

<https://doi.org/10.37174/2587-7593-2024-7-2-37-45>

МЕТОД ОЦЕНКИ МЕСТНОГО МЕТАБОЛИЗМА ОПУХОЛЕЙ МОЛОЧНЫХ ЖЕЛЕЗ НА ОСНОВЕ МУЛЬТИМОДАЛЬНОЙ ОПТИЧЕСКОЙ ТЕХНОЛОГИИ

© Арабачян М.И.^{1,2*}, Шуплецов В.В.³, Кириллин М.Ю.⁴, Дунаев А.В.³, Потапова Е.В.³

¹ Смоленский государственный медицинский университет Минздрава России; Россия, 214019 Смоленск, ул. Крупской, 28

² Смоленский областной онкологический клинический диспансер; Россия, 214000 Смоленск, ул. Маршала Жукова, 19

³ Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева; Россия, 302026 Орел, ул. Комсомольская, 95

⁴ Институт прикладной физики им. А.В. Гапонова-Грехова РАН; Россия, 603950 Нижний Новгород, ул. Ульянова, 46

Реферат

Актуальность. Рак молочной железы (РМЖ) является самым распространенным онкологическим заболеванием среди женского населения во всем мире. На его долю приходится более 16 % всех случаев злокачественных новообразований у женщин. Техническое развитие лучевых методов диагностики опухолей молочных желез привело к увеличению доли выявляемых при обследовании непальпируемых образований, в связи с чем появилась необходимость усовершенствования методик получения биоптатов опухолей с использованием средств навигационного контроля. Также важным аспектом успешности лечения и выбора терапевтической стратегии является информация о метаболическом статусе опухоли, который играет роль в патоморфологическом ответе на проводимую терапию. Одними из общепризнанных методик оценки местного метаболизма опухолей являются оптические технологии — флуоресцентная спектроскопия и спектроскопия диффузного отражения.

Цель. Оценка эффективности применения мультимодальной оптической диагностики в определении метаболического статуса опухолей молочных желез у пациенток с подозрением на РМЖ *in vivo* в ходе выполнения биопсии.

Материал и методы. Проведены обследования 21 пациентки с новообразованиями молочных желез, которым помимо стандартных методик обследования проводилась оценка местного метаболизма опухолей методами флуоресцентной спектроскопии и спектроскопии диффузного отражения с помощью специально разработанного устройства с тонкоигольным оптоволоконным зондом.

Результаты. Установлено, что злокачественные опухоли молочных желез обладают более низкими значениями тканевой сатурации (6,6 % [5,7–24,8 %], Me [Q1–Q3]) по сравнению как с доброкачественными опухолями (66,3 % [43,7–74,8 %]), так и с окружающей здоровой тканью (79,0 % [77,6–84,4 %]). Также обнаружено, что злокачественные опухоли имеют более высокие значения интенсивности флуоресценции на длине волны возбуждения 365 нм (6157 отн.ед. [2188–8814 отн.ед.]) по сравнению с доброкачественными (2962 отн.ед. [1924–4301 отн.ед.]), что может быть связано с накоплением кофермента НАДН или изменениями коллагенового матрикса.

Заключение. Предложенный метод оценки местного метаболизма опухолей молочных желез может применяться для улучшения результатов прицельных биопсий под ультразвуковым контролем и оценки лечебного патоморфоза РМЖ. С целью оценки эффективности данного метода диагностики требуется продолжение исследования с набором большего количества пациенток для получения статистически достоверных данных.

Ключевые слова: рак молочной железы, оптическая диагностика, флуоресцентная спектроскопия, спектроскопия диффузного отражения, тонкоигольная аспирационная биопсия, ультразвуковая навигация

Для цитирования: Арабачян М.И.*, Шуплецов В.В., Кириллин М.Ю., Дунаев А.В., Потапова Е.В. Метод оценки местного метаболизма опухолей молочных желез на основе мультимодальной оптической технологии. Онкологический журнал: лучевая диагностика, лучевая терапия. 2024;7(2):37-45.

<https://doi.org/10.37174/2587-7593-2024-7-2-37-45>

<https://doi.org/10.37174/2587-7593-2024-7-2-37-45>

METHOD FOR ASSESSING LOCAL METABOLISM OF MAMMARY TUMORS BASED ON MULTIMODAL OPTICAL TECHNOLOGY

© Mariam I. Arabachyan^{1,2*}, Valeriy V. Shupletsov³, Mikhail Y. Kirillin⁴, Andrey V. Dunaev³, Elena V. Potapova³

¹ Smolensk State Medical University; Russia, 214019 Smolensk, st. Krupskaya, 28

² Smolensk Regional Oncology Clinical Dispensary; Russia, 214000 Smolensk, st. Marshala Zhukova, 19

³ I.S. Turgenev Oryol State University; Russia, 302026 Orel, st. Komsomolskaya, 95

⁴ A.V. Gaponov-Grekhov Institute of Applied Physics; Russia, 603950, Nizhny Novgorod, st. Ulyanova, 46

Abstract

Introduction. Breast cancer (BC) is the most common malignant tumor in women worldwide. It amounts more than 16 % of all cases of malignant neoplasms in women. Modern advances in radiological methods of breast tumors detection significantly increased the number of non-palpable neoplasms revealed during examinations, while further progress requires the development

of improved minimally invasive techniques for obtaining biopsy material from breast tumors using tools of navigational controls. An approach with high potential for direct evaluation of local tumor metabolism consists in complementary use of fluorescence spectroscopy and diffuse reflectance spectroscopy.

Purpose: Evaluation of the effectiveness of a new complementary approach for the diagnosis of the metabolic status of breast tumors in patients suspicious for breast cancer.

Material and methods. This article presents the results of the examination of 21 patients with breast neoplasms who, in addition to standard examination methods, including ultrasound, X-ray mammography, puncture biopsy and trepanobiopsy, were subject to evaluation of local tumor metabolism with complementary employment of fluorescence spectroscopy and diffuse reflectance spectroscopy.

Results. It has been established that the malignant breast tumors have lower saturation values compared with both benign tumors and the surrounding healthy tissue: $StO_2(BC) = 6,6\%$ [5,7–24,8 %]; 79,0 % [77,6–84,4 %], $StO_2(\text{fibroadenoma}) = 66,3\%$ [43,7–74,8 %]. It is also found that the malignant tumors have higher values of NADPH compared with the benign tumors (INAD(P)H(BC) = 6157 a.u. [2188–8814 a.u.]; INADH (fibroadenoma) = 2962 a.u. [1924–4301 a.u.]).

Conclusion. The new method of the diagnosis of the local breast tumor metabolism can be further used to improve the results of targeted biopsies under ultrasound control and to assess the therapeutic pathomorphosis of BC. To evaluate the effectiveness of this diagnostic method, it is necessary to continue the study with a larger number of patients in order to obtain statistically reliable data.

Key words: breast cancer, optical diagnostics, fluorescence–reflection spectroscopy, fine needle aspiration biopsy, ultrasound navigation

For citation: Arabachyan MI*, Shupletsov VV, Kirillin MY, Dunaev AV, Potapova EV. Method for Assessing Local Metabolism of Mammary Tumors Based on Multimodal Optical Technology. Journal of Oncology: Diagnostic Radiology and Radiotherapy. 2024;7(2):37-45. (In Russ.).

<https://doi.org/10.37174/2587-7593-2024-7-2-37-45>

Введение

На сегодняшний день отмечается неуклонный рост заболеваемости раком молочной железы (РМЖ) и смертности от онкологических заболеваний среди женского населения во всем мире, несмотря на постоянное совершенствование существующих методов диагностики данной патологии и появление новых методик лечения. Только в 2020 г. РМЖ был диагностирован у 2,3 млн женщин, при этом было зарегистрировано 685 тысяч случаев смерти от данного заболевания [1]. Совершенствование методов лучевой диагностики привело к увеличению доли выявляемых непальпируемых опухолей молочных желез. В связи с этим все большее значение придается методам диагностики, повышающим информативность прицельных биопсий новообразований [2]. Именно рациональный выбор приоритетного метода биопсии и способа навигационного контроля позволяет обеспечить постановку корректного диагноза в кратчайшие сроки [3].

Одним из наиболее часто применяемых методов биопсии опухолей молочных желез является тонкоигольная аспирационная биопсия (ТАБ). Данная методика получила широкое распространение за счет эффективности, безопасности, малой травматичности и простоты выполнения диагностической процедуры. Диагностическая точность ТАБ непальпируемых образований молочной железы под контролем ультразвукового исследования (УЗИ) составляет от 67 до 76 % [4]. В тех случаях,

когда ТАБ оказывается малоинформативной, рекомендуется проведение трепанобиопсии опухолей с целью получения материала для гистологического исследования [5]. Для повышения информативности данных методов диагностики рекомендуется выполнять их под УЗ-контролем. УЗ-навигация значительно повышает эффективность диагностики даже в случае пальпируемых образований. Однако в 23–28 % случаев при проведении ТАБ под УЗ-контролем регистрируется получение неинформативного материала. Частота ложноотрицательных результатов при биопсии как пальпируемых, так и непальпируемых опухолей может достигать 28–35 % [6]. В связи с этим возникает необходимость усовершенствования традиционной методики ТАБ для повышения ее информативности и, тем самым, увеличения доли раннего выявления РМЖ в общей структуре заболеваемости.

Системная лекарственная терапия является неотъемлемой частью лечения больных с локализованными стадиями РМЖ (I–III). Основными целями химиотерапии являются элиминация отдаленных микрометастазов рака с целью снижения дальнейшего прогрессирования заболевания, а также возможность дэскалации объема последующего хирургического лечения [7]. На сегодняшний день не существует клинически признанных прогностических параметров, которые могли бы дать представление о вероятности ответа конкретной опухоли на проводимое лечение. Функциональные по-

казатели, которые количественно определяют насыщение тканей кислородом, параметры кровоснабжения, а также метаболизм опухоли, в этом контексте в значительной степени не изучены и могут быть тесно связаны с химиочувствительностью и ответом опухолей на терапию.

Результаты исследований последних лет позволяют говорить о возможности повышения информативности ТАБ, а также оценки перфузионно-метаболических характеристик биологических тканей непосредственно в ходе ее проведения при использовании ТАБ совместно с методами оптической диагностики, в том числе флуоресцентной спектроскопией (ФС) и спектроскопией диффузного отражения (СДО) [8].

Метод ФС основан на возбуждении флуоресценции в биологических тканях под действием света ультрафиолетового или видимого диапазона с последующей регистрацией спектрометром испускаемого излучения. Суммарная интенсивность автофлуоресценции эндогенных флуорофоров связана с биохимическими, функциональными и структурными изменениями биомолекулярных комплексов непосредственно в живых клетках и тканях [9].

Кофактор НАДН (восстановленный никотинамидадениндинуклеотид) играет важную роль переносчика электронов и протонов в реакциях энергетического метаболизма клетки [10]. Когда ткань становится дезоксигенированной, ее окислительно-восстановительное состояние меняется, и это влечет за собой увеличение интенсивности флуоресценции НАДН [11]. Спектр возбуждения НАДН лежит в районе 300–400 нм с пиком на длине волны ~ 365 нм, спектр эмиссии — в диапазоне 400–600 нм с максимумом на длине волны ~ 470 нм [12]. Таким образом, оценивая интенсивность автофлуоресценции этого эндогенного флуорофора, можно косвенно предсказывать гибель клетки, диагностировать состояние тканевой ишемии, либо, напротив, говорить о ее злокачественной активности [13].

В основе метода СДО лежит регистрация и анализ спектров диффузного отражения биологической ткани при её освещении полихроматическим светом. По сигналу отражательной способности тканей возможно определять биохимические свойства интересующей области, в том числе по спектральным изменениям в поглощающих свойствах гемоглобина можно судить о наличии тканевой гипоксии, ишемии участков биологической ткани и др. [14–16].

Современной тенденцией в развитии биомедицинской оптической диагностики является мультимодальный подход, когда в одной диагностической технологии комбинируются различные оптические методы исследования, что позволяет обеспечить высокую диагностическую эффективность исследований [18]. Предлагаемый подход регистрации спектров флуоресценции и диффузного отражения через тонкоигольный зонд в тканях молочной железы у пациенток с подозрением на РМЖ может позволить определить метаболический статус опухолей путем оценки тканевой сатурации, а также косвенного измерения содержания кофермента НАДН в исследуемой биоткани посредством измерения интенсивности флуоресценции при возбуждении на длине волны 365 нм.

Цель исследования

Оценка перспектив использования мультимодальной технологии определения местного метаболизма опухолей молочных желез с помощью комплементарного применения ФС и СДО для уточнения диагноза и оценки лечебного патоморфоза РМЖ до и/или после неoadъювантной терапии.

Материал и методы

Данная научно-исследовательская работа выполнена на базе Смоленского областного онкологического клинического диспансера. Все исследования проведены в соответствии с принципами биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующих обновлениях, и одобрены независимым этическим комитетом при Клинической больнице №1 (Смоленск) (протокол № 2-Б от 19.04.2023). Все участники экспериментальных исследований были ознакомлены с содержанием исследования и подписывали бланк информированного согласия с указанием их готовности к участию в исследованиях. В течение одного года была обследована группа пациенток (21 человек) с новообразованиями молочных желез. Стандартный протокол обследования включал в себя УЗИ молочных желез, рентгеновскую маммографию, ТАБ и трепанобиопсию опухолей с последующим гистологическим и иммуногистохимическим (ИГХ) исследованиями биоптатов.

Обследуемые пациентки подразделялись на две группы: 1 группа — с РМЖ (n = 13), 2 группа — с доброкачественными опухолями —

Молекулярно-биологический подтип РМЖ

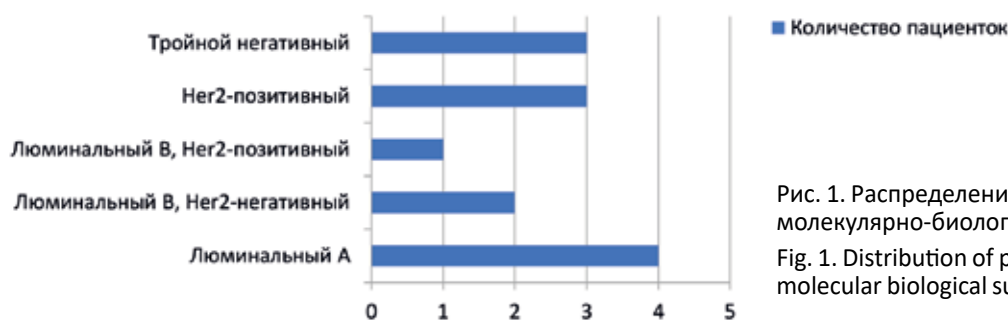


Рис. 1. Распределение пациенток с РМЖ по молекулярно-биологическим подтипам (n = 13)
Fig. 1. Distribution of patients with breast cancer by molecular biological subtypes (n = 13)

фиброаденомами (ФА) (n = 8). Среди женщин с РМЖ, согласно данным ИГХ, преобладали опухоли с люминальными биологическими подтипами. Люминальный А подтип встречался у 31 % (n = 4) пациенток, люминальный В — у 23 % (n = 3). Тройной негативный РМЖ был у 23 % (n = 3) женщин, у остальных 23 % (n = 3) выявлен Her2-позитивный биологический подтип (рис. 1). 46 % обследованных женщин (n = 6) проводилась неoadъювантная ПХТ (антрациклин/таксансодержащие комбинации), 15,5 % (n = 2) — ПХТ совместно с таргетной терапией, 15,5 % (n = 2) — ПХТ с гормональной терапией (ингибиторами ароматазы), остальным 23 % (n = 3) на момент обследования не проводилась лекарственной терапии. Среди пациенток с доброкачественными новообразованиями молочных желез, согласно данным цитологического исследования, преобладали опухоли с умеренной пролиферацией кубического эпителия — 75 % (n = 6), у остальных 25 % отмечалась выраженная пролиферация эпителия (n = 2).

Помимо стандартного обследования выполнялось исследование выявленных опухолей при помощи мультимодальной технологии оценки местного метаболизма тканей. Данный этап проводился с помощью разработанного в научно-технологическом центре биомедицинской фотоники Орловского государственного университета им. И.С. Тургенева программно-аппаратного комплекса флуоресцентно-отражательной спектроскопии [19]. Устройство включает канал ФС (длина волны возбуждения флуоресценции 365 нм) и канал СДО с широкополосным источником излучения света (галогенная лампа). Для регистрации спектров ФС и диффузного отражения используется малогабаритный ПЗС-спектрометр (рис. 2а). Передача и прием оптического излучения в устройстве осуществляется с помощью специально разработанного тонкоигольного волоконно-оптического зонда диаметром 1,1 мм (19G) (рис. 2б).

Регистрация спектров флуоресценции и диффузного отражения проводилась перед выполнением ТАБ или трепанобиопсии в центральной части опухоли, в периферии опухолевой ткани и неизменной железистой ткани молочной железы под УЗ контролем (рис. 2в). В каждой из исследуемых областей сигналы ФС и СДО регистрировались по 5 раз, после обработки результаты измерений в каждой точке усреднялись. Общее время регистрации оптических сигналов составляло не более 1,5 мин.

Спектры диффузного отражения были предварительно нормированы на спектры используемой галогенной лампы, полученные при освещении эталона диффузного отражения, изготовленного из спектралона. Далее проводилось определение тканевой сатурации (StO₂). Значение StO₂ рассчитывалось на основании нормированных спектров обратного рассеяния в интервале 500–600 нм с помощью диффузионного приближения для бесконечной среды. Спектр приведенного коэффициента рассеяния моделировался линейной комбинацией степенных функций, а спектр коэффициентов поглощения — линейной комбинацией спектров поглощения окси- и дезоксигемоглобина, а также постоянной компоненты, имитирующей вклад остальных хромофоров без ярко выраженной дисперсии поглощающих свойств в рассматриваемом спектральном диапазоне. Аналогичный подход ранее использовался в работе [20].

Канал ФС использовался для косвенной оценки содержания кофермента энергетического метаболизма НАДН. Определение содержания кофермента НАДН проводилось путем оценки максимума в спектре ФС (I₃₆₅) при возбуждении на длине волны 365 нм после усреднения спектров в каждой области исследования.

В работе приведены результаты пилотных исследований. Часть полученных данных не была включена в обработку из-за низкого соотношения сигнал/шум или низкого содержания крови в диагностическом объеме.

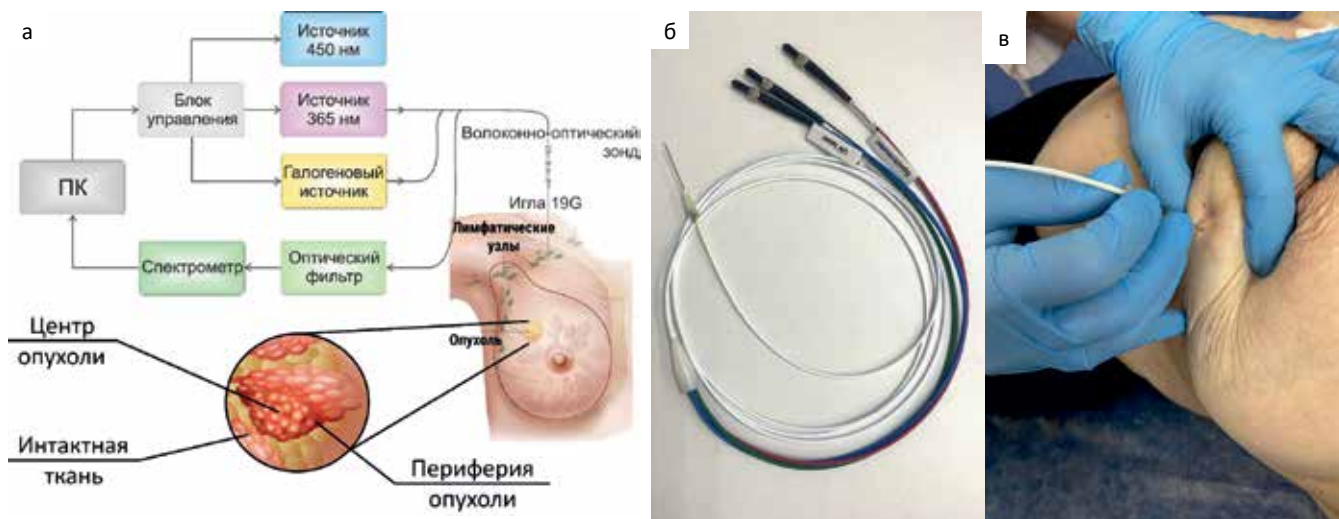


Рис. 2. Метод оценки местного метаболизма опухолей молочных желез: а — структурная схема программно-аппаратного комплекса с объектом исследования; б — фотография разработанного тонкоигольного волоконно-оптического зонда диаметром 1,1 мм (19G); в — введение тонкоигольного волоконно-оптического зонда в опухоль молочной железы

Fig. 2. Method for assessing the local metabolism of mammary gland tumors: a — structural diagram of the software and hardware complex with the object of study; б — photograph of the developed fine-needle fiber-optic probe with a diameter of 1.1 mm (19G); в — introduction of a fine-needle fiber-optic probe into the breast tumor

Статистическую обработку полученных данных выполняли в программной среде OriginPro 2021. Полученные результаты представлены в виде диаграмм размаха. Для определения различий показателей внутри одной группы применяли критерий Краскела–Уоллиса, для сравнений между группами использовали критерий Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. В тексте статьи данные представлены в формате Me [Q1–Q3], где Me — медиана, Q1 — первый квартиль, Q3 — третий квартиль.

Результаты исследования

В результате обработки полученных данных в канале СДО (рис. 3) было установлено, что опухоли злокачественного генеза имели более низкие значения тканевой сатурации $StO_2(РМЖ_{центр}) = 6,6\% [5,7-24,8\%]$ по сравнению с окружающей нормальной тканью $StO_2(РМЖ_{норм.}) = 79,0\% [77,6-84,4\%]$, $p < 0,05$. В периферических опухолевых тканях также было обнаружено снижение тканевой сатурации относительно нормальной ткани $StO_2(РМЖ_{периф.}) = 23,0\% [47,8-61,4\%]$. В добро-

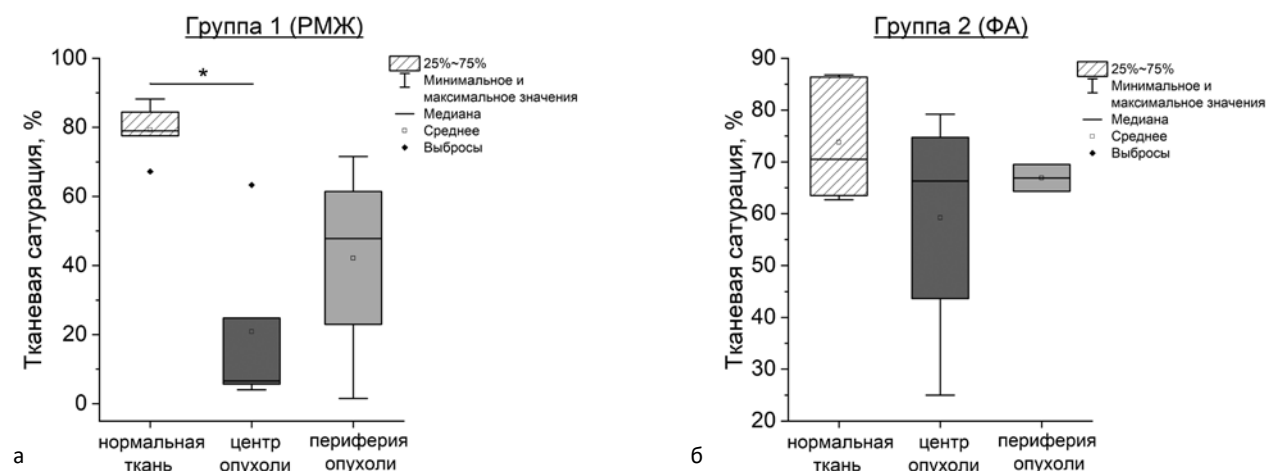


Рис. 3. Значения тканевой сатурации: а — в фиброаденомах молочной железы (n = 8); б — в злокачественных опухолях молочной железы (n = 13) * Различия в группах значимы при уровне $p < 0,05$ (критерий Краскела–Уоллиса)

Fig. 3. Tissue saturation values: а — in breast fibroadenomas (n = 8); б — in malignant breast tumors (n = 13)

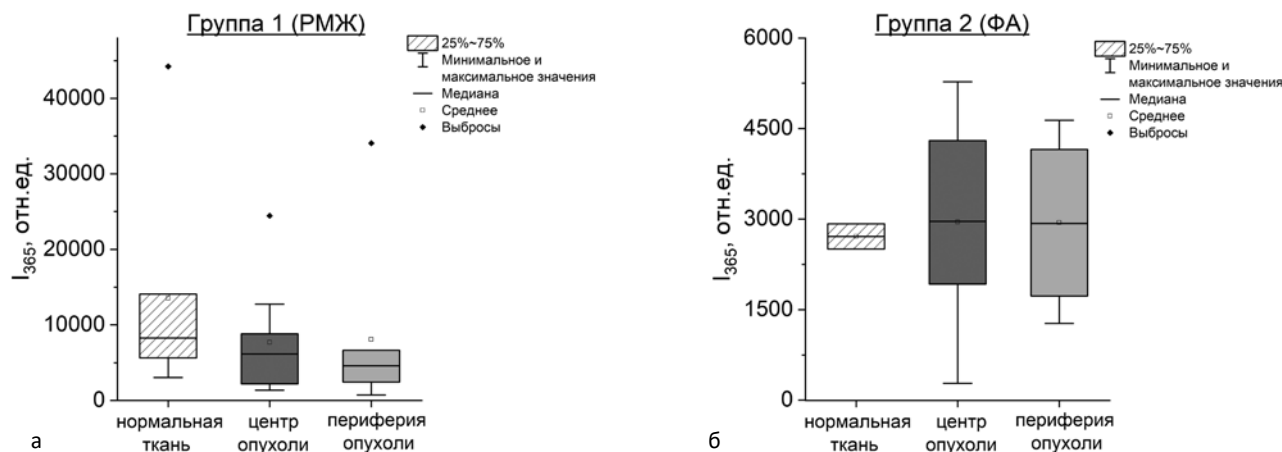


Рис. 4. Значения интенсивности флуоресценции при возбуждении на длине волны 365 нм: а — в злокачественных опухолях молочной железы (n = 13); б — в фиброаденомах молочной железы (n = 8)

Fig. 4. Fluorescence intensity values upon excitation at a wavelength of 365 nm: а — in malignant breast tumors (n = 13); б — in breast fibroadenomas (n = 8)

качественных опухолях не наблюдалось статистически значимой разницы тканевой сатурации в центре опухоли $StO_2(FA_{\text{центр}}) = 66,3\%$ [43,7–74,8 %] и ее периферических отделах $StO_2(FA_{\text{периф.}}) = 70,5\%$ [63,5–86,4 %] по сравнению с неизменной железистой тканью молочной железы $StO_2(FA_{\text{норм.}}) = 66,9\%$ [64,3–69,5 %]. Однако следует отметить, что центр опухоли характеризуется минимальными значениями сатурации, измеренными в пациентах с фиброаденомами.

При сравнении показателя оксигенации ткани в центре опухоли между двумя группами были получены статистически значимые различия по критерию Манна-Уитни ($StO_2(PMJ_{\text{центр}}) = 6,6\%$ [5,7–24,8 %] vs $StO_2(FA_{\text{центр}}) = 66,3\%$ [43,7–74,8 %], $p < 0,05$).

При анализе данных в канале ФС было выявлено (рис. 4), что злокачественные опухоли имеют тенденцию к более высоким значениям интенсивности флуоресценции при возбуждении на длине волны 365 нм по сравнению с доброкачественными $I_{365}(PMJ_{\text{центр}}) = 6160$ отн. ед. [2190–8810 отн. ед.]; $I_{365}(FA_{\text{центр}}) = 2960$ отн. ед. [1920–4300 отн. ед.]. Также в целом наблюдалось увеличение интенсивности флуоресценции в тканях пациенток с РМЖ $I_{365}(PMJ_{\text{норм}}) = 8280$ отн. ед. [5650–14100 отн. ед.] по сравнению со второй группой обследуемых в нормальной ткани $I_{365}(FA_{\text{норм}}) = 2710$ отн. ед. [2510–2920 отн. ед.]. В периферической области опухолей также наблюдается статистически значимая разница: $I_{365}(PMJ_{\text{периф.}}) = 4580$ отн. ед. [2440–6660 отн. ед.] и $I_{365}(FA_{\text{периф.}}) = 2930$ отн. ед. [1730–4150 отн. ед.].

Обсуждение

На сегодняшний день для оценки эффективности проведенной лекарственной терапии до хирургического вмешательства по поводу РМЖ используются данные инструментальных методов диагностики (рентгеновская маммография, ультразвуковое исследование, магнитно-резонансная томография). Однако в ряде случаев они могут не совпадать с результатами послеоперационного гистологического исследования, что может отразиться в последующем на дальнейшем течении заболевания в связи с некорректной интерпретацией диагностических данных и/или выбором неоптимальной стратегии лечения. Использование оптических методов в комплексе с существующими методиками обследования может позволить повысить эффективность дооперационной диагностики лечебного патоморфоза.

Изучение механизмов гипоксии как патологического процесса является актуальным вопросом в различных областях медицины и, в частности, онкологии [21, 22]. Известно, что низкий уровень StO_2 в злокачественных опухолях относительно окружающей нормальной ткани является предиктором незначительного ответа на химиотерапию, а также может использоваться для оценки эффективности проведенной неoadъювантной полихимиотерапии. Это утверждение основывается на предположении, что опухоли, которые хорошо кровоснабжаются и имеют высокий кислородный статус на ранних стадиях лечения, и, следовательно, не являются гипоксическими по сравнению со

здоровыми тканями, могут отвечать на химиотерапию более существенно.

Полученные нами предварительные результаты показали, что злокачественные опухоли имеют более низкую тканевую сатурацию по сравнению с окружающей нормальной тканью, а также в сравнении с доброкачественными новообразованиями. К сожалению, из-за ограниченного набора качественных данных на данном этапе сложно оценить взаимосвязь параметра StO_2 с молекулярно-биологическим подтипом РМЖ, что станет предметом дальнейших исследований. Наши результаты согласуются с исследованиями здоровых и патологических участков тканей злокачественных новообразований методом оптической диффузионной томографии, при которых установлено, что в зоне опухоли концентрация окисленного и восстановленного гемоглобина выше, чем в окружающих здоровых тканях, а уровень насыщения кислородом по сравнению с ними был снижен [23]. Стоит отметить, что наши исследования также подтверждают данные о тканевой сатурации, полученные методом тонкоигольной оптической биопсии на основе СДО в ИК-области, которые показывают, что в центре злокачественных опухолей StO_2 значительно ниже, чем в фиброаденомах.

Применение ФС для диагностики РМЖ является общепризнанной технологией [24]. Флуоресцентная диагностика РМЖ основывается на различиях в концентрациях эндогенных флуорофоров — коллагена, эластина, НАДН и флавинадениндинуклеотида (ФАД) — в здоровых и злокачественных тканях. Большая часть исследований, в основу которых положена регистрация интенсивности флуоресценции, возбужденной на длинах волн около 360 нм, указывает на повышенные концентрации НАДН и коллагена в злокачественных тканях по сравнению с нормальной тканью молочной железы [25, 26]. При переходе клеток на анаэробный гликолиз в условиях гипоксии изменение цепи дыхательных ферментов инициализируется на НАДН-зависимом участке, что выражается в кратковременном усилении, а затем подавлении работы этого участка митохондриального комплекса. Гипоксия приводит к накоплению НАДН и усилению его автофлуоресценции, что позволяет использовать его как маркер нарушения функции митохондрий, вызванных дефицитом кислорода в клетках.

Увеличение интенсивности коллагена обусловлено тем, что при трансформации нормальной ткани в злокачественную происходит

деградация и изменению поперечных связей коллагена, вызванных повышенным присутствием коллагеназы в опухолевых клетках [27]. Наблюдаемое в данной работе увеличение максимума в спектре интенсивности флуоресценции, возбужденной на длине волны 365 нм в группе с РМЖ, также может быть связано с увеличением концентрации НАДН в условиях гипоксии. Однако, стоит отметить, что разделить влияние НАДН и коллагена при таком подходе к анализу данных (поиск максимума в сигнале ФС) не является возможным, поэтому, скорее всего, дополнительно это обусловлено изменением структуры коллагенового матрикса.

Интересным результатом проведенного исследования, на который важно обратить внимание, является то, что максимальное значение параметра I_{365} наблюдается в неизменной железистой ткани молочной железы у пациенток с диагнозом РМЖ. Это может быть следствием системных изменений тканевого метаболизма и архитектоники коллагеновых волокон, вызванных наличием злокачественной опухоли. Обнаружение таких изменений в нормальных тканях при обследовании пациенток с подозрением на РМЖ потенциально может служить диагностическим предиктором малигнизации новообразований молочных желез.

Выводы

Данное пилотное исследование позволило выявить возможности предложенной мультимодальной технологии оценивать местный метаболизм опухолей молочной железы путем измерения тканевой сатурации и косвенной оценки содержания кофактора НАДН в тканях.

Основными ограничениями этого исследования являются относительно небольшое количество обследуемых, сильно варьирующиеся схемы лекарственной терапии и различные молекулярные подтипы опухолей в когорте пациентов. Кроме того, в пилотном исследовании наблюдался довольно высокий процент отсева данных из-за низкого уровня сигнал-шум и малого содержания крови в измерительном объеме, что вносило потенциальную погрешность в статистический анализ. Необходимо продолжение исследования для получения большей выборки и, соответственно, статистически достоверных данных. Набор расширенной группы пациентов позволит разделить их на подгруппы по подтипу опухоли и/или режиму химиотерапии.

Таким образом, в настоящий момент оптическая биопсия не может заменить «золотой стандарт» комплексной гистологической и ИГХ-диагностики РМЖ, однако может использоваться для повышения информативности прицельных биопсий опухолей молочной железы, а также для оценки степени лечебного патоморфоза после неoadъювантного лечения. Данная возможность потенциально может улучшить результаты лечения пациентов на ранних стадиях заболевания за счет оптимизации стратегии лечения отдельных пациентов и предотвращения ненужных побочных эффектов от неэффективной терапии.

Список литературы / References

1. Рябчиков ДА, Петровский АВ. Рак молочной железы: руководство для врачей. Москва, 2023. 398с. Ryabchikov DA, Petrovsky AV. Breast cancer: a guide for doctors. Moscow, 2023. 398 p. (In Russ.).
2. Yeo SH, Kim GR, Lee SH. Comparison of ultrasound elastography and color Doppler ultrasonography for distinguishing small negative breast cancer from fibroadenoma. *J Ultrasound Med.* 2018;37(9):2135-46.
3. Рожкова НИ. Интервенционная радиология в клинической маммологии. Москва: СПОМ, 2006. 112 с. Rozhkova NI. Interventional radiology in clinical mammology. Moscow, 2006. 112 p. (In Russ.).
4. Giuliani M, Rialdi P, Rella R, et al. Effect of needle size in ultrasound-guided core needle breast biopsy: comparison of 14-, 16-, and 18-gauge needle. *Clin Breast Cancer.* 2017;17(7):536-43.
5. Leong M, Mansor S, Gudi M. Correlation of nipple discharge cytology and subsequent histology. *Pathology.* 2020;52:S135.
6. Lell M, Wenkel E, Aichinger U, et al. 3D ultrasound in core breast biopsy. *Ultraschall. Med.* 2004;25(2):126-30.
7. Aiba E, Calvo L, Albanell J, et al. Chemotherapy (CT) and hormonotherapy (HT) as neoadjuvant treatment in luminal breast cancer patients: Results from the GEICAM/2006-03, a multicenter, randomized, phase-II study. *Ann Oncol.* 2012;23:3069-74.
8. Zherebtsov EA, Potapova EV, Mamoshin AV, et al. Fluorescence lifetime needle optical biopsy discriminates hepatocellular carcinoma. *Biomed Opt Express.* 2022;13:633-46.
9. Жеребцов ЕА и др. Флуоресцентная диагностика митохондриальной функции в эпителиальных тканях *in vivo*: Монография — Орел: ОГУ имени И.С. Тургенева, 2018. — 107 с. Zherebtsov EA, et al. Fluorescent diagnostics of mitochondrial function in epithelial tissues *in vivo*: monograph. Orel 2018. 107 p. (In Russ.).
10. Lukina MM, Shirmanova MV, Sergeeva TF, et al. Metabolic imaging for the study of oncological processes (review). *Modern Tehnologies in Medicine.* 2016;8(4):113-21, <https://doi.org/10.17691/stm2016.8.4.16>.
11. Mayevsky A, Chance B. Intracellular oxidation-reduction state measured in situ by a multichannel fiber-optic surface fluorometer. *Science (Wash. DC),* 1982;217:537-40.
12. Lukina MM, Shirmanova MV, Sergeeva TF, Zagaynova EV. Metabolic imaging for the study of oncological processes (review). *Modern Tehnologies in Medicine.* 2016; 8(4): 113-121, <https://doi.org/10.17691/stm2016.8.4.16>.
13. Schaefer PM, Kalinina S, Rueck A, et al. NADH autofluorescence—a marker on its way to boost bioenergetic research. *Cytometry Part A,* 2019;95(1):34-46.
14. Потапова ЕВ, Дремин ВВ, Жеребцов ЕА и др. Оценка микроциркуляторных нарушений у пациентов ревматологического профиля с использованием метода спектроскопии диффузного отражения, Физиология человека. 2017;2(43):116-24. Potapova EV, Dremin VV, Zherebtsov EA, et al. Assessment of microcirculatory disorders in rheumatological patients using the diffuse reflectance spectroscopy method. *Human Physiology.* 2017;2(43):116-24. (In Russ.).
15. Адаменков НА, Мамошин АВ, Дремин ВВ и др. Оценка перфузии кишечной стенки в условиях ишемии с применением метода гиперспектральной визуализации. *Оперативная хирургия и клиническая анатомия.* 2024;8(1):5-13. Adamenkov NA, Mamoshin AV, Dremin VV, et al. Assessment of intestinal wall perfusion under ischemic conditions using the hyperspectral imaging method. *Operative surgery and Clinical Anatomy.* 2024;8(1):5-13. (In Russ.).
16. Zherebtsov E, Dremin V, Popov A, et al. Hyperspectral imaging of human skin aided by artificial neural networks. *Biomed Opt. Express.* 2019;10:3545-3559.
17. Potapova E, Dremin V, Zherebtsov E, et al. Multimodal Optical Diagnostic in Minimally Invasive Surgery. *Multimodal Optical Diagnostics of Cancer.* Springer, Cham, 2020. P. 397-424.
18. Мамошин АВ, Потапова ЕВ, Дремин ВВ и др. Патент № 2709830 РФ, МПК А61В 6/00, G01N 21/47. Устройство флуоресцентно-отражательной спектроскопии для диагностики очаговых и диффузных новообразований при проведении тонкоигольной пункционно-аспирационной биопсии заявл. 21.12.2018; опубл. 23.12.2019 Бюл. № 36. Mamoshin AV, Potapova EV, Dremin VV, et al. Patent No. 2709830 Russian Federation, IPC A61B 6/00, G01N 21/47. Fluorescence reflectance spectroscopy device for the diagnosis of focal and diffuse neoplasms during fine-needle aspiration biopsy statement 12/21/2018; publ. 12/23/2019 Bulletin. No. 36. (In Russ.).
19. Turchin I, Beschastnov V, Peretyagin P, et al. Multimodal Optical Monitoring of Auto- and Allografts of Skin on a Burn Wound. *Biomedicines.* 2023;11:351.
20. Swartz, Harold M, et al. How best to interpret measures of levels of oxygen in tissues to make them effective clinical tools for care of patients with cancer and other oxygen-dependent pathologies. *Physiological Reports.* 2020;8(15): e14541.
21. Rickard AG, Palmer GM, Dewhirst MW. Clinical and pre-clinical methods for quantifying tumor hypoxia. *Hypoxia and Cancer Metastasis.* 2019:19-41.
22. Cochran J M, et al. Tissue oxygen saturation predicts response to breast cancer neoadjuvant chemotherapy within 10 days of treatment. *J Biomed Optics,* 2019;24(2):021202-021202.
23. Dramićanin T, Dramićanin M. Using fluorescence spectroscopy to diagnose breast cancer. *Appl Mol Spectrosc to Curr Res Chem Biol Sci.* 2016.

24. Zhu Changfang, et al. Fluorescence spectroscopy: an adjunct diagnostic tool to image-guided core needle biopsy of the breast. *IEEE Trans Biomed Eng.* 2009;56(10):2518-28.
25. Dramicanin T, et al. Biophysical characterization of human breast tissues by photoluminescence excitation-emission spectroscopy. *J Res Phys.* 2012;36(1):53.
26. Georgakoudi I, Jacobson BC, Muller MG, et al. NAD(P)H and collagen as *in vivo* quantitative fluorescent biomarkers of epithelial precancerous changes. *Cancer Research.* 2002;62:682-7.

Участие авторов

Статья подготовлена с равным участием авторов.

Authors' participation

Article was prepared with equal participation of the authors.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

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

Финансирование: Разработка и применение алгоритма для восстановления значения оксигенации на основании данных СДО поддержаны НЦМУ «Центр фотоники», при финансировании Министерством науки и высшего образования РФ, соглашение № 075-15-2022-316.

Financing: The development and application of an algorithm for restoring the oxygenation value based on SDO data was supported by the National Center for Medical Sciences "Photonics Center", with funding from the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, agreement No. 075-15-2022-316

Тип статьи: Оригинальная статья.

Article type: Original study

Поступила: 19.04.2024.

Received: 19.04.2024.

Принята к публикации: 10.06.2024.

Accepted for publication: 10.06.2024.

Опубликована online: 26.06.2024.

Published online: 26.06.2024.

Информированное согласие. Пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Informed consent. Patients signed informed consent to participate in the study.

Соответствие принципам этики. Одобрение этического комитета не требовалось.

Ethical compliance. Ethical committee approval was not necessary.

Сведения об авторах

*Для корреспонденции: Арабачян Мариам Иличовна — к.м.н., врач ультразвуковой диагностики, врач-онколог, с.н.с. ПНИЛ «Диагностические исследования и малоинвазивные технологии» ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» МЗ РФ; arabachyanmariam@mail.ru; AuthorID: 942283). arabachyanmariam@mail.ru, +79101169208.

Шуплецов Валерий Витальевич — аспирант, инженер-исследователь научно-технологического центра биомедицинской фотоники ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет имени И.С. Тургенева» Россия, Орел (valery.shupletsov@bmccenter.ru; ORCID: 0009-0006-0024-8518, AuthorID: 1239414). Кириллин Михаил Юрьевич — к.ф.-м.н., с.н.с. ФИЦ Институт прикладной физики им. А.В. Гапонова-Грехова РАН; kirillin@ipfran.ru; AuthorID: 153037.

Дунаев Андрей Валерьевич — д.т.н., в.н.с. научно-технологического центра биомедицинской фотоники ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева» dunaev@bmccenter.ru; AuthorID: 212404.

Потапова Елена Владимировна — к.т.н., с.н.с. научно-технологического центра биомедицинской фотоники ФГБОУ ВО «Орловский государственный университет им. И.С. Тургенева» potapova_ev_ogu@mail.ru; AuthorID: 240669.

Information about the authors

*Contacts: Mariam I. Arabachyan — arabachyanmariam@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0919-2083>, AuthorID: 942283. +79101169208.

Valery V. Shupletsov — <https://orcid.org/0009-0006-0024-8518>, AuthorID: 1239414.

Mikhail Y. Kirillin — <https://orcid.org/0000-0002-6804-6369>, AuthorID: 153037.

Andrey V. Dunaev — <https://orcid.org/0000-0003-4431-6288>, AuthorID: 212404.

Elena V. Potapova — <https://orcid.org/0000-0002-9227-6308>, AuthorID: 240669.