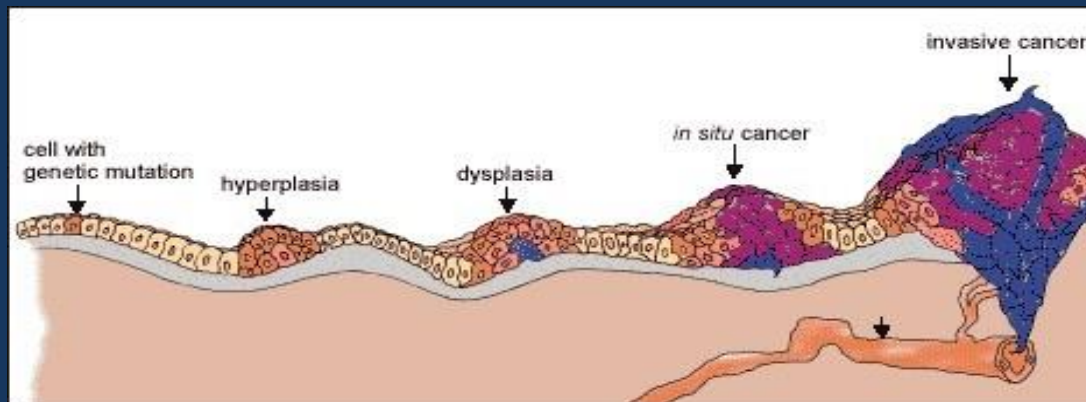


Лечебная медицина
против
Прогностической
медицины

Методы спектроскопии могут помочь
обнаружить рак по его специфическим
спектральным признакам



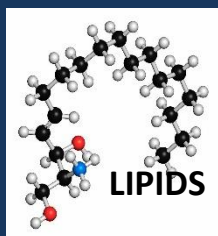
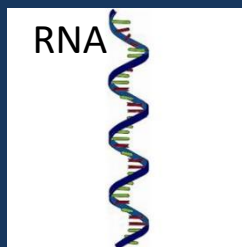
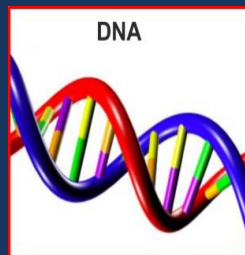
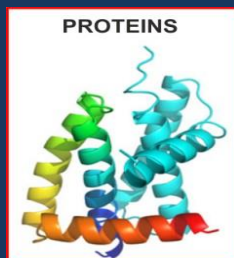
Применение Рамановской спектроскопии для диагностики опухолей



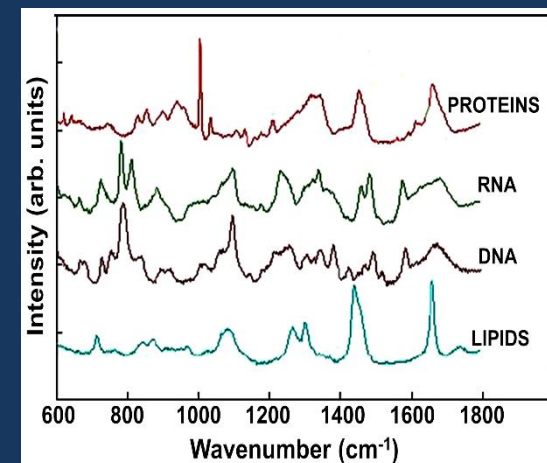
Колебательный спектр - это молекулярный отпечаток, уникальный и характерный, отражающий изменения клеток и тканей.

[http://www.ndhealthfacts.org/wiki/Oncology_\(Cancer\)](http://www.ndhealthfacts.org/wiki/Oncology_(Cancer))

Молекулярный отпечаток болезни - одно из приоритетных направлений биомедицинских исследований. Детальное изучение изменений биохимического состава патологических клеток и тканей будет способствовать разработке новых диагностических и терапевтических подходов.



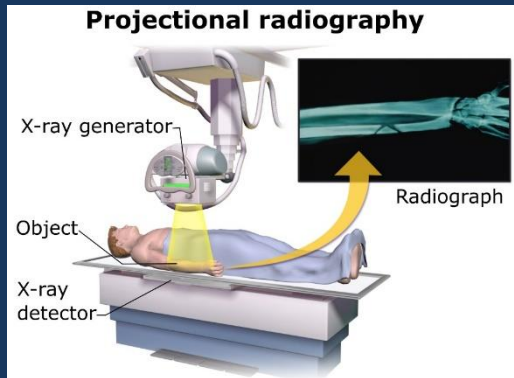
индивидуальный спектры



Ситуация в клиниках сегодня

МЕТОД ВИЗУАЛИЗАЦИИ

Рентген



Source: https://en.wikipedia.org/wiki/Projectional_radiography

Ультразвук



МРТ, компьютерная томография



Спектроскопические методы визуализации тканей могут быть использованы в качестве инструмента для получения биохимических отпечатков молекул

Используемые на сегодняшний день методы визуализации имеют решающее значение для определения локализации и границ заболевания, но они не могут предоставить конкретную информацию о характере поражений. Хотя гистопатологическая оценка в настоящее время является "золотым стандартом" диагностики, однако, это процесс субъективный. Поэтому необходимы другие (неинвазивные) методы, повышающие достоверность диагноза и способствующие принятию решений на каждом этапе клинической диагностики рака.

РАК ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Тонкоигольная аспирационная биопсия с последующим цитологическим исследованием даёт примерно следующие результаты:
60-70% - доброкачественные узелки щитовидной железы;
4-10% - злокачественные;
10-26% - неопределенные, из них
15-48% папиллярные карциномы щитовидной железы (ПТК).



Актуальной задачей современной медицины является поддержка гистологического анализа и поиск аналитической методики, позволяющей исследовать эти изменения с помощью малоинвазивных и неразрушающих методов.

Цель нашей работы: исследование потенциала технологии визуализации РС в улучшении оценки состояния тканей щитовидной железы.

J.V. Rau et al. RAMAN spectroscopy imaging improves the diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Scientific Reports* 2016, v. 6, 35117; DOI: 10.1038/srep35117

Рамановская спектроскопия для визуализации тканей:

разрешение микро-уровня, высокотехнологичное
оборудование, простота и удобство работы,
использование метода в практической медицине



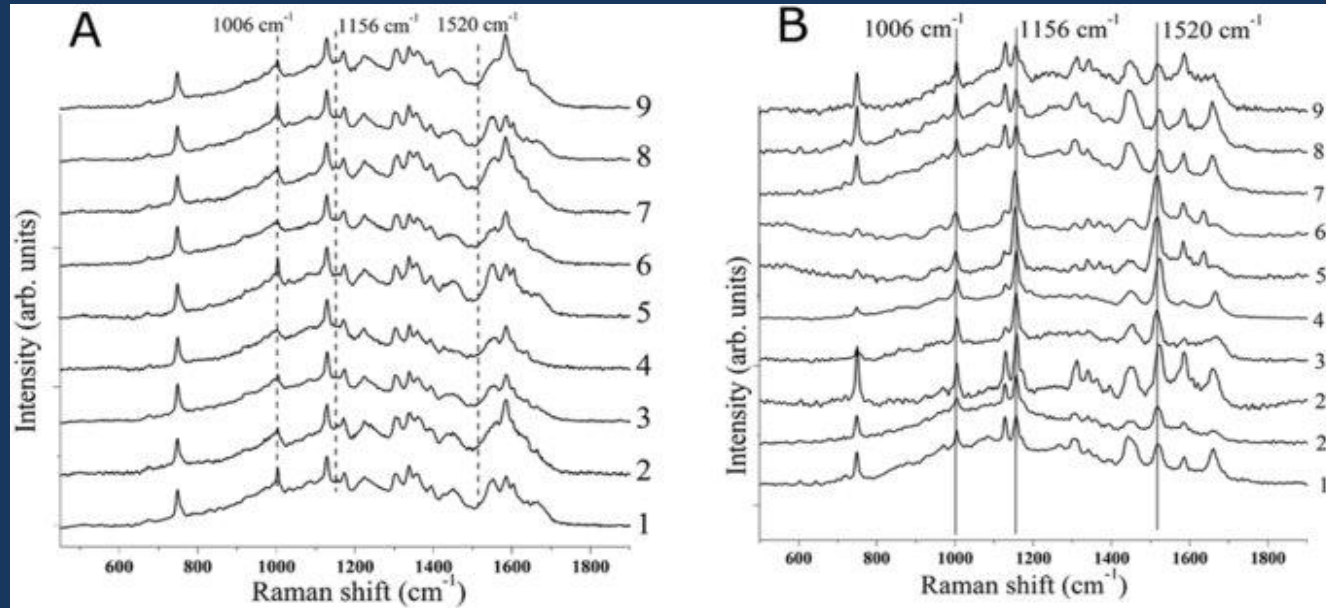
Цель:

необходимо было продемонстрировать, что:

- А) Рамановская спектроскопия способна различать здоровую ткань от папиллярной карциномы ткани щитовидной железы
- Б) Рамановская спектроскопия способна различать два варианта папиллярного рака (классический и фолликулярный тип)

Исследование биохимического профиля ткани щитовидной железы

Спектры, полученные от выбранных участков тканей щитовидной железы у 9 пациентов, дают биохимическую информацию, которая может быть использована для диагностики.



Здоровая
ткань

Папиллярная
карцинома

Рисунок. Спектры Раман: (А) последовательность спектров, полученных из здоровых тканей щитовидной железы от разных пациентов, (Б) последовательность спектров, полученных из тканей ПК (2(а)- фолликулярный вариант и 2 (б)– классический вариант) в образце щитовидной железы пациента 2). Номера спектра соответствуют номеру пациента, приведенному в таблице на следующем слайде.

НАБОР ДАННЫХ

PERSON	Histological diagnosis: PTC (papillary thyroid Carcinoma)	Number of HEALTHY TISSUE maps	Number of Pathologic TISSUE maps	Number of RAMAN maps	Number of RAMAN spectra
1	classical	5	5	10	7114
2	classical & follicular	4	5	9	14630
3	classical	2	3	5	3722
4	classical	2	4	6	6586
5	follicular	1	1	2	30640
6	classical	4	5	7	933
7	classical	4	3	7	6123
8	classical	2	2	4	439
9	follicular	2	3	5	881
10	classical	2	3	5	596

**10 пациентов
с узлами
щитовидной
железы**

**общее
количество
Рамановских
карт
60**

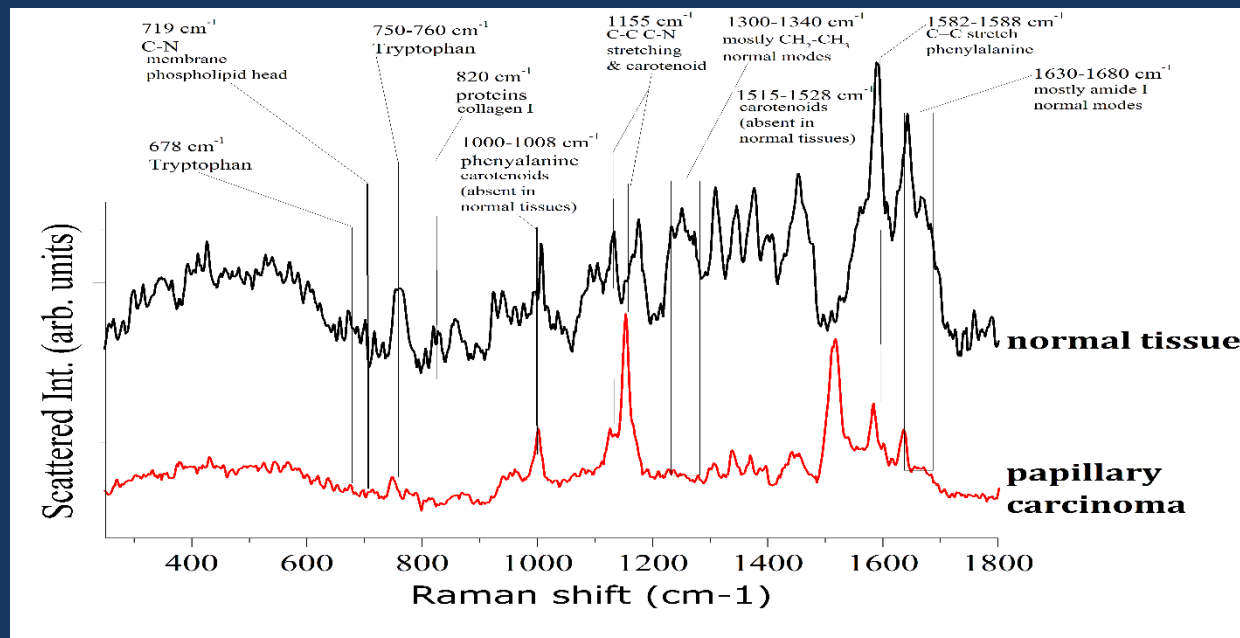
**общее
количество
Рамановских
спектров
≈ 80 000**

J.V. Rau et al. RAMAN spectroscopy imaging improves the diagnosis of papillary thyroid carcinoma. **Scientific Reports 2016**, v. 6, 35117; DOI: 10.1038/srep35117

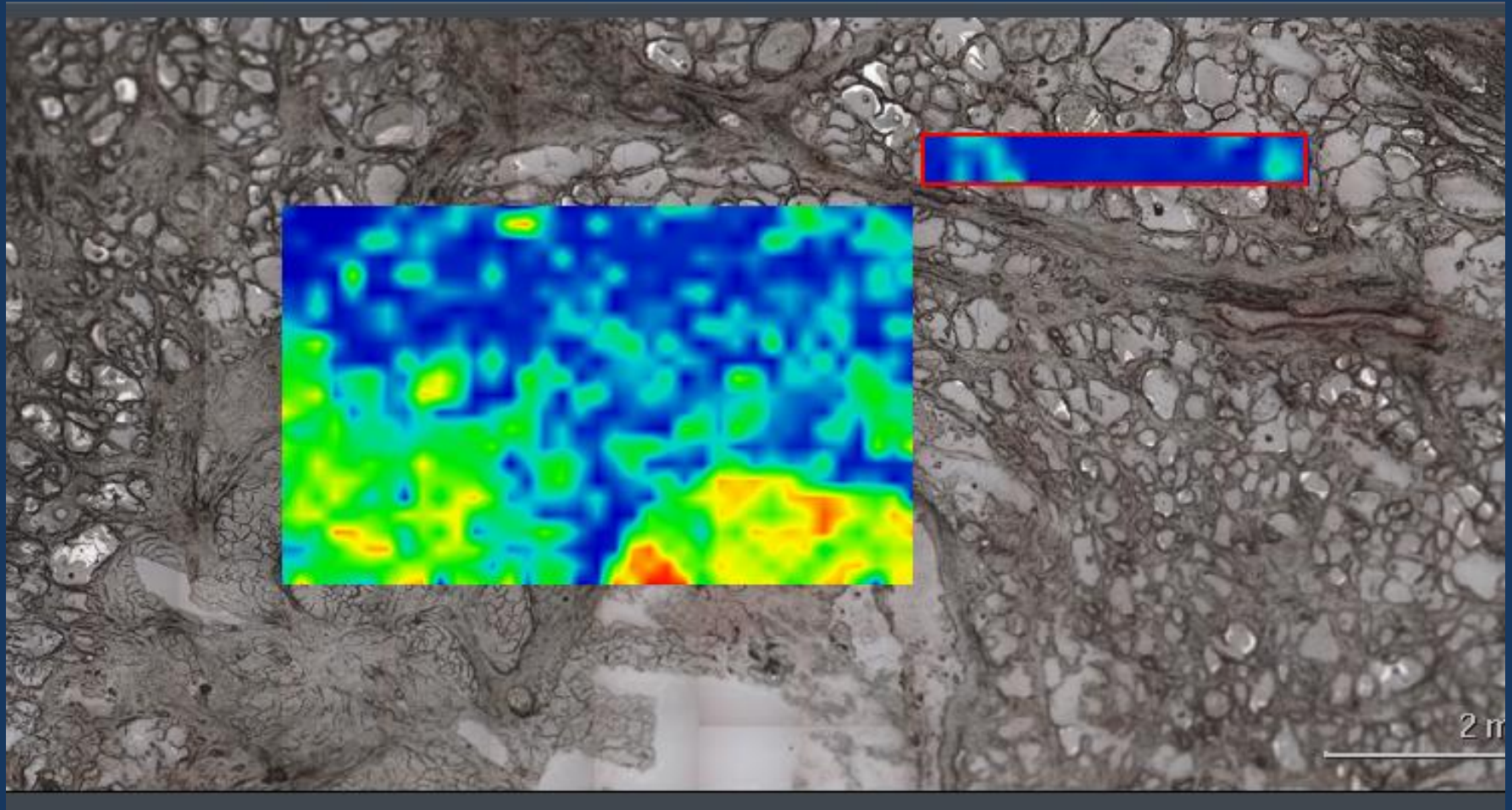
Щитовидная железа: здоровая ткань - папиллярная карцинома

J.V. Rau et al. RAMAN spectroscopy imaging improves the diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Scientific Reports* 2016, v. 6, 35117; DOI: 10.1038/srep35117

Это первое исследование, продемонстрировавшее наличие значительного количества каротиноидов в раковых тканях щитовидной железы (по сравнению со здоровой тканью, где их практически нет) предполагающее, что каротиноиды могут быть использованы в качестве Рамановского биомаркера для патологии ПК.



Рамановская биохимическая карта ткани щитовидной железы



Рамановская карта ткани щитовидной железы, визуализирующая папиллярные структуры карциномы (зелено-желто-красные). Здоровая ткань соответствует синей зоне.

Рамановская карта ткани щитовидной железы: опухолевая зона

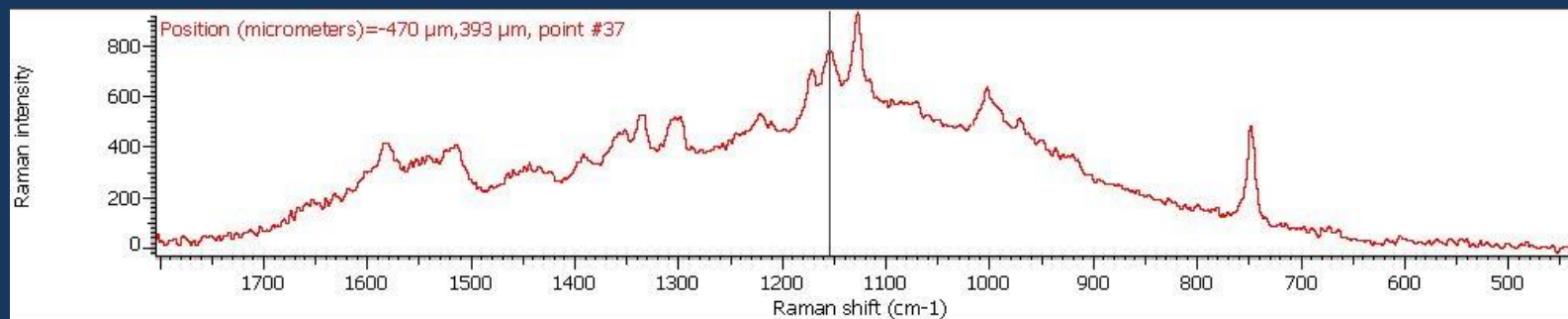
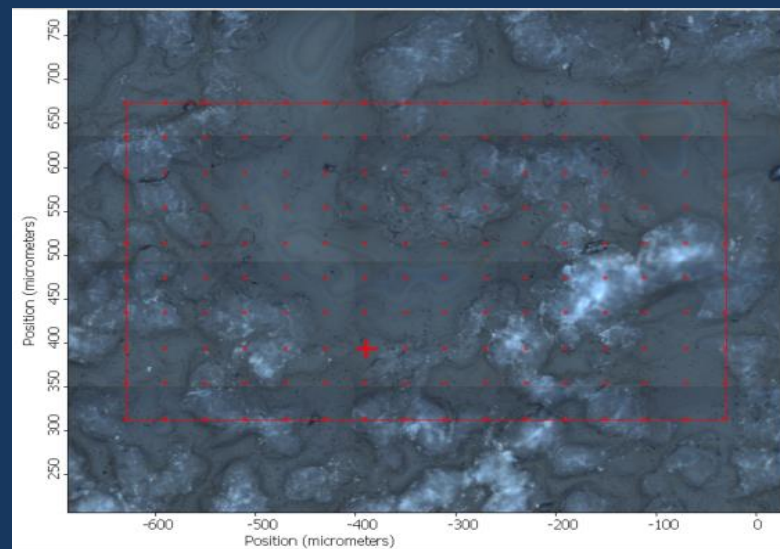
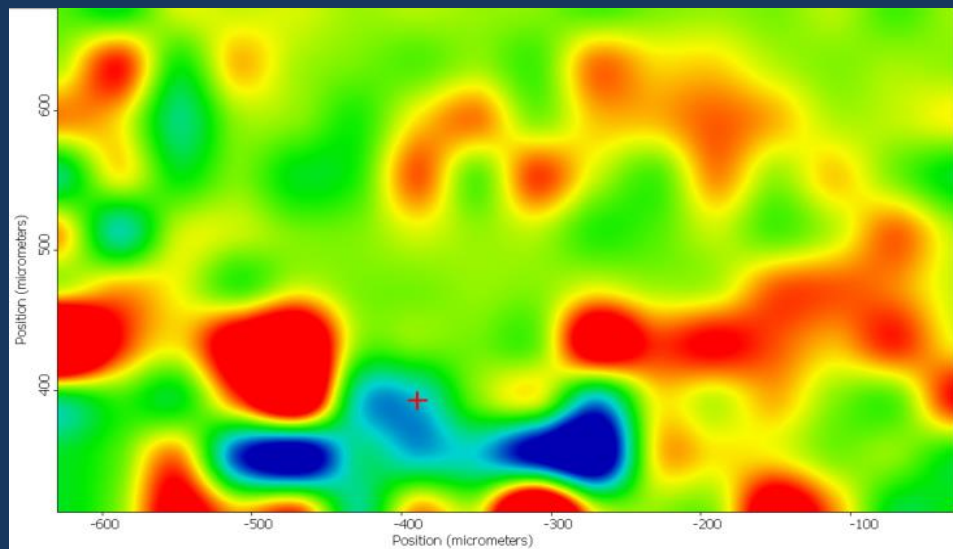


Рисунок. Типичный пример карты Рамановской химиграммы (эталонная полоса 1156 см⁻¹) для папиллярной ткани рака щитовидной железы: карта Рамана, оптическое изображение опухолевой зоны (красный квадрат соответствует исследуемому участку ткани) (шкалы выражены в мкм), средний эталонный спектр Рамана.

Рамановская карта ткани щитовидной железы: здоровая зона

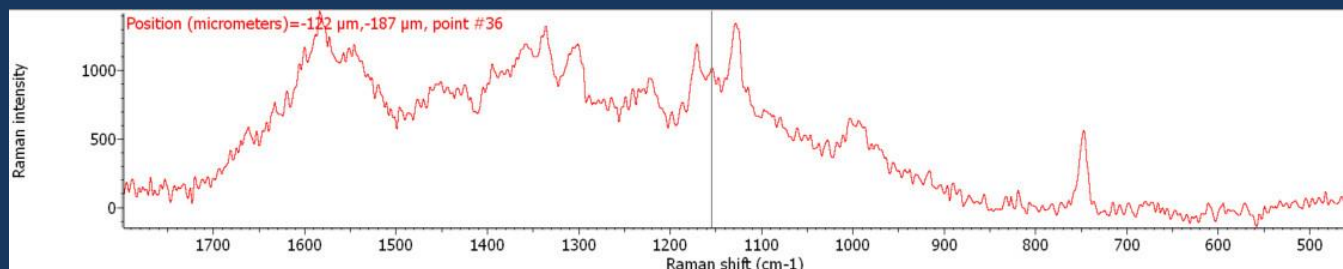
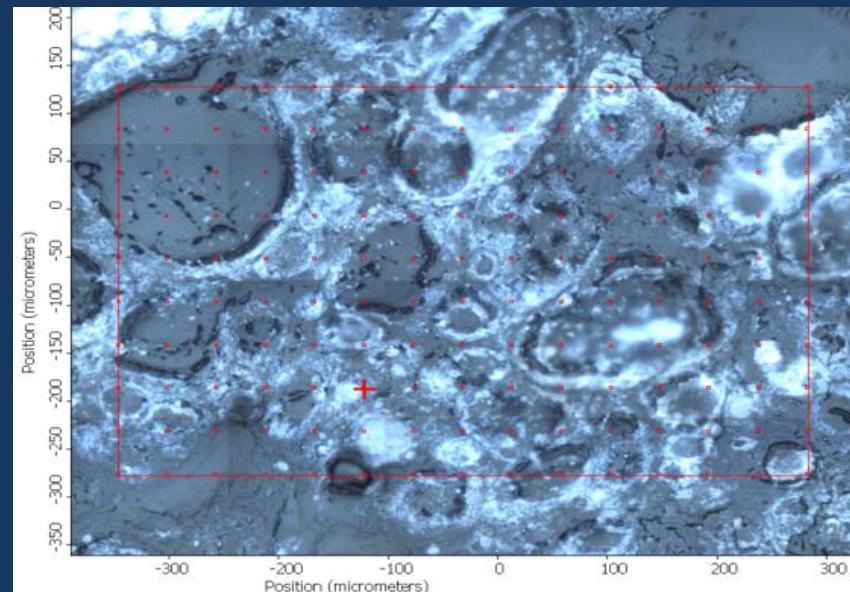
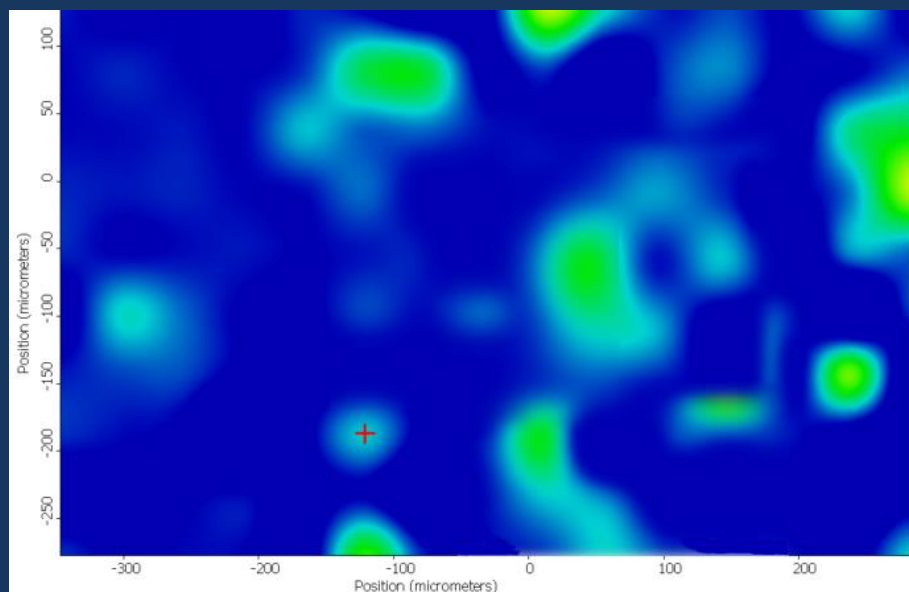
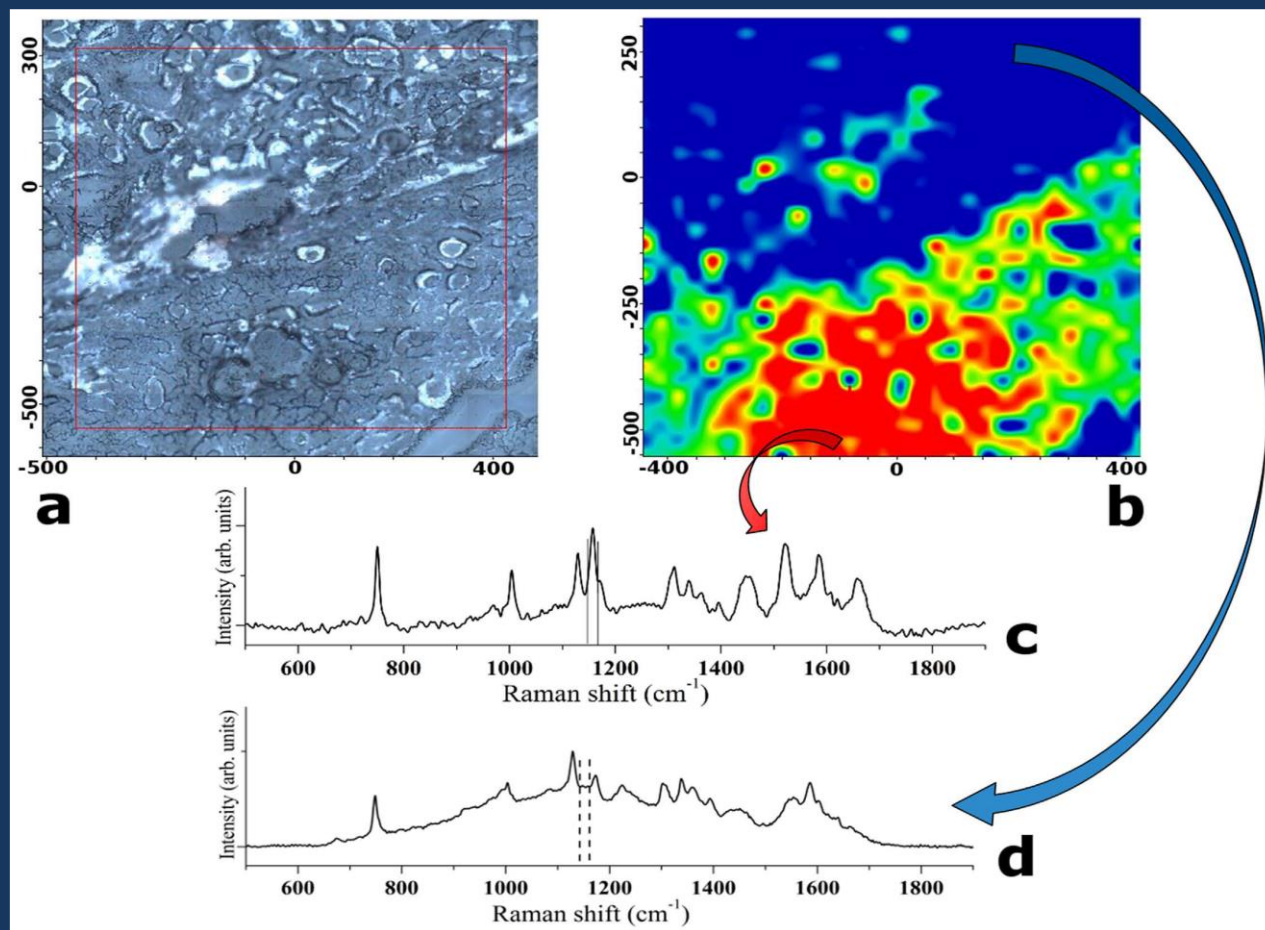


Рисунок. Типичный пример карты Рамановской химиграммы (эталонная полоса 1156 см⁻¹) для здоровой ткани щитовидной железы: карта Рамана, оптическое изображение здоровой ткани (красный квадрат соответствует исследуемому участку ткани) (шкалы выражены в мкм), средний эталонный спектр Рамана.

Рамановская карта ткани щитовидной железы: смешанная зона



*Экспрессия
специфических
молекул,
участвующих в
прогрессии
опухоли*

Рамановские карты - химиограммы могут быть использованы для: точной идентификации границ опухоли; точного и селективного удаления опухолевой ткани; уменьшения дисперсии нездоровых тканей и клеток.

J.V. Rau et al. RAMAN spectroscopy imaging improves the diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Scientific Reports* 2016, v. 6, 35117; DOI: 10.1038/srep35117

Статистическая обработка данных

Полученные спектры комбинационного рассеяния были обработаны с применением статистического многомерного анализа обработки данных, используемого для сложных систем с высокой внутренней изменчивостью:

**АНАЛИЗ ОСНОВНЫХ КОМПОНЕНТОВ (PCA)
ЛИНЕЙНЫЙ ДИСКРИМИНАНТНЫЙ АНАЛИЗ (LDA)**

Цель: хороший уровень точности, специфичности и чувствительности по отношению к специфической патологии

PCA



Главное предположение:
различия между группами
существуют из-за их дисперсии

двойное назначение:

- уменьшение начальной размерности набора данных;
- необходимо проверить, может ли в подмножестве измерений, вариация различных типологий тканей обнаруживать различия между образцами

LDA

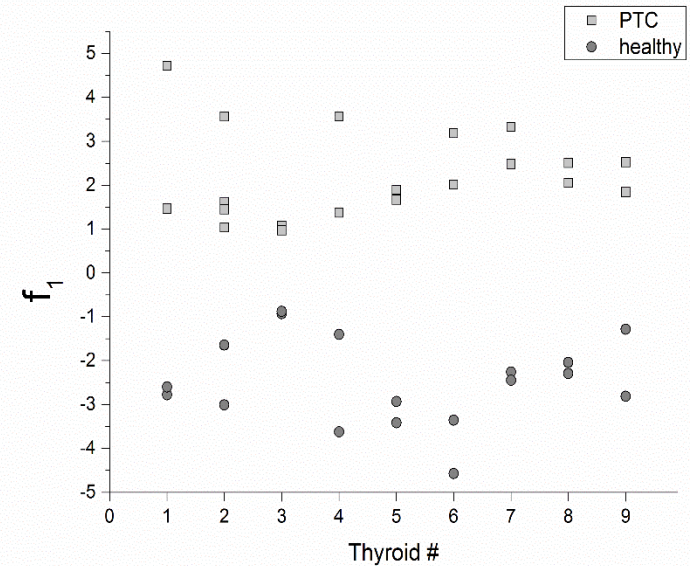
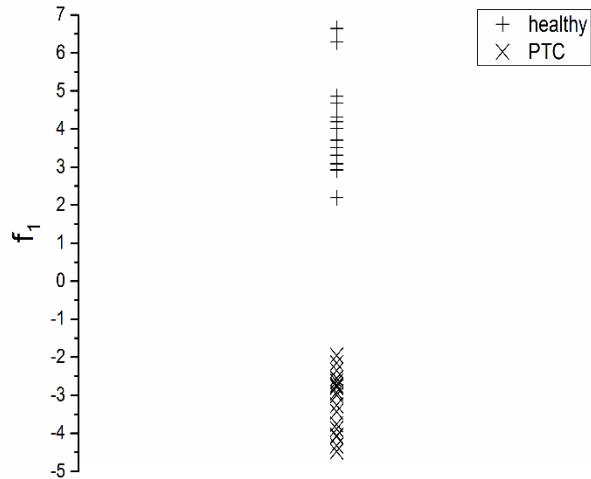


Главное предположение:
различия между группами
существуют из-за их средних значений или медиан

двойное назначение:

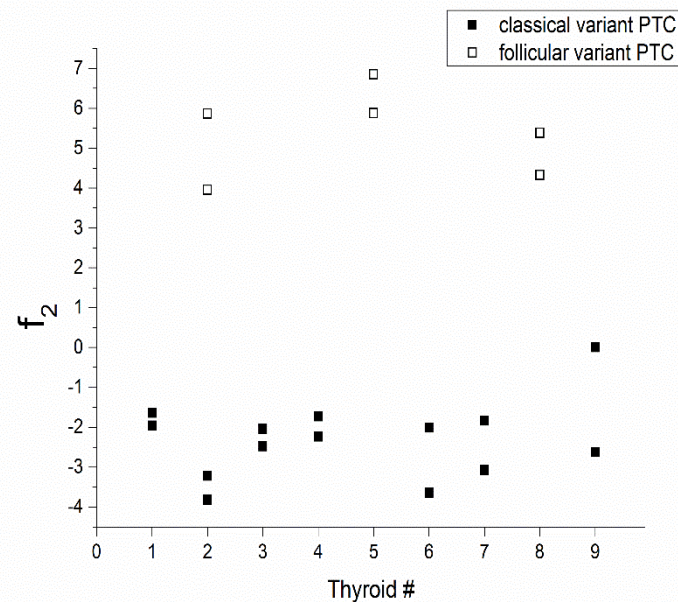
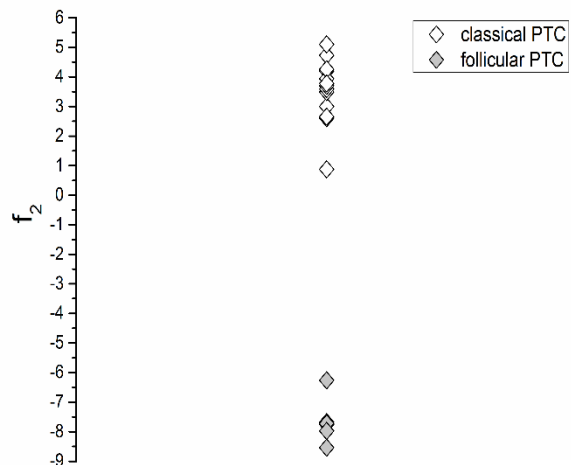
- уменьшение начальной размерности набора данных;
- необходимо проверить, имеются ли существенные различия между средними значениями или медианами образцов различных типологий тканей и могут ли они быть использованы в диагностических целях

Проекция образцов здоровых тканей и ПК вдоль f_1



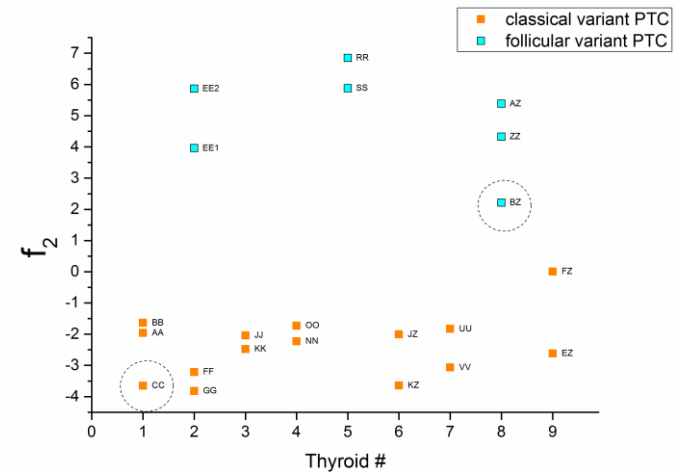
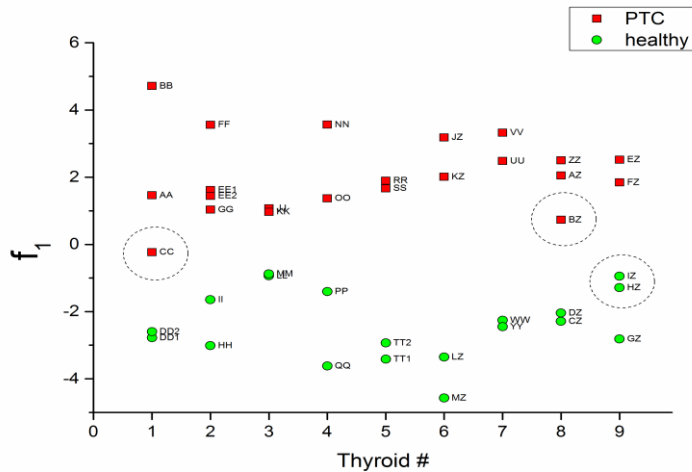
J.V. Rau et al. Raman spectroscopy imaging improves the diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Scientific Reports* 2016, v. 6, 35117; DOI: 10.1038/srep35117

Проекция двух вариантов ПК вдоль f_2



J.V. Rau et al. RAMAN spectroscopy imaging improves the diagnosis of papillary thyroid carcinoma. **Scientific Reports** 2016, v. 6, 35117; DOI: 10.1038/srep35117

Анализируемые недиагностированные образцы



J.V. Rau et al. RAMAN spectroscopy imaging improves the diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Scientific Reports* 2016, v. 6, 35117; DOI: 10.1038/srep35117

Результаты

10

пациентов

	Healthy <i>versus</i> Carcinoma, %	PTC: Classical <i>versus</i> Follicular, %
<i>accuracy</i>	95	100
<i>specificity</i>	100	100
<i>sensitivity</i>	93	100

cryo-sectioned tissus

Интеграция морфологических и биохимических наблюдений может привести к резкому повышению эффективности и достоверности диагностики.

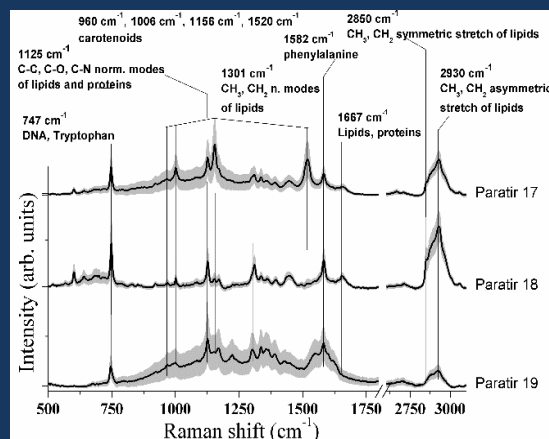
J.V. Rau et al. RAMAN spectroscopy imaging improves the diagnosis of papillary thyroid carcinoma. [Scientific Reports 2016](#), v. 6, 35117; DOI: 10.1038/srep35117

Обработка статистических данных

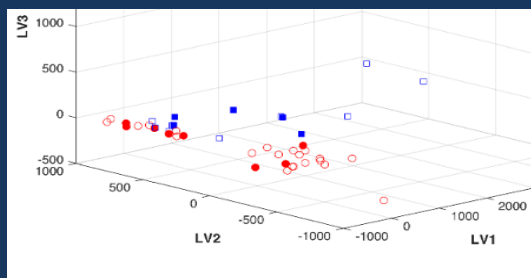
Предварительная обработка спектров комбинационного рассеяния обычно требуется для удаления фона и нормализации спектров, чтобы обеспечить возможность сравнения между наборами данных. Автофлуоресценция является неотъемлемой характеристикой тканей и биологических образцов и всегда присутствует в оптической спектроскопии. Специальные алгоритмы, выполняющие коррекцию базовой линии, могут помочь вычистить вклад флуоресценции. Фильтрация Фурье и подгонка полиномиальной кривой также обычно используются для коррекции базовой линии.

Большое количество информации, содержащейся в Рамановских спектрах, может быть обработано с помощью многомерных математических и статистических хеометрических методов. Краткий обзор различных хеометрических инструментов, связанных с анализом спектроскопических данных, приведен в работе [Biancolillo, A. and Marini, F. Chemometric Methods for Spectroscopy-Based Pharmaceutical Analysis. Перед. Хим.. 2018, V. 6, p. 576, doi: 10.3389/fchem.2018.00576]. Анализ главных компонент (PCA) представляет собой наиболее распространенный неконтрольный метод, используемый для извлечения признаков. Линейный дискриминантный анализ (LDA) - это распространенный алгоритм классификации, позволяющий находить дискриминантные оси. Таким образом, PCA стремится свести сложный набор данных к подпространству более низкой размерности, в то время как LDA интегрируется для целей классификации. Слабость метода PCA-LDA заключается в том, что он плохо работает, когда набор данных состоит из большого числа переменных, присутствующих в полученных спектрах, характерных для биологических тканей. Для большого числа переменных более подходит частичный дискриминантный анализ наименьших квадратов (PLS-DA), являющийся подходящим инструментом как для сокращения переменных, так и для классификации. PLS-DA может быть описан как "контролируемая" версия PCA и больше подходит для больших наборов данных.

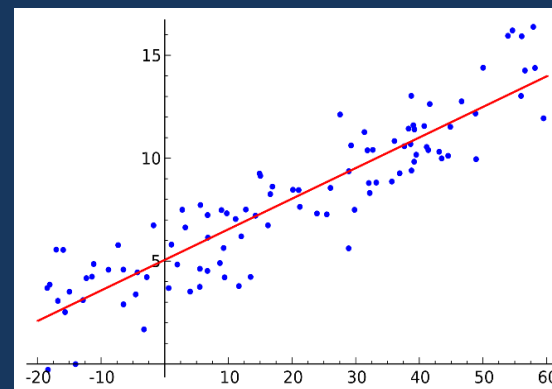
Обработка статистических данных



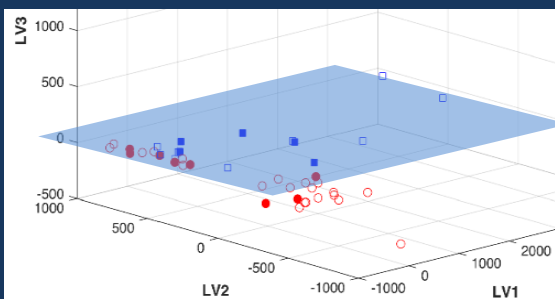
Спектры комбинационного
рассеяния света



Анализ
основных
компонентов
(PCA)



Частичные наименьшие
квадраты - дискриминантный
анализ (PLS-DA)



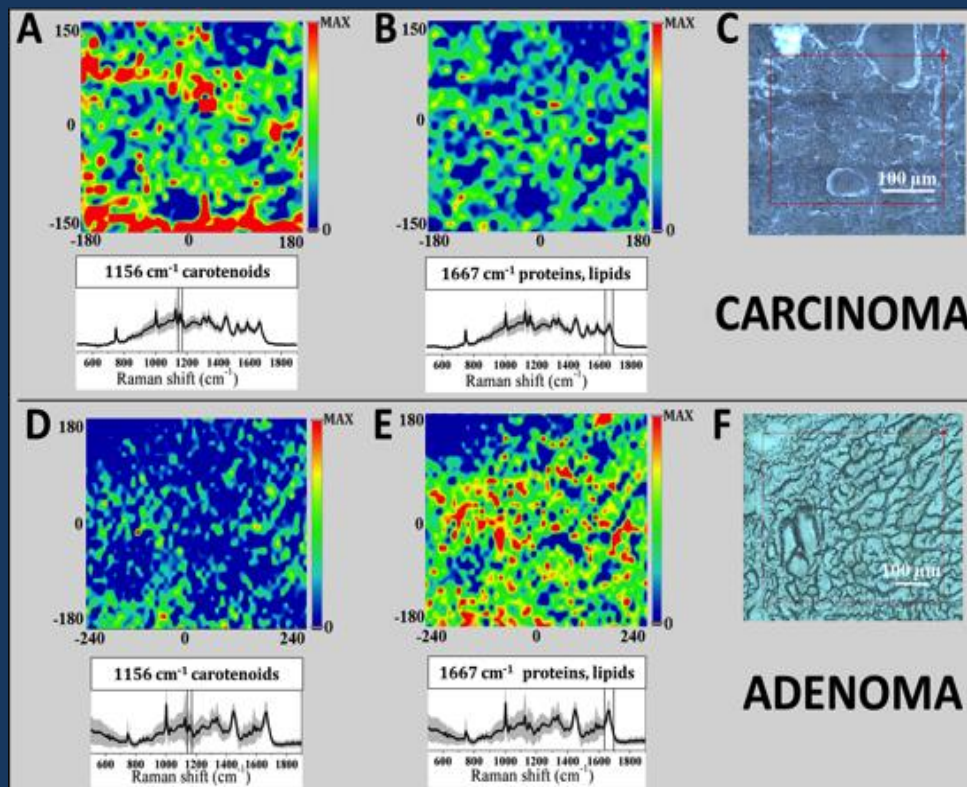
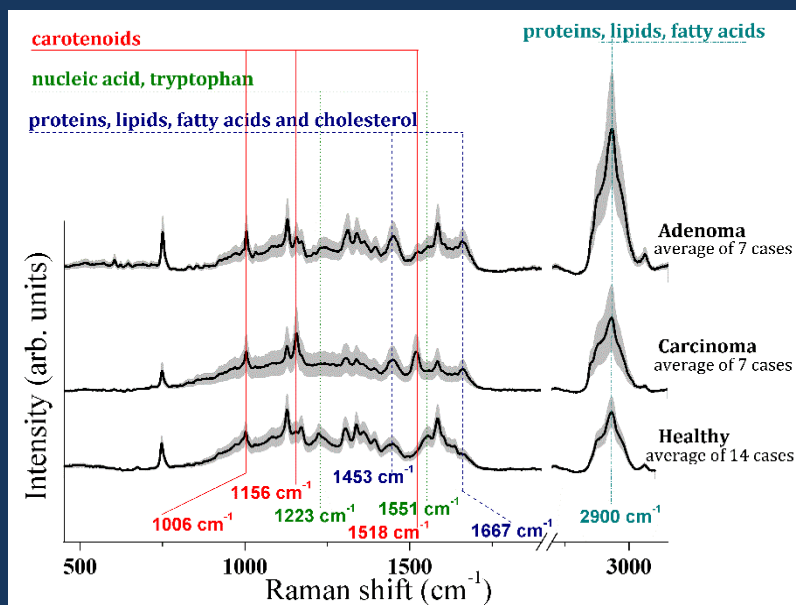
Линейный
Дискриминант
-ный
Анализ(LDA)

J.V. Rau et al. [Scientific Reports 2016](#), v. 6, 35117; DOI: 10.1038/srep35117
 J.V. Rau et. [Scientific Reports 2017](#), v.7, 14970 DOI: 10.1038/s41598-017-14872
 A.Palermo et al. [ACS Analytical Chemistry 2018](#), v. 90, pp. 847-854 DOI:
 10.1021/acs.analchem.7b03617
 J. V. Rau et al. [Talanta 2019](#), v. 194, pp. 763-770 DOI:
 10.1016/j.talanta.2018.10.086

Рамановская спектроскопия - метод дифференцирования фолликулярных поражений щитовидной железы

14 пациентов
с узлами
щитовидной
железы

фолликулярные
поражения и мелкие
карциномы



Карты Раман / химиграммы: (A,D) химиграммы, полученные с учетом площади полосы 1156 cm^{-1} , (B,E) химиграммы, полученные с учетом площади полосы 1667 cm^{-1} , (C,F) оптические изображения.

Рамановская спектроскопия - метод дифференцировки фолликулярных поражений щитовидной железы

Проверка концепции

Carcinoma versus Adenoma

Internal validation tool:
leave-one-out
cross validation

External validation tool:
external dataset

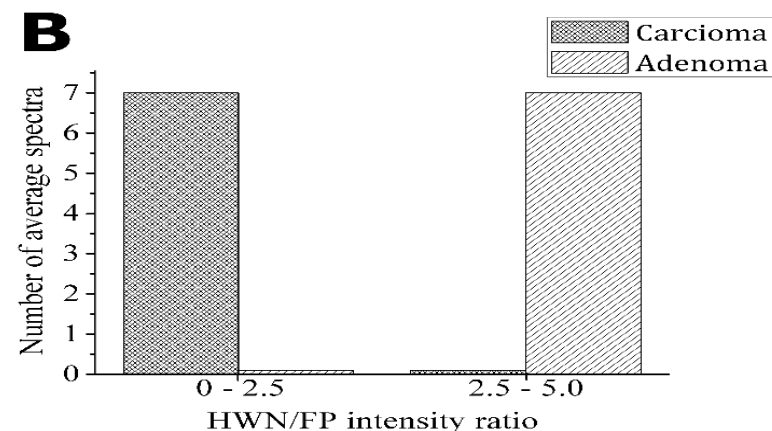
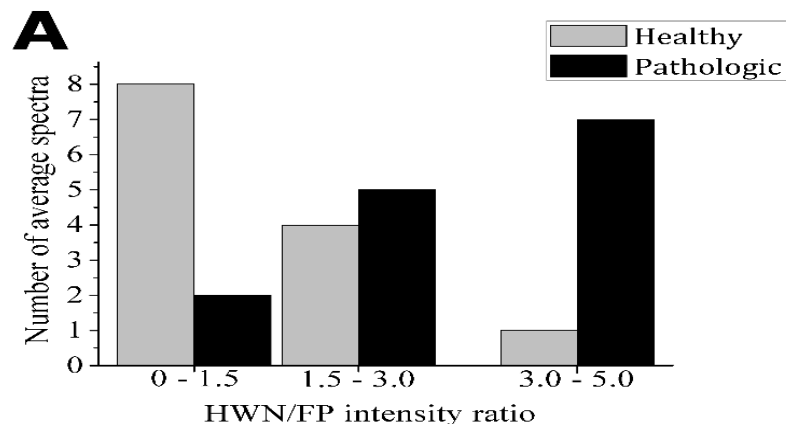
model f_1

Accuracy	89.3%
Sensitivity	92.9%
Specificity	85.7%

Rau J.V. et al. Proof-of-concept Raman spectroscopy study aimed to differentiate thyroid follicular patterned lesions.

Scientific Reports 2017, v.7, 14970

DOI: 10.1038/s41598-017-14872



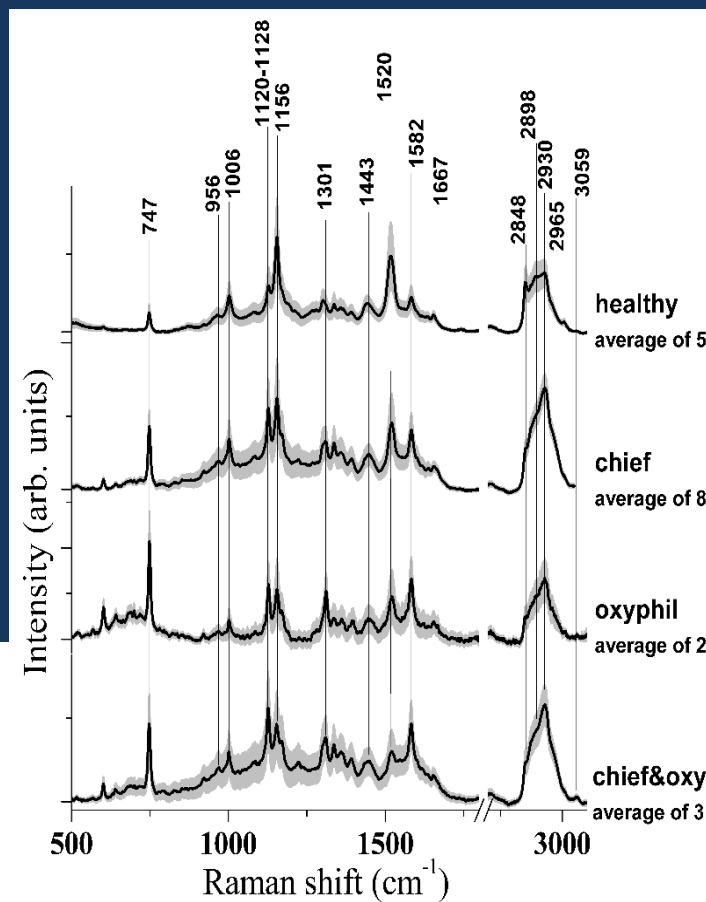
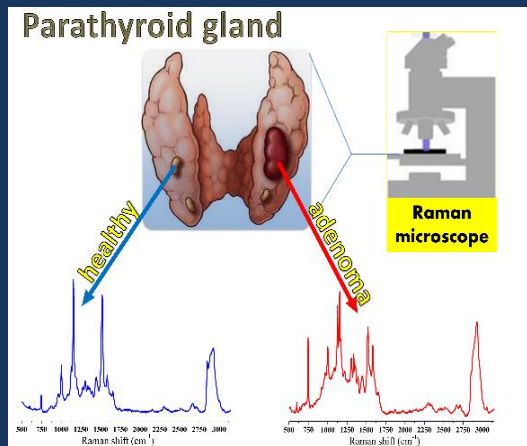
А-распределение отношения интенсивностей HWN/FP в здоровых и патологических тканях и Б-распределение отношения интенсивностей HWN/FP в карциноме и аденоме

Рамановская спектроскопия, применяемая к паращитовидным тканям, позволяет отличить здоровую ткань от аденомы

Проверка концепции

18 пациентов

Цель: разработка Рамановского портативного волоконного зондового устройства для интраоперационной оптической биопсии, как для повышения успешности хирургического вмешательства, так и для снижения его стоимости.



HEALTHY	ADENOMA	
calibration dataset	validation dataset	
100 %	100%	
	CHIEF CELL	OXYPHIL CELL
	calibration and cross validation	external validation
	> 99%	99.8%
	CHIEF CELL	OXYPHIL CELL
	calibration and cross validation	external validation
	> 99%	99.8%

Palermo A. et al Rau J.V. Raman Spectroscopy Applied to Parathyroid Tissues: a New Diagnostic Tool to Discriminate Normal Tissue from Adenoma. *ACS Analytical Chemistry*, 2018, v. 90, pp. 847-854 DOI: 10.1021/acs.analchem.7b03617

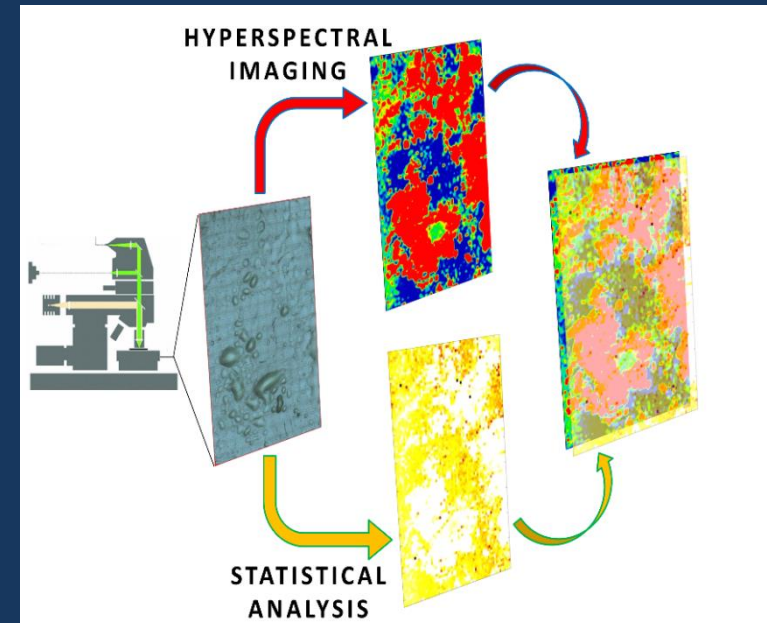
Рамановская спектроскопия - метод диагностики лимфатических узлов

Нами было доказано, что с помощью Рамановской спектроскопии возможно отличить злокачественную фолликулярную лимфому (первичная опухоль низкой степени злокачественности) от доброкачественной фолликулярной гиперплазии, диффузную крупноклеточную В-клеточную лимфому (первичная опухоль высокой степени злокачественности) от метастазированной опухоли (вторичные опухоли), и можно классифицировать фолликулярные лимфомы в зависимости от степени рака и экспрессии белка BCL2.

Проверка
концепции

20
пациентов

	Correctly classified Training set		Correctly classified Test set	
Benign vs malignant	Malignant	Benign	Malignant	Benign
	95.2%	88.9%	88.9%	80.0%
FH (benign) vs FL (primary tumour)	85.2%	74.1%	89.1%	99.7%
FL (primary tumour) vs metastasis (secondary tumours)	metastasis	FL	metastasis	FL
	99.9%	99.6%	99.5%	99.1%
Classification of FL according to their tumour grade	grade III	grade I+II	grade III	grade I+II
	96.7%	98.7%	87.1%	90.9%
	grade II	grade I	grade II	grade I
	95.4%	94.9%	70.3%	91.7%
BCL2 expression by tumour cells	BCL2+	BCL2-	BCL2+	BCL2-
	92.2%	95.1%	89.7%	75.0%

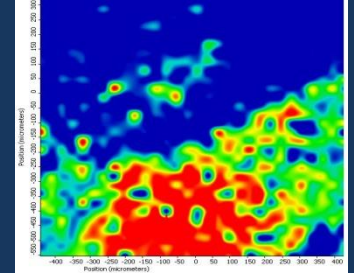


J. V. Rau et al. Talanta, 2019, v. 194, pp. 763–770 DOI: 10.1016/j.talanta.2018.10.086

Будущая задача:

РС может помочь в выявлении гетерогенности опухоли: ее геномного, морфологического и метастатического потенциала

Основная проблема молекулярной онкологии:
гетерогенность опухоли



Интра - и интер-гетерогенность между раковыми клетками внутри одной опухоли и между опухолями одного и того же типа у разных пациентов. Полученные данные о внутриопухолевой гетерогенности свидетельствуют, что опухоли развиваются в процессе разветвленной эволюции с генетически отличными субклонами, которые приводят к рецидиву опухоли, лекарственной устойчивости и метастатическому потенциалу.

Роль в инвазивности рака, прогрессировании и метастазах

Оптимальное лечение и контроль опухоли

В начале будет производиться биохимическая характеристика различных областей опухоли. Затем карты анализируемых областей будут воспроизведены в виде уникальных иллюстраций биохимического состава и гетерогенности опухоли.

Понимание канцерогенеза и его развития

Методы Рамановской спектроскопии, применяемые в клиниках

Verisante Aura™ применяется для оценки поражений кожи, которые вызывают подозрение на меланому, плоскоклеточный рак и / или базально-клеточный рак. Aura™ - это неинвазивная оптическая система, разработанная в качестве инструмента для оказания помощи медицинским работникам при подозрении на рак кожи или доброкачественное заболевание. Время исследования составляет около 2 секунд. Verisante Aura™ - это неинвазивное устройство, которое использует Рамановскую спектроскопию для биохимического анализа кожи, обеспечивая немедленные и точные результаты.



Source: <https://www.medgadget.com/2011/10/verisante-aura-helps-automatically-spot-cancerous-lesions.html>

Методы Рамановской спектроскопии, применяемые в клиниках

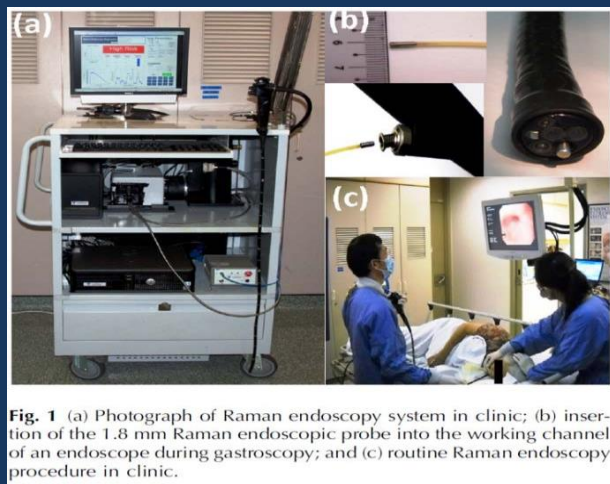


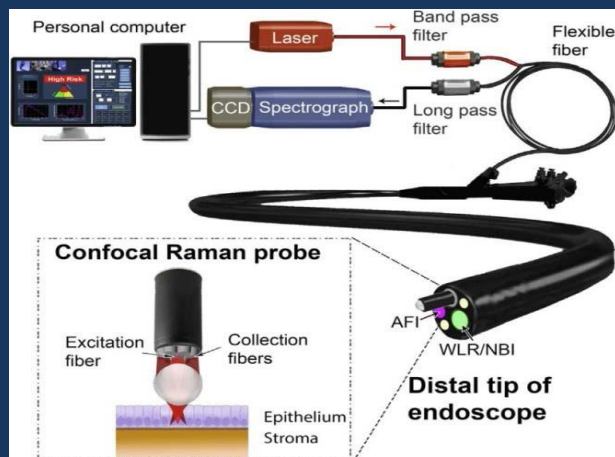
Fig. 1 (a) Photograph of Raman endoscopy system in clinic; (b) insertion of the 1.8 mm Raman endoscopic probe into the working channel of an endoscope during gastroscopy; and (c) routine Raman endoscopy procedure in clinic.

Duraipandian S, Sylvest Bergholt M, Zheng W, Yu Ho K, Teh M, Guan Yeoh K, Bok Yan So J, Shabbir A, Huang Z.

Рамановская спектроскопия в реальном времени для диагностики рака желудка in vivo в режиме онлайн во время клинического эндоскопического исследования.

J Biomed Opt. 2012 Aug;17(8):081418. doi: 10.1117/1.JBO.17.8.081418.

СИНГАПУР



Lin K, Wang J, Zheng W, Ho KY, Teh M, Yeoh KG, Huang Z.

Быстрая волоконно-оптическая Рамановская спектроскопия для выявления метаплазии желудочно-кишечного тракта в реальном времени In Vivo во время клинической гастроскопии.

Cancer Prev Res 2016 Jun;9(6):476-83. doi: 10.1158/1940-6207.CAPR-15-0213.
Epub 2016 Mar 31.

Методы Рамановской спектроскопии, применяемые в клиниках

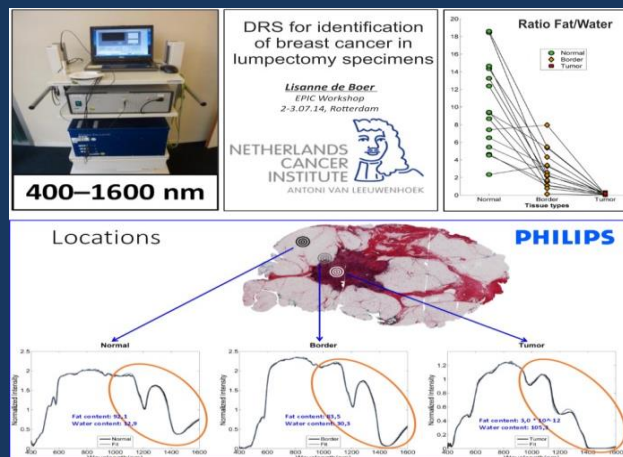
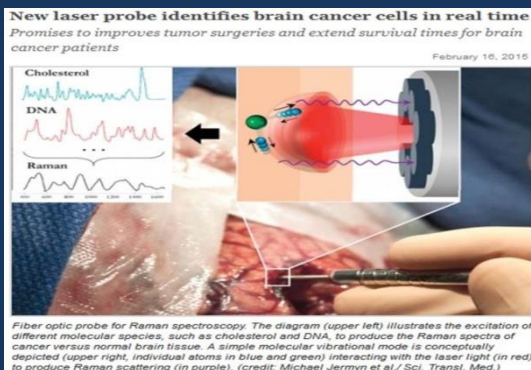


Jermyn M, Mok K, Mercier J, Desroches J, Pichette J, Saint-Arnaud K, Bernstein L, Guiot MC, Petrecca K, Leblond F.

Интраоперационное выявление рака головного мозга у человека с помощью Рамановской спектроскопии.

Sci Transl Med. 2015 Feb 11;7(274):274ra19. doi: 10.1126/scitranslmed.aaa2384.

КАНАДА



L.L. De Boer, B.G. Molenkamp, J. Wesseling, B.H.W. Hendriks, T.M. Bydlon, T.J.M. Ruers

Оценка границ опухолевой зоны в образцах для лампэктомии рака молочной железы с помощью инфракрасной спектроскопии диффузного отражения (Drs)

Annals of Oncology 25 (Supplement 4): iv85–iv109, 2014
doi:10.1093/annonc/mdu327.63

НИДЕРЛАНДЫ

ВЫВОДЫ

Спектры комбинационного рассеяния могут быть получены быстрым, автоматизированным и неинвазивным способом.

Многочисленные доклинические исследования проверки концепции показали преимущества диагностики на основе Рамановской спектроскопии в различных областях медицины.

Стандартизация Рамановской спектроскопии является одной из самых существенных проблем для ее перевода в клинику. Для удовлетворения требований стандартизации недавно были созданы междисциплинарные и многоцентровые сети, такие как Raman4Clinics (EU COST Action BM1401) и международное общество клинической спектроскопии (ClirSpec), целью которых является сравнение более 35 приборов и установок Рамановской спектроскопии в 7 европейских странах (50 участвующих институтов).

Передача технологии Рамановской спектроскопии в клинику может быть очень полезна во многих областях медицины и находится на пути к тому, чтобы стать настоящим диагностическим методом.

Email: giulietta.rau@ism.cnr.it

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!



**Institute of the Structure of Matter,
Italian National Research Council,
Rome, Italy**

