

ПРОБЛЕМНАЯ СТАТЬЯ

ПРИМЕНЕНИЕ LIBS В БИМЕДИЦИНСКИХ ИССЛЕДОВАНИЯХ
(BIO-LIBS)

Т.В. Коробейникова^{1,2*}, Г.Д. Морозова¹, Д.В. Мак¹, А.М. Вишневская^{1,2},
Н.Х. Кизима², М.В. Ерёмин³

¹ Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет),
Российская Федерация, 119991, Москва, ул. Трубевская, д. 8, стр. 2

² ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов»,
Российская Федерация, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6
АНО «Центр биотической медицины»
Российская Федерация, 105064, Москва, ул. Земляной Вал, д. 46

РЕЗЮМЕ. LIBS (Laser-Induced Breakdown Spectroscopy) – метод лазерно-искровой эмиссионной спектроскопии, позволяющий достоверно определять химический состав различных субстратов. Метод имеет как преимущества, так и недостатки по сравнению с широко используемыми в настоящее время в диагностике методами. Основным достоинством метода является отсутствие необходимости разложения образца перед проведением анализа. Однако LIBS имеет низкую точность и предел обнаружения. Результаты, полученные с помощью LIBS, согласуются с результатами, полученными методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой и масс-спектрометрией с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-АЭС, ИСП-МС) по макроэлементам, а также по токсичным элементам.

Цель обзора – формирование общего представления об использовании LIBS в медицине при анализе различных биологических субстратов.

На сегодняшний день опубликован ряд работ, в которых с помощью LIBS изучалось содержание элементов в твёрдых биосубстратах (ногти, волосы), жидких (цельная кровь, сыворотка, моча), а также в опухолевых тканях. Результаты исследований демонстрируют перспективность использования LIBS при диагностике различных заболеваний и при проведении скрининга. Необходима дальнейшая адаптация данного метода для исследования биообразцов, совершенствование алгоритмов калибровки и обработки полученных результатов.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: LIBS, спектроскопия, микроэлементы, элементный статус.

ВВЕДЕНИЕ

LIBS (Laser-Induced Breakdown Spectroscopy) – метод лазерно-искровой эмиссионной спектроскопии, который, по мнению исследователей, позволяет достоверно определять химический состав твёрдых, жидких, газообразных субстратов (Song et al., 2002). Известно использование LIBS для анализа образцов биологических тканей (Singh and Rai, 2011), продуктов питания (Stefas et al., 2022), минералов и геологических образцов (Sweetapple, Tassios, 2015), полимеров (Gottfried et al., 2008), в микробиологии (Rehse et al., 2007; Singh et al., 2018).

К преимуществам данного метода относится высокая скорость выполнения анализа и чувствительность. Также к достоинствам LIBS мож-

но отнести тот факт, что, в отличие от масс-спектрометрии с индуктивно связанной плазмой, атомно-абсорбционной спектроскопии, образец для анализа не требует разложения, а в ряде случаев специальная подготовка образца не требуется вовсе, что позволяет значительно снизить вероятность ошибок на преаналитическом этапе исследования (Rehan et al., 2021). Однако метод лазерно-искровой эмиссионной спектроскопии имеет более низкую точность и предел обнаружения. Кроме того, LIBS требует калибровки, строго соответствующей матрице анализируемого субстрата (Singh and Rai, 2011). В процессе измерения луч лазера направляется и фокусируется на поверхность образца, который должен находиться на оптимальном расстоянии от при-

* Адрес для переписки:

Коробейникова Татьяна Викторовна
E-mail: tatcvetk@yandex.ru

бора, что приводит к инициации лазерной абляции. В результате данного процесса образуется плазма, испускающая излучение (Cremers, Chinni, 2009). Дальнейшая регистрация излучения спектрометром позволяет получить определённые спектральные линии, соответствующие элементам, входящим в состав образца (Pasquini et al., 2007). Интенсивность излучения, в свою очередь, отражает концентрацию элементов в субстрате (Cremers and Chinni, 2009).

Результаты, полученные с помощью LIBS, согласуются с результатами, полученными методами атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой и масс-спектрометрии с индуктивно-связанной плазмой (ИСП-АЭС, ИСП-МС) по макроэлементам, а также по токсичным элементам (Rehan et al., 2018; Rehan et al., 2021).

В настоящее время растёт осведомлённость о диагностической значимости обнаружения эссенциальных и токсичных химических элементов в различных субстратах (Tinkov et al., 2021). В последние годы число публикаций, подтверждающих актуальность использования LIBS в биомедицине, значительно увеличилось.

Ц е л ь о б з о р а – формирование общего представления о перспективности использования LIBS в медицине при анализе различных биологических субстратов.

ТВЕРДЫЕ ТКАНИ

На сегодняшний день опубликован ряд работ, в которых с помощью LIBS изучалось содержание элементов в твёрдых биосубстратах, например, таких как ногти. Данные исследования Rusak и соавт. (2013) подтверждают возможность применения LIBS для анализа элементного состава ногтевых пластин (кальций, магний, цинк). У 11 испытуемых количественно определили содержание химических элементов в ногтевой пластине, а также исследовали два различных метода получения твёрдых стандартов для калибровки: приготовление кератиновых гранул и нанесение водных растворов на фильтровальную бумагу.

В другом исследовании у 5 человек с помощью LIBS определена концентрация цинка в ногтевой пластине с точностью до 7 ppm (Riberdy et al., 2017). В работе Hamzaoui и соавт. (2011) проанализированы образцы ногтей здоровых людей и лиц с изменённой ногтевой пластиной с целью диагностики онихомикоза. Изучение спектральных линий натрия, калия, кальция позволило вы-

явить существенное различие между спектрами излучения здоровых и патологических ногтей.

Другие исследователи проанализировали химический состав ногтей у 51 пациента с сахарным диабетом и у 34 обследуемых из группы контроля с использованием метода анализа дискриминантных функций (DFA), основанного на 82 атомных, ионных и молекулярных эмиссионных линиях, принадлежащих 13 элементам. Авторы делают вывод о перспективности применения данного метода в качестве скринингового для выявления пациентов с сахарным диабетом (Bahreini et al., 2013).

В ещё одной работе проанализированы Al, C, Ca, Fe, H, K, Mg, N, Na, O, Si, Sr, Ti в образцах ногтей 45 человек и идентифицированы 63 эмиссионные линии, среди которых преобладали линии кальция. Полученные результаты отражали половозрастные различия среди исследуемых. Кроме того, установлены выраженная корреляция между концентрациями натрия и калия в ногтевых пластинах, а также обратная корреляция между концентрациями кальция и магния. У больных гипертиреозом выявлены повышенные уровни натрия и калия в ногтях (Hosseini-makarem et al., 2011).

Также проведены исследования, в которых в качестве твёрдого биосубстрата для LIBS используются волосы. В работе Nakagawa и соавт. (2021) при применении LIBS изучены относительные концентрации кальция, магния и цинка в волосах при использовании интенсивности углерода в качестве эталона (Nakagawa et al., 2021).

Полученные результаты коррелировали с данными ИСП-МС, на основании чего авторы делают вывод о возможности применения LIBS для элементного анализа волос. К подобным выводам пришли авторы исследования, посвящённого определению избытка тяжёлых металлов в волосах (Corsi et al., 2003). Предложен метод определения микроэлементного состава (цинк, медь) волос с помощью LIBS при их растворении (Zhang et al., 2020). Использовали три различных растворителя (деионизированная вода, смесь азотной кислоты и гидроксид натрия), образцы помещали в ультразвуковую ванну; а затем полученный раствор капали на фильтровальную бумагу. Результаты измерений с учетом погрешностей в 7,6 и 4,9% были сопоставимы с результатами ИСП-МС.

В работе М.П. Патапович и соавт. (2011) исследовалась динамика метаболизма макроэле-

ментов волос по их длине у пациентов с диагнозом гиперкальциемия и острый ишемический инсульт. Выявлена корреляция между содержанием кальция и изменением состояния пациентов, например, таким как резкое снижение содержания кальция в период манифестации ишемического инсульта. Подобные выраженные изменения концентрации макро- и микроэлементов в образцах волос отражают ионно-осмотические нарушения в организме, происходящие при патологических состояниях, и демонстрируют ценность метода LIBS для их скрининга.

ЖИДКИЕ СУБСТРАТЫ

При анализе содержания азота, водорода, кислорода, углерода, калия, натрия, магния, кальция, железа в образцах цельной крови обнаружено, что спектры углерода и железа находятся в области 200–300 нм (Melikechi et al., 2008).

В исследовании, представленном X. Chen с соавт., метод LIBS применялся с целью диагностики лимфомы: в образцах цельной крови пациентов с лимфомой и группы контроля проанализированы уровни кальция, железа, магния, калия, натрия. Сделан вывод о том, что в крови пациентов с лимфомой концентрации калия, натрия и железа ниже, чем у здоровых, так как интенсивности линий этих элементов ниже. Кроме того, наблюдалась корреляция интенсивностей эмиссионных линий кальция и натрия со стадией прогрессирования лимфомы (Chen et al., 2018).

Сообщается о применении LIBS в сочетании с хемометрическими методами для определения лейкомии, острого миелоидного лейкоза, хронического миелоидного лейкоза, множественной миеломы и лимфомы. Результаты показали, что LIBS в сочетании с моделью RSM-LDA (метод случайных подпространств и линейный дискриминантный анализ) может потенциально применяться в дифференциальной диагностике различных форм гемобластозов (Chu et al., 2020).

В одной из работ исследователи идентифицировали цезий методом LIBS в образцах мочи и сыворотки крови и определили абсолютные пределы обнаружения: 6 нг в пробе мочи и 27 нг в пробе сыворотки крови. Показано, что LIBS можно использовать для обнаружения повышенных уровней цезия в моче и сыворотке у людей, потенциально подверженных воздействию цезия (Metzinger et al., 2014).

Авторы другого исследования с помощью LIBS изучали взаимосвязь между нарушением

электролитного баланса и онкологией, анализируя уровни калия и кальция в сыворотке крови. Выявленные различия концентраций калия в сыворотке крови коррелировали со стадией опухолевого процесса (Emara et al., 2022).

ОПУХОЛЕВЫЕ ТКАНИ

В настоящее время опубликован ряд работ, в которых метод LIBS использовался для проведения элементного анализа опухолевых тканей. Так, ученые изучили содержание макроэлементов в опухолевых и здоровых тканях желудка. В патологически изменённых тканях выявлено значительное увеличение интенсивности линий кальция и магния в сравнении с другими элементами (Seifalinezhad et al., 2019).

В другом исследовании для диагностики GIST (гастроинтестинальных стромальных опухолей) также был предложен метод LIBS. Исследовали 10 образцов тканей у пациентов с диагнозом GIST и у 10 человек из группы контроля, в результате чего установлено, что при GIST в тканях наблюдалось усиление спектральных линий кальция (Idrees et al., 2021).

Таким образом, метод LIBS обладает потенциалом для диагностики состава опухолей, однако алгоритм его применения для анализа биосубстратов требует дальнейшего усовершенствования.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного анализа можно сделать вывод о перспективности определения элементного состава биосубстратов с помощью LIBS при диагностике различных заболеваний, а также при использовании данного метода как скринингового, в том числе *in vivo* (кожа, волосы, ногти), и интраоперационно. Метод имеет как преимущества, так и недостатки по сравнению с широко используемыми в настоящее время в диагностике методами. Дальнейшее изучение механизмов взаимодействия лазера с различными тканями позволит определить оптимальные параметры LIBS для достижения более точных результатов. Основные препятствия на пути внедрения LIBS в медико-биологические исследования заключаются в необходимости его адаптации к исследованию биообразцов и разработки алгоритмов калибровки и оценки элементного состава. Следует значительно увеличить количество исследуемых образцов и контролируемых клинических исследований.

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

- Chen X., Li X., Yang S., Yu X., Liu A. Discrimination of lymphoma using laser-induced breakdown spectroscopy conducted on whole blood samples. *Biomed Opt Express*. 2018 Feb 7; 9(3): 1057–1068.
- Chu Y., Chen F., Sheng Z., Zhang D., Zhang S., Wang W., Jin H., Qi J., Guo L. Blood cancer diagnosis using ensemble learning based on a random subspace method in laser-induced breakdown spectroscopy. *Biomed Opt Express*. 2020 Jul 10;11(8): 4191–4202.
- Cremers D.A., Chinni R.C. Laser-induced breakdown spectroscopy – capabilities and limitations. *Appl Spectrosc Rev*. 2009; 44: 457–506.
- Emara E.M., Song H., Imam H., Elwekeel W.M., Gao X., Mohammed M.M., Liu S. Detection of hypokalemia disorder and its relation with hypercalcemia in blood serum using LIBS technique for patients of colorectal cancer grade I and grade II. *Lasers Med Sci*. 2022 Mar; 37(2): 1081–1093.
- Gottfried J.L., De Lucia F.C., Munson C.A., Miziolek A.W. Standoff detection of chemical and biological threats using laser-induced breakdown spectroscopy. *Applied spectroscopy*. 2008; 62(4): 353–363.
- Hamzaoui S., Khleifia R., Jaïdane N., Ben Lakhdar Z. Quantitative analysis of pathological nails using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) technique. *Lasers Med Sci*. 2011 Jan; 26(1): 79–83.
- Hosseinimakarem Z., Tavassoli S.H. Analysis of human nails by laser-induced breakdown spectroscopy. *J Biomed Opt*. 2011 May; 16(5): 057002.
- Hussain T., Gondal M.A. Monitoring and assessment of toxic metals in Gulf War oil spill contaminated soil using laser-induced breakdown spectroscopy. *Environmental monitoring and assessment*. 2008; 136(1–3): 391–399.
- Idrees B.S., Wang Q., Khan M.N., Teng G., Cui X., Xiangli W., Wei K. In-vitro study on the identification of gastrointestinal stromal tumor tissues using laser-induced breakdown spectroscopy with chemometric methods. *Biomed Opt Express*. 2021 Dec 2; 13(1): 26–38.
- Melikechi N., Ding H., Rock S., Marcano O.A., Connolly D. Laser-induced breakdown spectroscopy of whole blood and other liquid organic compounds. *Proc SPIE*. 2008; 6863: 68630O.
- Metzinger A., Kovács-Széles E., Almási I., Galbács G. An assessment of the potential of laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) for the analysis of cesium in liquid samples of biological origin. *Appl Spectrosc*. 2014; 68(7): 789–793.
- Nakagawa M., Matsuura Y. Analysis of Trace Metals in Human Hair by Laser-Induced Breakdown Spectroscopy with a Compact Microchip Laser. *Sensors (Basel)*. 2021 May 28; 21(11): 3752.
- Pasquini C., Cortez J., Silva L.M.C., Gonzaga F.B. Laser induced breakdown spectroscopy. *J Braz Chem Soc*. 2007; 18: 463–512.
- Rehan I., Gondal M.A., Almessiere M.A., Dakheel R.A., Rehan K., Sultana S., Dastageer M.A. Nutritional and toxic elemental analysis of dry fruits using laser induced breakdown spectroscopy (LIBS) and inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES). *Saudi J Biol Sci*. 2021 Jan; 28(1): 408–416.
- Rehan I., Khan M.Z., Rehan K., Abrar S.U., Farooq Z., Sultana S., Anwar H. (). Optimized laser-induced breakdown spectroscopy for the determination of high toxic lead in edible colors. *Applied optics*. 2018; 57(21): 6033–6039.
- Rehse S.J., Diedrich J., Palchadhuri S. Identification and discrimination of *Pseudomonas aeruginosa* bacteria grown in blood and bile by laser-induced breakdown spectroscopy. *Spectrochimica Acta. Part B: Atomic Spectroscopy*. 2007; 62(10): 1169–1176.
- Riberdy V.A., Frederickson C.J., Rehse S.J. Determination of the Zinc Concentration in Human Fingernails Using Laser-Induced Breakdown Spectroscopy. *Appl Spectrosc*. 2017 Apr; 71(4): 567–582.
- Seifalinezhad A., Bahreini M., Hassani Matin M.M., Tavassoli S.H. Feasibility Study on Discrimination of Neo-plastic and Non-Neoplastic Gastric Tissues Using Spark Discharge Assisted Laser Induced Breakdown Spectroscopy. *J Lasers Med Sci*. 2019; 10(1): 64–69.
- Sweetapple M.T., Tassios S. Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) as a tool for in situ mapping and textural interpretation of lithium in pegmatite minerals. *American Mineralogist*. 2015; 100(10): 2141–2151.
- Song K., Lee Y., Sneddon J. Application of laser-induced breakdown spectroscopy in biological and clinical samples. In: Sneddon J. (ed) *Advances in Atomic Spectroscopy*. 2002; 7: 287–360.
- Singh V.K., Rai A.K. Prospects for laser-induced breakdown spectroscopy for biomedical applications: a review. *Lasers Med Sci*. 2011 Sep; 26(5): 673–687.
- Singh V.K., Sharma J., Pathak A.K., Ghany C.T., Gondal M.A. Laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS): a novel technology for identifying microbes causing infectious diseases. *Biophys Rev*. 2018 Oct; 10(5): 1221–1239.
- Stefas D., Gyftokostas N., Nanou E., Kourelis P., Couris S. Laser-Induced Breakdown Spectroscopy: An Efficient Tool for Food Science and Technology (from the Analysis of Martian Rocks to the Analysis of Olive Oil, Honey, Milk, and Other Natural Earth Products). *Molecules*. 2021 Aug 17; 26(16): 4981.
- Tinkov A.A., Bogdański P., Skrypnik D., Skrypnik K., Skalny A.V., Aaseth J., Skalnaya M.G., Suliburska J. Trace Element and Mineral Levels in Serum, Hair, and Urine of Obese Women in Relation to Body Composition, Blood Pressure, Lipid Profile, and Insulin Resistance. *Biomolecules*. 2021 May 4;11(5): 689.

APPLICATION OF LIBS IN BIOMEDICAL RESEARCH (BIO-LIBS)

*T.V. Korobeinikova^{1,2}, G.D. Morozova¹, D.V. Mak¹, A.M. Vishnevskaya^{1,2},
N.Kh. Kizima², M.V. Eremin³*

¹ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University),
8/2, Trubetskaya str., Moscow, 119991, Russian Federation

² Peoples Friendship University of Russia,
6, Mikluho-Maklaya str., Moscow, 117198, Russian Federation

³ ANO «Center for Biotic medicine»,
46, Zemlyanoy Val str., Moscow, 105064, Russian Federation

ABSTRACT. LIBS is a method of laser-induced breakdown spectroscopy that makes it possible to determine the chemical consist of various substrates. The method has both advantages and disadvantages compared to currently widely used methods in diagnostics. The main advantage is that there is no need to decompose the sample before analysis. However, LIBS has a low accuracy and detection limit. The results obtained with LIBS are consistent with ICP-AES, ICP-MS for macroelements as well as for toxic elements. The purpose of this review is to form a general idea of the prospects for the use of LIBS in medicine in the analysis of various biological substrates. To date, a number of works have been published in which, using LIBS, the content of elements in solid biosubstrates (nails, hair), liquid (whole blood, serum, urine), as well as in tumor tissues was studied. The research results demonstrate the promise of using LIBS in the diagnosis of various diseases and in screening. Further adaptation of this method for the analysis of biosamples, improvement of calibration algorithms and processing of the results are necessary.

KEYWORDS: LIBS, spectrometry, trace elements, elemental status.