



БИОЛОГИЯ

УДК 616.33.006.6.073.524

Фотодинамическая диагностика рака желудка

**И. М. Агранович, А. П. Хороводов, А. Т. Мамедова, А. А. Шнитенкова,
В. Э. Шиманова, Н. А. Наволокин, Т. С. Ващенко, М. В. Каневский,
А. А. Галицкая, С. А. Коннова, Е. Г. Борисова, О. В. Семячкина-Глушковская**

Агранович Илана Михайловна, аспирант биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, ilana.agranovich@yandex.ru

Хороводов Александр Петрович, магистрант биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, khorovodov2012@yandex.ru

Мамедова Айсел Тофик Кызы, магистрант биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, mamedovaysel95@gmail.ru

Шнитенкова Анастасия Александровна, магистрант биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, nastia.shnitenkova.96@mail.ru

Шиманова Вероника Эдуардовна, студент биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, shimanova_veronica013@mail.ru

Наволокин Никита Александрович, ассистент кафедры патологической анатомии, Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, nik-navolokin@yandex.ru

Ващенко Татьяна Сергеевна, магистрант биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, tanusha.2015@mail.ru

Каневский Матвей Владимирович, кандидат биологических наук, ассистент кафедры биохимии и биофизики биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, matvejkanev@mail.ru

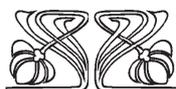
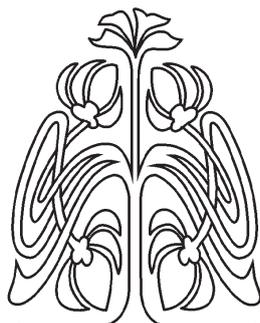
Галицкая Анна Алексеевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и биофизики биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, ann.gal@mail.ru

Коннова Светлана Анатольевна, доктор биологических наук, профессор кафедры биохимии и биофизики биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, konnovasa@yandex.ru

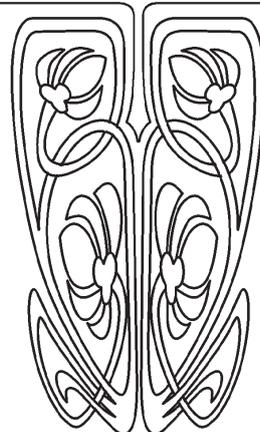
Борисова Екатерина Георгиевна, доцент кафедры физиологии человека и животных биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, ekaterina.borisova@gmail.com

Семячкина-Глушковская Оксана Валерьевна, доктор биологических наук, профессор кафедры физиологии человека и животных биологического факультета, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, glushkovskaya@mail.ru

© Агранович И. М., Хороводов А. П., Мамедова А. Т., Шнитенкова А. А., Шиманова В. Э., Наволокин Н. А., Ващенко Т. С., Каневский М. В., Галицкая А. А., Коннова С. А., Борисова Е. Г., Семячкина-Глушковская О. В., 2019



**НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ**





Рак желудка является главной причиной смертности среди онкологических заболеваний желудочно-кишечного тракта, что связывают с трудностью ранней диагностики этого заболевания. Данное исследование направлено на разработку нового метода диагностики рака желудка с использованием фотосенсибилизатора дельта-аминолевулиновая кислота/протопорфирин IX (5-АЛК/ПпIX). Эксперименты проведены на белых беспородных крысах средней массой 250 грамм. Животные были поделены на 2 группы: контрольную и экспериментальную (стресс + нитрозаминовая диета). Результаты исследований, усредненные для данного типа ткани, ясно показывают существенные различия между нормальными, предраковыми и злокачественными изменениями в тканях желудка крыс на фоне применения фотодинамической диагностики. Флуоресценция злокачественных новообразований в органе была максимальной при 635 нм, что соответствует максимуму эмиссии протопорфирина за счет высокого накопления фотосенсибилизатора в пораженных тканях. Наиболее важным результатом исследований стало выявление предраковых изменений (атрофического гастрита, подтвержденного гистологическими методами) с использованием фотодинамической диагностики с фотосенсибилизатором 5-АЛК/ПпIX. Интенсивность флуоресценции в случае предраковых изменений занимала промежуточное значение между таковой в нормальных тканях и в злокачественных клетках желудка.

Ключевые слова: аденокарцинома, фотодинамическая диагностика, фотосенсибилизаторы, перекисное окисление липидов.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-50-57>

Введение

Рак желудка является основной причиной смертей среди онкологических больных в мире [1, 2]. По оценке Американского онкологического общества, в 2017 г. в Соединенных Штатах было диагностировано около 28 000 новых случаев заболевания раком желудка (17 750 мужчин и 10 250 женщин); по прогнозам в течение следующих 5 лет около 10 960 человек из них умрут (6720 мужчин и 4240 женщин). Причиной такой высокой смертности является поздняя постановка диагноза – рак желудка выявляется только на поздних стадиях развития заболевания, так как протекает либо бессимптомно, либо маскируется под другие заболевания [3, 4].

Механизм развития рака желудка, несмотря на многочисленные исследования, изучен недостаточно. Это связано также с отсутствием подходящих моделей животных, позволяющих изучать злокачественные новообразования, факторы индуцирующие их развитие в органе. Так, существуют модели, которые либо используют иммунодефицитных грызунов, где лимитированы возможности изучения эндогенных факторов канцерогенеза, и особенно в их хроническом проявлении [5–7]. Либо применяют сильные канцерогенные вещества, являющиеся токсичными, при которых животные умирают не только от

рака, но и от сильной интоксикации [7–9]. Таким образом, адекватные модели рака, позволяющие изучать развитие болезни с максимальной приближенностью к естественным условиям, весьма востребованы.

Известно, что стресс играет важную роль в развитии рака, включая индуцирование развития злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) [10]. Такие стрессовые ситуации, как затяжные конфликты на работе, в семье, социальная изоляция и отсутствие социальной поддержки, способствуют развитию рака [11]. Тем не менее роль стресса в инициации рака противоречива. В публикации Nature 2011 г. показано, что хронический стресс играет основную роль в запуске необратимых изменений на уровне ДНК, приводящих к опухолевому перерождению тканей за счет активации сигнальной системы бета-2-адренорецепторы-бета-аррестин-1, подавляющей синтез белка p53, вследствие чего прогрессивно аккумулируются повреждения ДНК [12].

Другие факторы, такие как нитриты, которые широко представлены в ежедневно потребляемой пище (овощи и вода, колбасы, маринованные и соленые консервированные продукты), активно обсуждаются как источники канцерогенных для человека веществ [13]. Некоторые продукты, такие как копченое мясо и сушеная соленая рыба, являющиеся источниками экзогенных нитрозаминов, а также избыток соли, приводящий к повреждению защитной слизистой оболочки, повышают риск развития рака желудка [13]. Однако нет клинических и эпидемиологических доказательств того, что сами нитритсодержащие продукты могут вызывать рак желудка.

В повседневной клинической практике для исследования тканей ЖКТ используют эндоскопию, однако только опытные гастроэнтерологи с длительной практикой в эндоскопических наблюдениях могут обнаруживать небольшие первоначальные изменения слизистой оболочки пищевода, желудка или толстой кишки. Эти ограничения стандартной эндоскопии являются серьезной проблемой в ранней диагностике рака ЖКТ и инициируют разработку новых фотодиагностических методов [14, 15].

Известны два подхода флуоресцентного обнаружения ранней стадии развития опухоли в ЖКТ, которые основаны на детекции эндогенных (автофлуоресценция) и экзогенных флуорофоров (фотодиагностика). При применении экзогенных маркеров часто используются фотосенсибилизаторы, как уже разработанные и разрешенные вещества для медицинской практики в рамках



их применения для инициирования фотодинамического эффекта при терапии опухолевых образований [16, 17]. Оба флуоресцентных подхода имеют свои преимущества и недостатки, связанные с низкоинтенсивным и комплексным сигналом при автофлуоресценции или необходимостью вводить лекарственное средство пациенту при фотодиагностике. При использовании *in vivo* и эндоскопическом наблюдении особое значение имеет контраст сигнала свечения поврежденной ткани в сравнении со здоровой слизистой. Так как автофлуоресцентные изменения не всегда ярко выражены, применение контрастирующих агентов типа фотосенсибилизаторов резко увеличивает диагностическую точность и помогает лучше визуализировать основную опухоль и находить близкие метастазы или вторичные образования [18]. Применение фотосенсибилизаторов дает возможность после первоначального диагностирования методом флуоресцентной спектроскопии использовать накопившийся в опухолевых участках сенсибилизатор для инициирования фотодинамической терапии, тем самым позволяя разработать новый метод лечения и оптимизацию тераностического применения данного подхода.

Данное исследование было сфокусировано на разработке методики ранней фотодинамической диагностики развития рака желудка у крыс с применением оригинальной модели, основанной на сочетании двух стрессовых факторов: проживания животных в условиях перенаселения, а также химического стресса, связанного с потреблением нитритов с водой и ароматического амина с пищей.

Материалы и методы

Исследования проводились на белых беспородных крысах – самцах весом в среднем 250 г. Животные были поделены на 2 группы: 1-я группа – контроль (интактные животные, $n = 10$); 2-я группа – животные, подвергшиеся сочетанному воздействию хронического стресса (перенаселение) и нитрозаминовой диеты ($n = 20$).

До проведения гистологических исследований тканей желудка все крысы проходили флуоресцентную диагностику с помощью фотосенсибилизатора дельта-аминолевулиновая кислота/протопорфирин IX (5-АЛК/ПпIX). Физиологический раствор 5-АЛК в дозе 20 мг/кг вводили *per os* за 2 ч до начала экспериментов. После накопления и преобразования 5-АЛК в протопорфирин IX, который является флуоресцентным маркером, делались спектральные измерения с применением фиброоптического

зонда, детектор-микроспектрометрической системы USB4000 (Ocean Optics Inc, Dunedin, USA) с источником возбуждения на 405 нм (25 mW, LED-405, Polironik, Russia).

По истечении 9 месяцев выводили животных из эксперимента, забирали органы для гистологического исследования, которое проводилось по стандартной методике с изготовлением парафиновых блоков и окраской тонких срезов (3–5 мкм) гематоксилином и эозином.

Оценку интенсивности перекисного окисления липидов (ПОЛ) проводили путем определения количества ТБК-активных продуктов в сыворотке крови по стандартной методике. Расчет содержания ТБК-активных продуктов производили по формуле

$$C = \frac{D_{535} - D_{570}}{0,156} \times 16,$$

где C – содержание ТБК-активных продуктов в опытной пробе мкмоль/л; D_{535} – оптическая плотность опытной пробы при 535 нм; D_{570} – оптическая плотность опытной пробы при 570 нм; 0,156 – коэффициент молярной экстинкции комплекса малонового альдегид – ТБК в л/мкмоль/см; 16 – коэффициент разведения сыворотки.

При определении концентрации сиаловых кислот и муцинов в содержимом желудка образцы предварительно подвергали центрифугированию в течение 10 мин при 10 000 об/мин, для дальнейшей работы использовали полученный супернатант. Определение концентрации сиаловых кислот проводили с помощью набора «СиалоТест» (НПЦ «Эко-Сервис», Россия) после частичного кислотного гидролиза [19].

Концентрацию C , ммоль/л, рассчитывали по формуле

$$C = \frac{E_{\text{обр}} - C_{\text{кал}}}{E_{\text{кал}}};$$

где $E_{\text{обр}}$ – оптическая плотность опытной пробы; $C_{\text{кал}}$ – концентрация кислот в калибраторе, 2,2 ммоль/л; $E_{\text{кал}}$ – оптическая плотность калибровочной пробы.

Полученные результаты обработаны методами статистики с применением t -критерия Стьюдента. Вычисляли среднее арифметическое, ошибку среднего арифметического по следующим формулам:

$$\bar{M} = \frac{\Sigma}{n},$$

где \bar{M} – среднее арифметическое, Σ – сумма значений показателей в данной группе, n – количество крыс в группе.

$$m = (M_{\text{max}} - M_{\text{min}}) \times k,$$



где m – величина ошибки среднего арифметического; M_{\max} , M_{\min} – максимальное и минимальное значение в группе; k – табличный коэффициент.

$$T = \frac{\bar{M}_1 - \bar{M}_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}},$$

где T – критерий Стьюдента; \bar{M}_1 , \bar{M}_2 – средние арифметические значения; m_1 , m_2 – ошибки среднего арифметического.

Для установления достоверности различий вариационных рядов определяли показатель достоверности различий и по таблице Стьюдента находили величину отклонения (p). Различия считали достоверными при вероятности различий, превышающей 95% [20].

Результаты и их обсуждение

Для изучения роли социального и химического стрессов в развитии рака желудка крыс подвергали в течение 9 месяцев сочетанному воздействию хронического стресса (перенаселение) и токсического воздействия нитрита и ароматического амина. Результаты исследования показали, что у 35% (7 из 20) крыс наблюдалось развитие атрофического гастрита, что является предраковым изменением [21] (рис. 1, а).

У остальных 65% крыс (13 из 20) отмечались дисплазия и высокодифференцированная аденокарцинома желудка (см. рис. 1, б, в). У 70% крыс с аденокарциномой желудка наблюдали метастазы в легкие и печень (см. рис. 1, з, д).

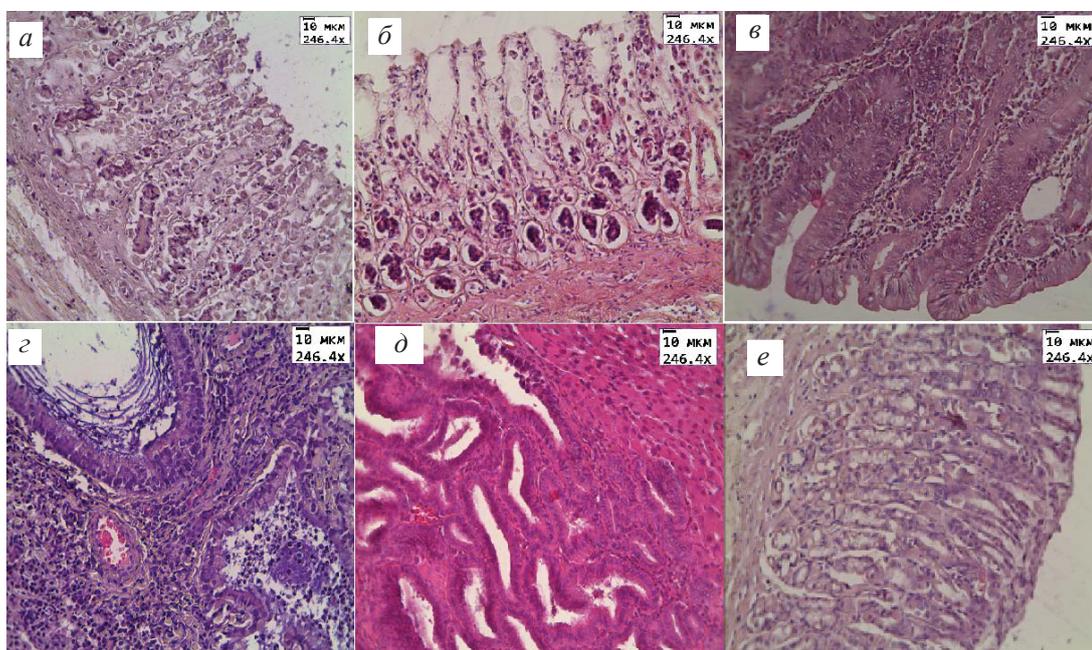


Рис. 1. Гистологический анализ различных органов крыс: а – атрофический гастрит; б – дисплазия желез в желудке; в – высокодифференцированная аденокарцинома желудка; з – метастазы в легком; д – метастазы в печени; е – нормальная слизистая желудка. Окраска гематоксилином и эозином

Метастатические узлы были представлены скоплением атипичных клеток с большими гиперхроматическими ядрами.

До гистологических исследований в эксперименте с применением флуоресцентной диагностики с помощью фотосенсибилизатора 5-АЛК/ПпIX оценивали состояние слизистой оболочки желудка, выявляли наличие патологических участков и подозрительных на рак очагов, далее проводили флуоресцентную визуализацию эпителия, осуществляя поиск очагов красной флуоресценции 5-АЛК-индуцированного ПпIX. Спектры измеряли по центру и на периферии флуоресцирующих интактных участков и пора-

женных тканей. Всего было измерено 280 спектров флуоресценции, из них в точках нормальной слизистой оболочки – 120, в очагах воспаления слизистой оболочки – 160.

Результаты исследований, усредненные для данного типа ткани, представлены на рис. 2, где ясно отражены существенные различия между нормальными, предраковыми и злокачественными изменениями в тканях желудка крыс. Флуоресценция со злокачественных новообразований в органе была максимальной при 635 нм, где находится максимум эмиссии протопорфирина, за счет высокого накопления фотосенсибилизатора в тканях, что также обсуждается в других работах [22].

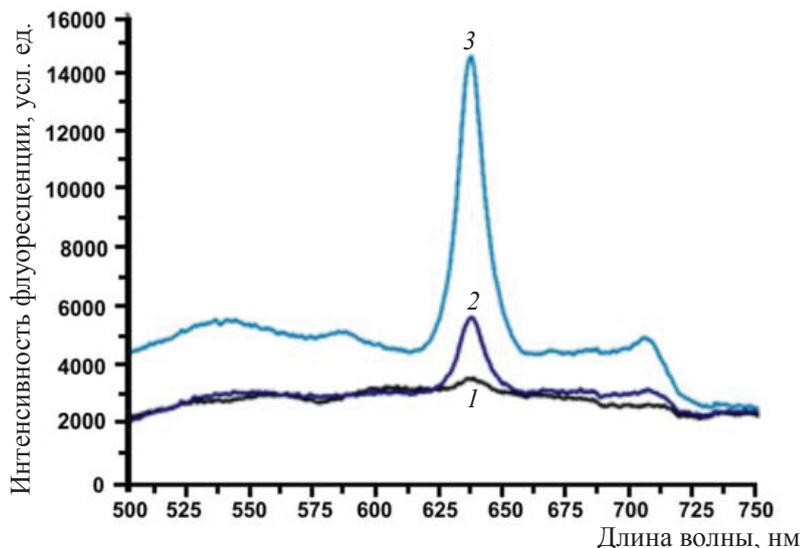


Рис. 2. Спектр интенсивности флуоресценции с нормальной слизистой оболочки, предраковых и злокачественных новообразований слизистой оболочки желудка крыс после введения фотосенсибилизатора 5-АЛА; 1 – нормальная слизистая, 2 – предзлокачественные изменения, 3 – злокачественные изменения

Наиболее важным результатом явился тот факт, что предраковые изменения (атрофический гастрит), которые впоследствии подтверждались гистологически, также выявлялись в процессе фотодиагностики. Интенсивность флуоресценции в этом случае занимала промежуточное значение между нормой и злокачественными поражениями желудка. Нами обнаружено, что пик наиболее ярких изменений, т.е. диагностически значимых значений флуоресценции приходился на диапазон лазерного возбуждения фотосенсибилизатора в 625–650 нм. У нормальной сли-

зистой пик автофлуоресценции в районе 480–530 нм, где идет сигнал в основном от протеиновых кросс-линков и флавинов.

Параллельно были изучены биохимические показатели, свидетельствующие о развитии у животных стрессовой реакции на действие социального и химического стресса.

Исследования показали, что хроническое токсическое воздействие приводит к увеличению концентрации продуктов ПОЛ в сыворотке крови в 3 раза (рис. 3), что является ярким показателем развития стрессовых процессов в организме [23].

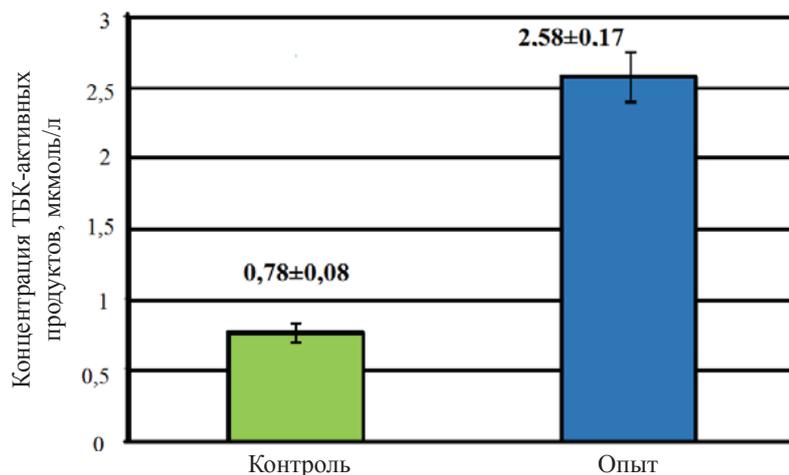


Рис. 3. Изменение содержания ТБК-активных продуктов в сыворотке крови крыс под влиянием сочетанного действия нитрита натрия и толуидина, данные достоверны для $P < 0.05$

Весьма показательными оказались анализы содержания сиаловых кислот в смывах желудка животных с выявленными патологиями по

сравнению с интактными особями. Было показано, что в контрольной группе концентрация сиаловых кислот в содержимом желудка соста-



вила $0,751 \pm 0,021$ ммоль/л. В опытной группе концентрация достоверно повысилась на 15% и составила $0,864 \pm 0,036$ ммоль/л, что прямо указывает на разрушение гликопротеинов слизистой оболочки и высвобождение сиаловых кислот в просвет желудка.

Заключение

Результаты *in vivo* и *ex vivo* исследований фотодинамической диагностики развития аденокарциномы желудка у крыс выявили, что лазерное излучение на длине волны 635 нм является оптимальным для максимального возбуждения фотосенсибилизатора 5-АЛК/ПпIX и фотодиагностики предраковых и злокачественных образований в органе, подтвержденных гистологическими методами и биохимическим анализом изменения показателей ПОЛ крови.

Фотодиагностика желудка проводится по интенсивности флуоресценции, которая занимает промежуточное положение между нормой и явными признаками рака органа для ранних злокачественных изменений. Результаты экспериментальных исследований являются важной информативной платформой для оптимизации фотодинамической ранней диагностики онкологии желудка в клинической практике при проведении верхней флуоресцентной гастроскопии.

Благодарности

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 18-15-00139).

Список литературы

1. Torre L. A., Bray F., Ferlay J., Lortet-Tieulent J., Jemal A. Global Cancer Statistics, 2012. CA: A // Cancer Journal for Clinicians .2015. Vol. 65, № 2. P. 87–108.
2. American cancer society. URL: <https://www.cancer.org/cancer/stomach-cancer/about/key-statistics.html> (дата обращения: 24.07.2018).
3. Давыдов М. И., Аксель Е. М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2009 г. // Вестн. РОНЦ им. Н. Н. Блохина РАМН. 2011. Т. 22, № 3 (85), прил. 1. 172 с.
4. Костюкевич О. И., Карагодина Ю. Я. Ранняя диагностика злокачественных новообразований желудочно-кишечного тракта // РМЖ. 2011. Т. 19, № 19. С. 1213–1216.
5. Попова Н. А. Модели экспериментальной онкологии // Сорос. образов. журн. 2000. Т. 6, № 8. С. 33–38.
6. Lowy A. M. Transgenic models of pancreatic cancer // Intern. J. of Gastrointestinal Cancer. 2003. Vol. 33, № 1. С. 71–78.
7. Sintara K., Thong-Ngam D. Gastric cancer : the experimental models // Thai. J. Physiol. Sci. 2008. Vol. 21, № 1. P. 31–38.
8. Montesano R., Bartsch H. Mutagenic and carcinogenic N-nitroso compounds : possible environmental hazards // Mutation Research / Reviews in Genetic Toxicology. 1976. Vol. 32, № 3–4. P. 179–227.
9. Tricker A. R., Preussmann R. Carcinogenic N-nitrosamines in the diet : occurrence, formation, mechanisms and carcinogenic potential // Mutation Research / Genetic Toxicology. 1991. Vol. 259, № 3–4. P. 277–289.
10. Moreno-Smith M., Lutgendorf S. K., Sood A. K. Impact of stress on cancer metastasis // Future Oncology. 2010. Vol. 6, № 12. P. 1863–1881.
11. Spiegel D., Giese-Davis J. Depression and cancer : mechanisms and disease progression // Biological Psychiatry. 2003. Vol. 54, № 3. P. 269–282.
12. Hara M. R., Kovacs J. J., Whalen E. J., Rajagopal S., Strachan R. T., Grant W., Towers A. J., Williams B., Lam Ch. M., Xiao K., Shenoy S. K., Gregory S. G., Ahn S., Duckett D. R., Lefkowitz R. J. A stress response pathway regulates DNA damage through β 2-adrenoreceptors and β -arrestin-1 // Nature. 2011. Vol. 477, № 7364. P. 349–353.
13. Jakszyn P., González C. A. Nitrosamine and related food intake and gastric and oesophageal cancer risk : a systematic review of the epidemiological evidence // World Journal of Gastroenterology (WJG). 2006. Vol. 12, № 27. P. 4296–4303.
14. Borisova E., Semyachkina-Glushkovskaya O., Navolokin N., Mantareva V., Angelov I., Agranovich I., Khorovodov A., Shushunova N., Bodrova A., Fedosov I., Namykin A., Abdurashitov A., Avramov L. Photodynamic diagnostics of stress-induced gastrointestinal neoplasia in laboratory animals using 5-aminolevulinic acid and Al-phthalocyanine // Optical Diagnostics and Sensing XVIII : Toward Point-of-Care Diagnostics. International Society for Optics and Photonics. 2018. Vol. 10501. P. 105011E.
15. Tumlinson A. R., Hariri L. P., Utzinger U., Barton J. K. Miniature endoscope for simultaneous optical coherence tomography and laser-induced fluorescence measurement // Applied Optics. 2004. Vol. 43, № 1. P. 113–121.
16. Song L. M. W. K., Banerjee S., Desilets D., Diehl D. L., Farraye F. A., Kaul V., Kethu S. R., Know R. S., Mamula P., Pedrosa M. C., Rodriguez S. A., Tierney W. M. Autofluorescence imaging // Gastrointestinal Endoscopy. 2011. Vol. 73, № 4. P. 647–650.
17. Song M., Ang T. L. Early detection of early gastric cancer using image-enhanced endoscopy : Current trends // Gastrointestinal Intervention. 2014. Vol. 3, № 1. С. 1–7.
18. Johansson A., Kromer K., Sroka R., Stepp H. Clinical optical diagnostics—status and perspectives // Medical Laser Application. 2008. Vol. 23, № 4. P. 155–174.
19. Инструкция по применению набора реагентов для определения содержания сиаловых кислот в сыворотке и плазме крови (КАТ. № В-12353). СПб. : НПЦ «Эко-Сервис», 2009. 2 с.
20. Зайцев Г. Н. Методика биометрических расчетов. М. : Наука, 1973. 256 с.
21. Пасечников В. Д., Чуков С. З. Предраковые изменения желудка и возможности эрадикационной терапии в профилактике *H. pylori* – ассоциированного рака желудка // Рос. журн. гастроэнтерологии, гепатологии и колопроктологии. 2006. № 3. С. 52–57.



22. Borisova E., Vladimirov B., Ivanova R., Avramov L. Light-Induced Fluorescence Techniques for Gastrointestinal Tumour Detection // *New Techniques in Gastrointestinal Endoscopy* / eds. O. Pascu, A. Seicean. In Tech. 2011. Ch. 14. P. 231–252.
23. Moylan S., Berk M., Dean O. M., Samuni Y., O'Neil A., Hayley A. C., Pasco J. A., Anderson G., Jacka F. N., Maes M. Oxidative & nitrosative stress in depression: Why so much stress? // *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*. 2014. Vol. 45. P. 46–62.

Образец для цитирования:

Агранович И. М., Хороводов А. П., Мамедова А. Т., Шнитенкова А. А., Шиманова В. Э., Наволокин Н. А., Ващенко Т. С., Каневский М. В., Галицкая А. А., Коннова С. А., Борисова Е. Г., Семьякина-Глушковская О. В. Фотодинамическая диагностика рака желудка // *Изв. Саратов. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология*. 2019. Т. 19, вып. 1. С. 50–57. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-50-57>

Photodynamic Diagnostics of Stomach Cancer

I. M. Agranovich, A. P. Khorovodov, A. T. Mamedova, A. A. Shnitenkova, V. E. Shimanova, N. A. Navolokin, T. S. Vaschenko, M. V. Kanevsky, A. A. Galitskaya, S. A. Konnova, E. G. Borisova, O. V. Semyachkina-Glushkovskaya

Ivana M. Agranovich, <https://orcid.org/0000-0002-7903-3897>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012 Russia, ilana.agranovich@yandex.ru

Aleksandr P. Khorovodov, <https://orcid.org/0000-0002-5318-5200>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, khorovodov2012@yandex.ru

Aysel T. Mamedova, <https://orcid.org/0000-0002-0229-0801>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, mamedovaysel95@gmail.ru

Anastasia A. Shnitenkova, <https://orcid.org/0000-0002-3591-0800>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, nastia.shnitenkova.96@mail.ru

Veronika E. Shimanova, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, shimanova_veronica013@mail.ru

Nikita A. Navolokin, <https://orcid.org/0000-0001-7876-9758>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, nik-navolokin@yandex.ru

Tatiana S. Vashenko, <https://orcid.org/0000-0002-6116-6923>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, tanusha.2015@mail.ru

Matvey V. Kanevsky, <https://orcid.org/0000-0002-5932-6748>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, matvejkanev@mail.ru

Anna A. Galitskaya, <https://orcid.org/0000-0002-7364-4726>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, ann.gal@mail.ru

Svetlana A. Konnova, <https://orcid.org/0000-0002-9607-8173>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, konnovasa@yandex.ru

Ekaterina G. Borisova, <https://orcid.org/0000-0002-4844-6066>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, ekaterina.borisova@gmail.com

Oksana V. Semyachkina-Glushkovskaya, <https://orcid.org/0000-0001-6753-7513>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya Str., Saratov 410012, Russia, glushkovskaya@mail.ru

Cancer of the stomach is the main cause of death among cancer diseases of the gastrointestinal tract. This is due to the late diagnosis. This study was aimed at developing new methods for diagnosis of gastric cancer using a photosensitizer 5-ALK / PIXIX. The experiments were carried out on white non-native rats with an average mass of 250 grams. The animals were divided into 2 groups: control and experimental (stress + nitrosamine diet). The results of the studies, averaged for this type of tissue, clearly show significant differences between normal, precancerous and malignant changes in the stomach tissues of rats. The fluorescence from malignant neoplasms in the organ was maximal at 635 nm, where the protoporphyrin emission maximum is located due to the high accumulation of photosensitizer in the tissues. The most important result was the fact that precancerous changes (atrophic gastritis), which subsequently were confirmed histologically, were also detected in the process of photodiagnostics. The intensity of fluorescence in this case occupied an intermediate value between the norm and malignant lesions of the stomach.

Keywords: stomach cancer, adenocarcinoma, photodynamic diagnostics, photosensitizers, POL.

Acknowledgements: *This work was supported by the Russian Science Foundation (project no. 18-15-00139).*

Reference

1. Torre L. A., Bray F., Ferlay J., Lortet-Tieulent J., Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 2015, vol. 65, no. 2, pp. 87–108.
2. American Cancer Society. Available at: <https://www.cancer.org/cancer/stomach-cancer/about/key-statistics.html> (accessed 24 April 2017).
3. Davydov M. I., Axel E. M. Statistics of malignant neoplasms in Russia and CIS countries in 2009. *Journal of N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center RAMS*, 2011, vol. 22, no. 3, suppl. 1. 172 p. (in Russian).
4. Kostyukevich O. I., Karagodina Yu. Ya. Early diagnosis of malignant neoplasms of the gastrointestinal tract. *RMJ*, 2011, vol. 19, no. 19, pp. 1213–1216 (in Russian).
5. Popova N. A. Models of experimental oncology. *Soros Educational Journal*, 2000, vol. 6, no. 8, pp. 33–38 (in Russian).



6. Lowy A. M. Transgenic models of pancreatic cancer. *Intern. J. of Gastrointestinal Cancer*, 2003, vol. 33, no. 1, pp. 71–78.
7. Sintara K., Thong-Ngam D. Gastric cancer: the experimental models. *Thai J. Physiol. Sci.*, 2008, vol. 21, no. 1, pp. 31–38.
8. Montesano R., Bartsch H. Mutagenic and carcinogenic N-nitroso compounds: possible environmental hazards. *Mutation Research – Reviews in Genetic Toxicology*, 1976, vol. 32, no. 3–4, pp. 179–227.
9. Tricker A. R., Preussmann R. Carcinogenic N-nitrosamines in the diet: occurrence, formation, mechanisms and carcinogenic potential. *Mutation Research – Genetic Toxicology*, 1991, vol. 259, no. 3–4, pp. 277–289.
10. Moreno-Smith M., Lutgendorf S. K., Sood A. K. Impact of stress on cancer metastasis. *Future Oncology*, 2010, vol. 6, no. 12, pp. 1863–1881.
11. Spiegel D., Giese-Davis J. Depression and cancer: mechanisms and disease progression. *Biological Psychiatry*, 2003, vol. 54, no. 3, pp. 269–282.
12. Hara M. R., Kovacs J. J., Whalen E. J., Rajagopal S., Strachan R. T., Grant W., Towers A. J., Williams B., Lam Ch. M., Xiao K., Shenoy S. K., Gregory S. G., Ahn S., Duckett D. R., Lefkowitz R. J. A stress response pathway regulates DNA damage through β 2-adrenoreceptors and β -arrestin-1. *Nature*, 2011, vol. 477, no. 7364, pp. 349–353.
13. Jakszyn P., González C. A. Nitrosamine and related food intake and gastric and oesophageal cancer risk: a systematic review of the epidemiological evidence. *World Journal of gastroenterology (WJG)*, 2006, vol. 12, no. 27, pp. 4296–4303.
14. Borisova E., Semyachkina-Glushkovskaya O., Navolokin N., Mantareva V., Angelov I., Agranovich I., Khorovodov A., Shushunova N., Bodrova A., Fedosov I., Namykin A., Abdurashitov A., Avramov L. Photodynamic diagnostics of stress-induced gastrointestinal neoplasia in laboratory animals using 5-aminolevulinic acid and Al-phthalocyanine. *Optical Diagnostics and Sensing XVIII: Toward Point-of-Care Diagnostics. International Society for Optics and Photonics*, 2018, vol. 10501, p. 105011E.
15. Tumlinson A. R., Hariri L. P., Utzinger U., Barton J. K. Miniature endoscope for simultaneous optical coherence tomography and laser-induced fluorescence measurement. *Applied Optics*, 2004, vol. 43, no. 1, pp. 113–121.
16. Song L. M. W. K., Banerjee S., Desilets D., Diehl D. L., Farray F. A., Kaul V., Kethu S. R., Know R. S., Mamula P., Pedrosa M. C., Rodriguez S. A., Tierney W. M. Autofluorescence imaging. *Gastrointestinal Endoscopy*, 2011, vol. 73, no. 4, pp. 647–650.
17. Song M., Ang T. L. Early detection of early gastric cancer using image-enhanced endoscopy: Current trends. *Gastrointestinal Intervention*, 2014, vol. 3, no. 1, pp. 1–7.
18. Johansson A., Kromer K., Sroka R., Stepp H. Clinical optical diagnostics—status and perspectives. *Medical Laser Application*, 2008, vol. 23, no. 4, pp. 155–174.
19. *Instrukciya po primeniyu nabora reagentov dlya opredeleniya sialovyh kislot v syvorotke i plazme krovi (CAT № B-12353)* [Instruction for the use of a kit of reagents for determining the content of sialic acids in serum and blood plasma (CAT No. B-12353)]. St. Petersburg, SPC “Eco-Service”, 2009. 2 p. (in Russian).
20. Zaitsev G. N. *Metodika biometricheskikh raschetov* [Method of biometric calculations]. Moscow, Nauka Publ., 1973. 256 p. (in Russian).
21. Pasechnikov V. D., Chukov S. Z. Precancerous changes in the stomach and the possibility of eradication therapy in the prevention of *H. pylori* – associated stomach cancer. *Ros. Journal of Gastroenterology, Hepatology and Coloproctology*, 2006, no. 3, pp. 52–57 (in Russian).
22. Borisova E., Vladimirov B., Ivanova R., Avramov L. Light-Induced Fluorescence Techniques for Gastrointestinal Tumour Detection. *New Techniques in Gastrointestinal Endoscopy*. Eds. O. Pascu, A. Seicean. In Tech, 2011, ch. 14, pp. 231–252.
23. Moylan S., Berk M., Dean O. M., Samuni Y., O’Neil A., Hayley A. C., Pasco J. A., Anderson G., Jacka F. N., Maes M. Oxidative & nitrosative stress in depression: Why so much stress? *Neuroscience and Biobehavioral Reviews*, 2014, vol. 45, pp. 46–62.

Cite this article as:

Agranovich I. M., Khorovodov A. P., Mamedova A. T., Shnitenkova A. A., Shimanova V. E., Navolokin N. A., Vaschenko T. S., Kanevsky M. V., Galitskaya A. A., Konnova S. A., Borisova E. G., Semyachkina-Glushkovskaya O. V. Photodynamic Diagnostics of Stomach Cancer. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 1, pp. 50–57 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-1-50-57>
