

ОБЗОРЫ  
ОПТИКА И СПЕКТРОСКОПИЯ. ЛАЗЕРНАЯ ФИЗИКА**Биомедицинская фотоника в задачах интраоперационной диагностики:  
обзор возможностей и клинических применений**

Е. А. Ширшин,<sup>1, a</sup> Б. П. Якимов,<sup>1, 2</sup> Г. С. Будылин,<sup>2, 3</sup> Н. В. Злобина,<sup>1, 2</sup>  
Д. А. Давыдов,<sup>1, 2</sup> А. Г. Армаганов,<sup>2</sup> В. В. Фадеев,<sup>1</sup> Н. Н. Сысоев,<sup>1</sup> А. А. Камалов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, физический факультет  
Россия, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 2

<sup>2</sup> Медицинский научно-образовательный центр Московского  
государственного университета имени М. В. Ломоносова  
Россия, 119192, г. Москва, Ломоносовский проспект 27, к. 10

<sup>3</sup> Институт спектроскопии РАН. Россия, 108840, Москва, г. Троицк, ул. Физическая, 5

Поступила в редакцию 16.07.2022, после доработки 12.09.2022, принята к публикации 20.09.2022.

Методы оптической спектроскопии и микроскопии активно применяются в фундаментальных исследованиях живых систем, однако их использование в клинической практике ограничено в связи с двумя принципиальными проблемами. Во-первых, глубина зондирования биотканей с помощью света невелика и варьируется от десятых долей до нескольких единиц миллиметров. Во-вторых, использование внешних меток для повышения чувствительности и специфичности детектирования патологических тканей затруднено при измерениях на пациентах *in vivo*. В связи с этим возникает вопрос о месте методов биомедицинской фотоники среди других физических методов диагностики, используемых в клинической практике. В данной работе представлен обзор оптических методов и сравнительно новых сертифицированных коммерчески доступных медицинских приборов, использующих технологии фотоники для решения задач интраоперационной диагностики — распознавания патологических и здоровых участков тканей *in vivo* и *ex vivo* по эндогенному оптическому отклику. В работе рассматривается широкий ряд областей медицины, в которых исследователям и инженерам удалось добиться высоких показателей чувствительности и специфичности в решении задачи классификации таких тканей. На примере интраоперационной диагностики обсуждаются достоинства и недостатки оптических методов визуализации и диагностики, определяющие их место в клинической практике.

**Ключевые слова:** интраоперационная диагностика, оптическая навигация, граница опухоли, биомедицинская фотоника, эндоскопия, оптическая спектроскопия, автофлуоресценция, спектроскопия диффузного отражения, оптоакустическая визуализация, оптическая когерентная томография, многофотонная микроскопия.

УДК: 535.81/818.8. PACS: 95.75.Fg.

**ВВЕДЕНИЕ**

Обладая рядом принципиальных преимуществ, оптические методы нашли широкое распространение в исследовании живых систем. С помощью методов оптической спектроскопии и микроскопии изучаются межмолекулярные взаимодействия, биохимические процессы в клетках, а также создаются различные сенсорные системы. В то же время использование оптической диагностики в решении задач клинической практики затруднено по двум причинам. Во-первых, глубина проникновения света, а значит, и детектирования отклика биоткани, относительно мала и варьируется от десятых долей до нескольких единиц миллиметров [1], в исключительных случаях достигая нескольких сантиметров [2]. Во-вторых, использование внешних (экзогенных) меток, часто применяемых в научных исследованиях для повышения чувствительности и специфичности оптических методов, затруднено при измерениях на пациентах *in vivo*, притом что именно создание новых типов меток привело к прорыву в исследовании живых систем с помощью оптики [3]. В связи с этим встают

вопросы о месте методов фотоники среди других методов, используемых в медицине: какова ниша оптической биомедицинской диагностики *in vivo*, в решении каких биомедицинских задач оптические методы превосходят конкурентов и какие новые фотонные технологии уже внедрены в современную клиническую практику.

В данном обзоре предпринята попытка ответить на эти вопросы на примере выделенного круга задач — задач интраоперационной диагностики, в которых, как будет показано ниже, в ряде клинических разделов медицины исследователям удалось дойти до конечной точки — создания коммерчески доступных медицинских приборов и устройств, сертифицированных для работы с пациентами. Оптическая навигация для хирургии, наряду с технологиями фотоники для прикроватного тестирования [4], создания клиничко-диагностических методов и носимых устройств для постоянного мониторинга [5], является одним из активно развивающихся направлений биомедицинской фотоники. На примере оптической навигации также хорошо видны достоинства и недостатки оптических методов визуализации и диагностики, определяющие их место в клинике.

<sup>a</sup> E-mail: shirshin@lid.phys.msu.ru

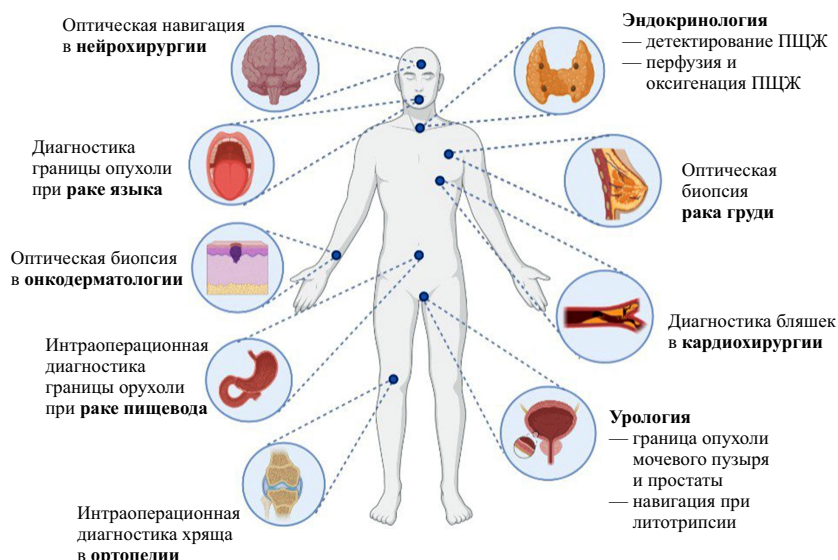


Рис. 1. Органы человека и соответствующие разделы медицины, рассматриваемые в обзоре в контексте интраоперационной диагностики

Основная задача оптической интраоперационной диагностики — предоставить врачу дополнительную информацию о пространственной локализации нормальной и патологической (например, опухолевой) тканей и/или идентифицировать некоторый объект (лимфоузел, нервное волокно, конкремент) в поле зрения врача в режиме реального времени. Возможность доставки и детектирования излучения с помощью эндоскопа и оптоволокон значительно расширяет спектр применений биомедицинской фотоники, который в обычной ситуации лимитирован малой глубиной проникновения фотонов в биоткань.

Отметим, что далеко не все предлагаемые оптические методы интраоперационной диагностики внедряются в реальную клиническую практику. Так, в обзоре, посвященном применению метода спектроскопии комбинационного рассеяния (КР) для интраоперационной диагностики онкологических заболеваний и трансляции метода КР в клинику [6], авторы установили, что около 90% всех работ находятся на предварительном уровне готовности технологии (TRL4, technology read in esslevel: максимальный уровень, TRL9, соответствует коммерчески доступному продукту), то есть в них был проверен принцип методики и проведены пилотные измерения, но не было клинических широкомасштабных испытаний. Такая разница между долей разрабатываемых и внедренных решений, по мнению авторов, связана со следующими требованиями, которые предъявляются к новым диагностическим методам и устройствам. А именно необходимы:

1. четко определенный запрос от практикующих врачей,
2. доказанный эффект от внедрения технологии для пациента и/или экономический эффект,
3. восприятие технологии врачами,
4. доказанная в рамках клинических исследований безопасность и воспроизводимость методики,
5. получение разрешений регулирующих органов.

Аналогичные соображения, на наш взгляд, справедливы не только для метода спектроскопии КР, но

и для оптической диагностики в целом. В данном обзоре мы сфокусировались на методах с эндогенным контрастом (label-free методах), поскольку считаем, что потенциальное использование меток и контрастирующих агентов может сделать прохождение клинических испытаний и получение разрешений значительно более времязатратным.

Данный обзор не претендует на полноту освещения области оптической интраоперационной диагностики, его задача — иллюстрация основных принципов и ниши биомедицинской фотоники в решении широкого круга клинических задач и демонстрация доведенных до реальной клинической практики новых устройств, использующих технологии фотоники. Мы сознательно пожертвовали техническими деталями при рассмотрении отдельных применений в пользу расширения круга медицинских тематик. Схематично список обсуждаемых разделов медицины приведён на рис. 1.

## 1. ПРИМЕНЕНИЯ ДЛЯ ЭНДОКРИНОЛОГИИ

Паращитовидные железы (ПЩЖ) имеют размер всего несколько миллиметров и находятся в жировой ткани, что делает трудным их визуальное обнаружение во время операции. Кровоснабжение ПЩЖ может быть нарушено во время операции, а повреждение всех четырех ПЩЖ приводит к гипопаратиреозу и гипокальциемии [7]. Гипокальциемия после операции на щитовидной железе встречается в 2–5% случаев и представляет собой серьезное осложнение, которое трудно поддается лечению и серьезно снижает качество жизни [8–11]. В связи с этим возник интерес к созданию простого и надежного метода для интраоперационного обнаружения ПЩЖ.

Детектирование и визуализация ПЩЖ является одним из успешных примеров клинического применения биомедицинской фотоники. Было обнаружено, что ПЩЖ обладает интенсивной по сравнению с окружающими тканями флуоресценцией

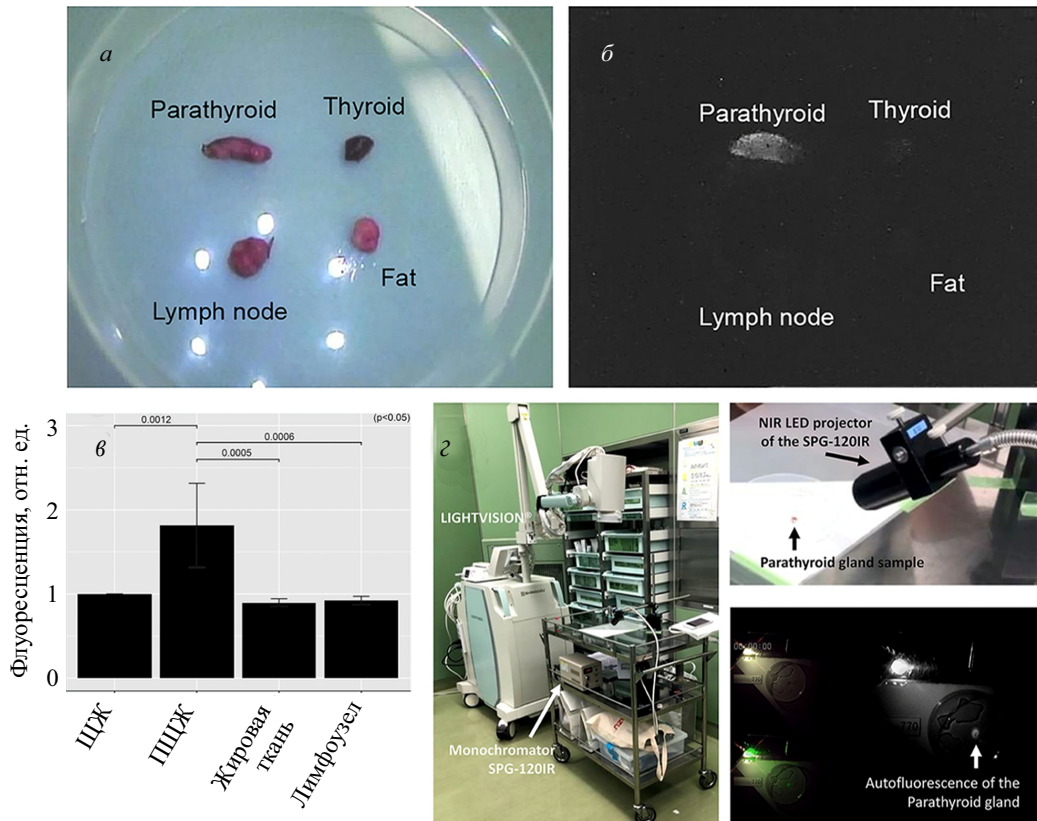


Рис. 2. *а, б* — Изображения тканей паращитовидной и щитовидной железы, лимфатического узла и жировой ткани в белом свете (*а*) и при ИК возбуждении на длине волны 760 нм и детектировании флуоресценции на 830 нм (*б*). *в* — Значения ИК АФ в относительных единицах для образцов тканей щитовидной и паращитовидной железы, жировой ткани и лимфатического узла. *г* — Пример коммерческой установки для визуализации тканей паращитовидной железы (LightVisionNIRCamera). Материалы адаптированы из работы [23], распространяемой по лицензии CC-BY

в ближнем ИК спектральном диапазоне (700–1000 нм) [12–16]. Данное свойство позволяет идентифицировать ПЩЖ во время операции как с помощью волоконного зонда (коммерчески доступный прибор — РТeye (Medtronic, США) [14, 17, 18]), так и с помощью камеры, например прибора Fluobeam (Fluoptics, Франция) [13, 19, 20]. Флуоресценция ПЩЖ возбуждается в широком диапазоне длин волн, например 690 и 785 нм [16, 21], а спектр ее эмиссии представляет собой бесструктурную полосу. Интересно, что, несмотря на использование флуоресценции ПЩЖ в качестве клинического диагностического метода, природа флуорофора, ответственного за свечение ПЩЖ в ИК, остается неизвестной [16, 22]. На рис. 2, *а, б* представлены изображения участков тканей ПЩЖ, ЩЖ, лимфатического узла и жировой ткани. Видно, что интенсивность флуоресцентного отклика ПЩЖ значительно превышает сигнал, наблюдаемый для других типов тканей (рис. 2, *в*). Внешний вид приборов, реализующих ИК флуоресцентную визуализацию ПЩЖ, представлен на рис. 2, *г*.

Метод, основанный на использовании ИК АФ, имеет ограниченную глубину проникновения (~3 мм) и не позволяет получить информацию о перфузии и оксигенации тканей ПЩЖ, которые являются важными факторами для сохранения ПЩЖ при хирургическом вмешательстве [24, 25]. Одним из оптических методов, предлагаемых в литературе для визуализации оксигенации и васкуляризации тканей

на глубине более 1 см, является оптоакустическая (ОА) томография [26]. Потенциальным применениям ОА в эндокринологии посвящен обзор 2021 г. [25]. Данный метод находит применения в навигации при хирургии для исключения возможности повреждения подповерхностных сосудистых структур, что было продемонстрировано на примерах рака поджелудочной железы [27] и хирургии эндокринных опухолей (трансфеноидальном хирургическом удалении опухоли гипофиза) [28]. Кроме того, использование ОА навигации было предложено для предотвращения травмирования сонной артерии при хирургических вмешательствах на гипофизе, для чего было изготовлено миниатюрное ОА сигнальное устройство на основе оптического волокна, закрепляемого на хирургическом инструменте [29].

## 2. ПРИМЕНЕНИЯ В УРОЛОГИИ

Ряд методов оптической навигации нашли или находят применения в задачах урологии. В качестве примеров ниже будут рассмотрены определение границы опухоли мочевого пузыря и простаты, а также навигация при лазерной литотрипсии (дроблении камней).

### 2.1. Рак мочевого пузыря

При проведении операций по удалению опухолей мочевого пузыря для оценки объема вмешательства

зачастую применяют метод цистоскопии в белом свете. К сожалению, этот метод плохо пригоден для распознавания папиллярных опухолей малого размера и плоских уротеральных поражений [30]. Было показано, что большей чувствительностью при решении задачи обнаружения раковой опухоли обладает метод фотодинамической диагностики (ФДД) [30, 31]. Он основан на введении в организм пациента избирательно накапливающихся в пораженных злокачественной опухолью участках ткани фотосенсибилизаторов, например 5-аминолевулиновой кислоты (5-АЛК), которая сама по себе не флуоресцирует, но является исходным продуктом внутриклеточного биосинтеза порфиринов [19], из-за чего опухолевые ткани выделяются за счет повышенного флуоресцентного отклика при возбуждении в красном диапазоне спектра на фоне здоровой ткани, сигнал флуоресценции которой в красном диапазоне не столь значителен (рис. 3, а, б).

Чувствительность и специфичность метода ФДД при обследовании рака мочевого пузыря оценивается в 92% и 57% соответственно, в то время как у цистоскопии в белом свете данные значения составляют в среднем 70% и 81%, соответственно [30]. Тем самым значение специфичности у ФДД оказывается ниже значения у цистоскопии в белом свете. Высокая доля ложноположительных результатов обуславливается тем, что накопление фотосенсибилизаторов происходит не только в раковых клетках, но и в тканях, в которых имеет место воспалительный процесс [32]. Еще одним недостатком метода является необходимость предварительного введения фотосенсибилизатора, который у некоторых пациентов может вызвать аллергические реакции [33].

Другим методом интраоперационной диагностики злокачественных опухолей на ранних стадиях в мочевом пузыре является узкополосная визуализация (narrow band imaging, NBI) [34]. Суть метода заключается в следующем. Для визуализации используется излучение в спектральных диапазонах 400–430 нм (синий свет) и 525–555 нм (зеленый свет), соответствующих локальным максимумам спектра поглощения гемоглобина, различающимся на два порядка по амплитуде. В связи с этим синий свет проникает сравнительно неглубоко и поглощается поверхностной капиллярной сетью, зеленый свет поглощается более глубоко расположенными кровеносными сосудами, за счёт чего увеличивается контраст визуализации между поверхностью слизистой оболочки и сосудами.

Так как раковые опухоли часто сопровождаются повышенной васкуляризацией, с помощью метода NBI оказывается возможным лучше визуализировать злокачественную опухоль. Чувствительность и специфичность метода в среднем выше, чем у ФДД (чувствительность NBI 94% против 92% для ФДД, специфичность NBI 85% против 57% для ФДД) [30, 35], к тому же он не требует введения флуоресцентных меток. Данная методика была внедрена компанией Olympus в стандартный эндоскопический осветитель, что позволяет переключаться между режимами NBI и цистоскопией в белом свете [36, 37]. На рис. 3 представлено сравнение участков тканей

мочевого пузыря в белом свете (рис. 3, а, в) и этих же участков, «подсвеченных» с помощью методов ФДД (рис. 3, б) и NBI (рис. 3, г).

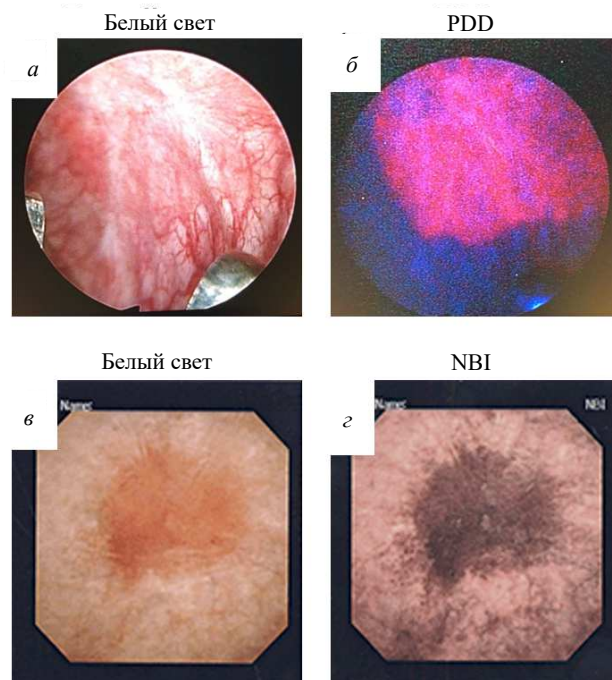


Рис. 3. а, б — Здоровые и пораженные опухолью участки тканей мочевого пузыря в белом свете (а) и измеренные с использованием метода ФДД (б). На рис. б четко видна граница между пораженными опухолью (розовая область) и здоровыми участками тканей (темно-синяя область). в, г — Участки здоровой и опухолевой ткани, измеренные в белом свете (в) и с помощью узкополосной визуализации (NBI, г). Более темные области соответствуют опухолевым участкам ткани за счёт их повышенной васкуляризации. Материалы адаптированы из работ [38] (панели а, б, лицензия CC-BY) и [34] (панели в, г, с разрешения издательства John Wiley and Sons)

Методы контрастирования изображения в белом свете с помощью компьютерных программ также находят применение для диагностики раковой опухоли. Одним из таких методов является технология спектрального цветового выделения (FICE, flexible spectral imaging color enhancement) [39]. FICE отдельно обрабатывает спектральные составляющие цветных RGB-изображений, после чего реконструирует более четкие и контрастные изображения, позволяя на основе спектральных и морфологических отличий здоровой и опухолевой тканей произвести их разделение.

Метод спектроскопии КР также широко используется в научных исследованиях для определения границы рака различных тканей *ex vivo* и реже *in vivo*. Первые исследования по определению рака мочевого пузыря *in vivo* с помощью метода КР с использованием волоконного зонда были проведены в работе [40]. В данной работе во время процедуры трансуретральной резекции опухоли мочевого пузыря были получены спектры от участков ткани, не затронутых опухолью и с подозрением на злокачественное новообразование. Было показано, что

рак мочевого пузыря можно отличить от здоровых тканей с чувствительностью 85% и специфичностью 79% [40].

С помощью метода флуоресцентной спектроскопии как в видимом, так и ИК диапазонах также можно определять свойства ткани. В работе [41] было показано, что применение автофлуоресцентного имиджинга во время трансуретральной резекции может повысить чувствительность выявления опухолей мочевого пузыря до 97%, что потенциально делает этот метод более эффективным, чем стандартная цистоскопия в белом свете, однако специфичность его составляет всего 54%. Визуализация с помощью ИК-флуоресценции также может использоваться для разделения здоровых и раковых тканей мочевого пузыря *in vivo* [42].

## 2.2. Рак простаты

Идея оптического определения границы опухоли при резекции также вызывает интерес при простатэктомии, при этом предпринимаются попытки встроить навигацию в хирургическую роботизированную систему Да Винчи, применяемую для малоинвазивных операций [43, 44]. Хирургическое удаление всей простаты посредством радикальной простатэктомии является частью стандарта лечения рака простаты. Положительные хирургические края (то есть ситуации, в которых объем опухоли и оперативного вмешательства был недооценен, и раковые клетки обнаруживаются в неудаленных тканях) встречаются в 1 из 5 случаев, что сильно коррелирует с рецидивом заболевания и необходимостью адъювантного лечения [45]. Достоверная оценка границ опухоли в настоящее время проводится только по морфологии препаратов тканей, отобранных в ходе операции, в течение нескольких часов или дней после нее. Интеграция оптической навигации в реальном времени вызывает интерес хирургов для оптимизации процедуры простатэктомии.

В работе [45] была представлена система на основе метода КР спектроскопии с двойным возбуждением (680 и 785 нм), которая была затем интегрирована в хирургическую систему Да Винчи для использования *in vivo*. После проверки метода в модельных условиях были получены спектроскопические данные от 20 предстательных желез человека *ex vivo* сразу после радикальной простатэктомии. Полученный набор данных позволил осуществлять диагностику с чувствительностью и специфичностью 90.5% и 96% соответственно. Авторы [45] указывают, что данная система была в дальнейшем использована для сбора предварительных спектроскопических данных *in vivo* у пациентов.

## 2.3. Литотрипсия

Еще одной задачей урологии, для решения которой предлагается использовать оптическую навигацию, является детектирование камней при литотрипсии. При лазерном дроблении возможен уход камня из области облучения, доступной волокну, по которому подается интенсивное «разрушающее» лазерное излучение, из-за чего возникает вероятность повреждения слизистой оболочки [46]. Точность

проведения хирургического вмешательства и целостность мягких тканей в процессе дробления камня зависит исключительно от оценки наблюдаемой картины и скорости реакции хирурга. Для уменьшения рисков осложнений было предложено использовать для диагностики объекта в поле зрения рабочего волокна оптические методы, в частности флуоресцентную спектроскопию [46–48].

Возможность использования сигнала АФ камней для их детектирования при литотрипсии была показана в ряде работ [49–51]. В работе [51] было проведено исследование камней разного состава из почек и показано, что использование сигнала их АФ при возбуждении в зеленой области спектра позволяет различать камни и мягкую ткань. Авторы [51] показали, что сигнал рассеяния излучения, используемого для возбуждения флуоресценции, можно использовать для определения состояния торца волокна и его положения во время операции. В работе [47] на модели крупных животных (свиней), которым искусственно внедрялись почечные конкременты, были исследованы повреждения, возникающие при отсутствии обратной связи и информации об объекте перед рабочим волокном (т.е. при стандартной процедуре) и в случае, если энергия лазера модулировалась в зависимости от того, был ли обнаружен камень в поле зрения волокна. Литотрипсия проводилась с использованием Ho:YAG лазера, детектирование камней производилось по сигналу АФ при возбуждении на 520 нм. Фрагменты камней человека (4–6 мм) помещали в мочеточник, почечные лоханки и мочевой пузырь, образцы тканей после операции исследовались морфологом. Эндоскопическое обследование выявило многочисленные поражения мочевыводящих путей после дробления камней, при этом степень поражения с использованием системы с обратной связью была ниже, перфорации органов не было обнаружено ни в одном из случаев. Также в литературе имеются исследования, направленные на определение состава конкрементов *in vivo* с помощью спектроскопии КР [52]. Данные исследования указывают на принципиальную возможность использования такого подхода, однако из-за низкой амплитуды сигнала, получаемой в схеме с применением стандартных волокон для литотрипсии, он нуждается в дальнейшей доработке.

## 3. ОНКОДЕРМАТОЛОГИЯ

Дерматология является классической областью применения методов оптической диагностики в связи с тем, что большинство патологических процессов в коже происходят на глубине, доступной для измерения не только методами оптической спектроскопии, но и микроскопии (то есть с субклеточным разрешением). В контексте данного обзора мы кратко обсудим основные оптические подходы в онкодерматологии.

### 3.1. Меланома

При использовании дерматоскопа опытным клиницистом чувствительность диагностики меланомы находится между 68% и 96%, и этот показатель

сильно зависит от опыта врача [6, 53–55]. Несмотря на большое количество иссекаемых доброкачественных пигментных образований (то есть ложноположительных), 30% случаев меланомы на ранней стадии все еще не обнаруживаются при первом клиническом осмотре и тем самым представляют риск развития метастазов [56]. Прогностическая значимость положительного результата клинического осмотра очень низка и составляет от 7% до 23% для диагностики меланомы дерматологами в специализированных клиниках [53, 57]. Следовательно, необходим быстрый, объективный инструмент для клинической диагностики, работающий в режиме реального времени, который позволит уменьшить количество ненужных иссечений и гарантировать раннее обнаружение меланомы.

Для детектирования меланомы был опробован практически весь арсенал оптических методов:

1. Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия в режиме на отражение и с использованием АФ отклика клеток [58–60].
2. Спектроскопия диффузного отражения, позволяющая детектировать спектральные особенности меланина, содержание гемоглобина и степень оксигенации тканей [61–63].
3. Флуоресцентная спектроскопия видимого [64, 65] и ИК [66, 67] диапазонов.
4. Многофотонная томография (МФТ), предоставляющая информацию о локализации меланина (который можно селективно возбудить за счет наличия у него длинноволнового хвоста поглощения [68] и/или сверхбыстрого затухания флуоресценции [69]) и параметров эпидермиса, включая метаболический статус кератиноцитов [70].
5. Оптическая когерентная томография (ОКТ), визуализирующая сосудистую сеть под новообразованием [71] и микроморфологию кожи в области образования [72].
6. Спектроскопия КР, предоставляющая информацию об изменении молекулярного состава клеток эпидермиса [57, 66, 73, 74].
7. Оптоакустическая визуализация, в том числе растровая сканирующая оптоакустическая мезоскопия, предоставляющая информацию о распределении меланина и параметрах сосудистой сети. Отметим, что и меланин, и гемоглобины обладают поглощением в видимой и БИК спектральной областях, что позволяет использовать их в качестве контраста для ОА [26, 75].
8. Метод накачки–зондирования, позволяющий по величине эффекта просветления основного состояния судить о молекулярной организации меланина [76, 77].
9. Наконец, фотографии доброкачественных и злокачественных образований, полученные в белом свете, также могут быть проанализированы с помощью методов компьютерного зрения и искусственного интеллекта для классификации типа образования с высоким уровнем чувствительности и специфичности [78, 79].

Все вышеуказанные методы, кроме п. 8, активно применялись *in vivo* на пациентах. Более того, популярным является использование комбинации методик, например флуоресценции и КР спектроскопии [66, 80, 81], ОКТ и МФТ [82, 83] и т.д. В ряде исследований заявляется о достижении высоких значений чувствительности и специфичности детектирования, что позволяет надеяться на внедрение методов оптической диагностики меланомы в клиническую практику [6].

### 3.2. Плоскоклеточный рак

В связи с высокой трудозатратностью «классических» подходов к исследованию краев резекции, проводимой при базальноклеточном и плоскоклеточном раке, высоким спросом пользуются методы, позволяющие быстро, высокоточно и неинвазивно диагностировать данное заболевание: определять границу между опухолью и здоровой тканями, определять толщину (глубину инвазии в глубокие слои кожи) опухолевого образования.

Сканирование базальноклеточного рака по глубине на сегодняшний день производится с помощью ОКТ [84, 85]. Данный метод позволяет осуществить томографию ткани толщиной около 1.5 мм с пространственным разрешением 10 мкм в поле зрения диаметром примерно до 5 мм [86]. В работе [84] продемонстрировано более точное определение толщины образований базальноклеточного рака с помощью метода ОКТ, по сравнению с ультразвуковой визуализацией, при поражениях размером < 2 мм.

Метод лазерной сканирующей микроскопии может быть применен для характеристики морфологии клеток верхних слоёв кожи микроскопических участков тканей [87, 88]. Данный метод обладает высокой специфичностью и селективностью (выше 95%), однако основным недостатком его является сравнительно низкая глубина проникновения излучения вглубь тканей (до 50 мкм при однофотонном и до 100–150 мкм при многофотонном возбуждении) [89].

Для характеристики базальноклеточной карциномы могут быть применены методы флуоресцентной спектроскопии [90, 91]. Так, в работе [90] было установлено, что время жизни флуоресценции для участков тканей, пораженных базалиомой, было статистически значимо ниже, чем у окружающей здоровой ткани. А в работе [91] было показано, что для здоровой кожной ткани характерен более высокий сигнал АФ при возбуждении в диапазоне 300–400 нм по сравнению с сигналом автофлуоресценции от участков кожи с базалиомой.

Анализ спектров КР, полученных с возбуждением на 785 нм, позволяет точно установить границу раздела между здоровыми и патологическими тканями с микронным разрешением [92, 93]. Обзор применения КР–спектроскопии к плоскоклеточным ракам можно найти в работе [6].

Несколько приборов, использующих оптические методы для диагностики состояния кожи, уже используются в клинике. Так, метод сканирующей конфокальной лазерной микроскопии с детектированием отраженного сигнала или сигнала однофотонно-возбуждаемой АФ используется для диагностики

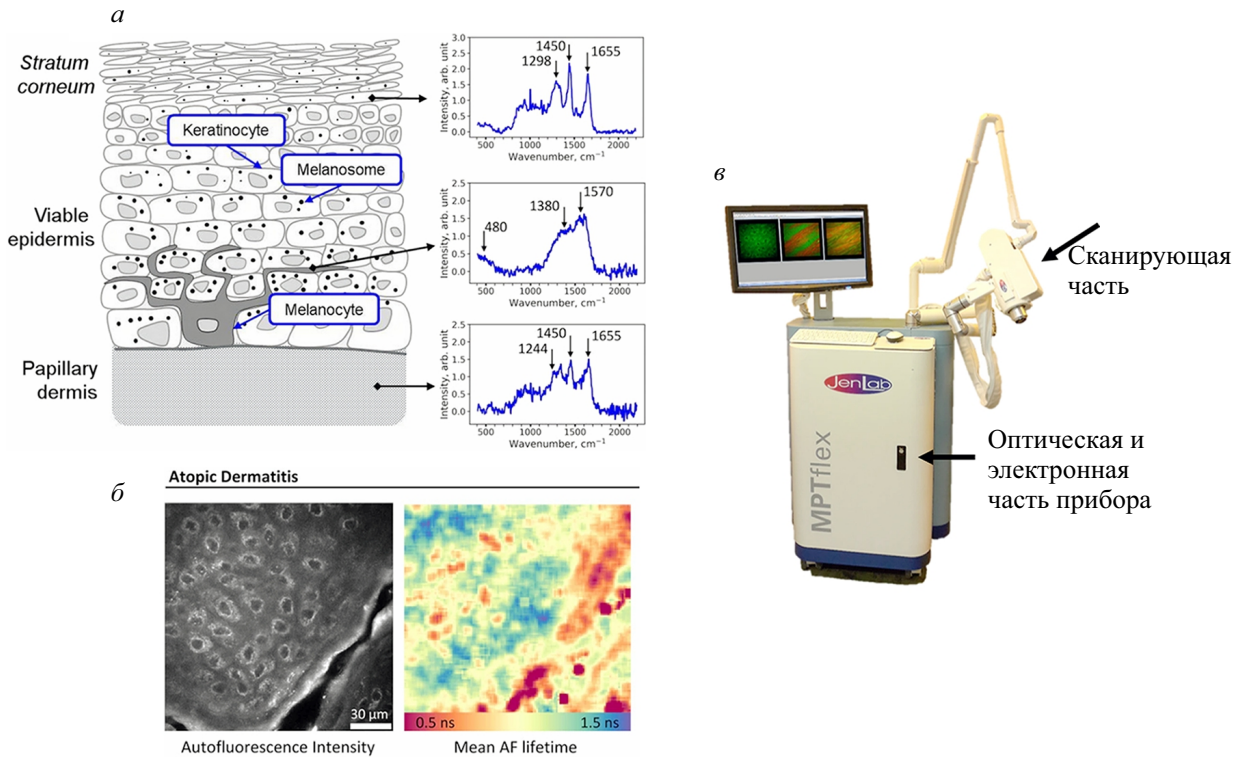


Рис. 4. *a* — Строение верхних слоёв кожи и соответствующие им спектры комбинационного рассеяния из работы [106], полученные с помощью коммерчески доступного прибора компании RiverD для измерения спектров КР. *б* — Примеры изображений эпидермиса, полученных с использованием сигнала АФ (слева) и времени затухания АФ (справа) с использованием метода МФТ из работы [107]. *в* — Внешний вид прибора MPTflex, реализующего метод МФТ с возможностью картирования среднего времени затухания флуоресценции [108]. Воспроизведенные изображения опубликованы по лицензии CC-BY

онкологических заболеваний в дерматологии. Сканирующие лазерные дерматоскопы компании VivaScore (VivaScore GmbH) позволяют увеличить чувствительность и специфичность (до 97% и 85% соответственно) при определении границ злокачественных образований кожи [58–60, 94]. Подходящим для морфологических и биофизических исследований кожи является метод МФТ, совмещенный с методом картирования времени затухания флуоресценции (FLIM, подробнее о методе см. [95]). Первый сертифицированный для *in vivo* применений прибор, основанный на данном принципе, был разработан компанией JenLab (Германия). Отметим, что с помощью МФТ можно исследовать *in vivo* множество важных структур в коже. Например, данный метод позволяет оценивать локализацию коллагенов типа I и III [96], исследовать клетки в дерме (тучные клетки [97] и макрофаги), оценивать состояние капилляров и наблюдать транскапиллярную диффузию [96, 98].

Компания RiverD International B.V. (Голландия) является лидером в области анализа кожи методом микроспектроскопии КР; так, ими разработана коммерческая система для определения профилей молекулярных компонент в коже [99–103], а также для определения проникающей способности различных веществ [92, 104]. Компанией RiverD также разработана система на основе АФ- и КР-спектроскопии для микрографической хирургии Моса [105]. Компания работает в области создания клинической системы для дерматологов и терапевтов для объективной

оценки клинически подозрительных пигментных поражений кожи [57]. На рис. 4 представлены примеры данных, получаемых с помощью коммерчески доступных устройств для *in vivo* диагностики кожи с помощью микроскопии комбинационного рассеяния (gen-SCA2 компании RiverD, рис. 4, *a*), а также примеры изображений, получаемых с помощью метода многофотонной томографии с визуализацией времени затухания флуоресценции (рис. 4, *б*) и прибор компании JenLab GmbH, сертифицированный для проведения многофотонной томографии кожи *in vivo* (рис. 4, *в*).

#### 4. ТРАВМАТОЛОГИЯ И ОРТОПЕДИЯ

Травмы суставов могут привести к дегенерации хрящевой ткани и спровоцировать развитие посттравматического остеоартрита. При этом в большинстве случаев оценка качества суставного хряща субъективна. Так, например, упругость хрящевой ткани оценивается хирургом–ортопедом с помощью нажатия простым металлическим инструментом. Распространенными методами оценки экстра- и интраартикулярных повреждений являются КТ, МРТ и УЗ исследования, однако и оптические методы могут быть использованы для полуколичественной и количественной диагностики свойств хряща.

Можно выделить несколько типов оптического контраста, используемого для диагностики хрящевой ткани и субхондральной костной ткани. Во-первых, это разность показателей преломления хрящевой ткани и субхондральной кости, а также изменения

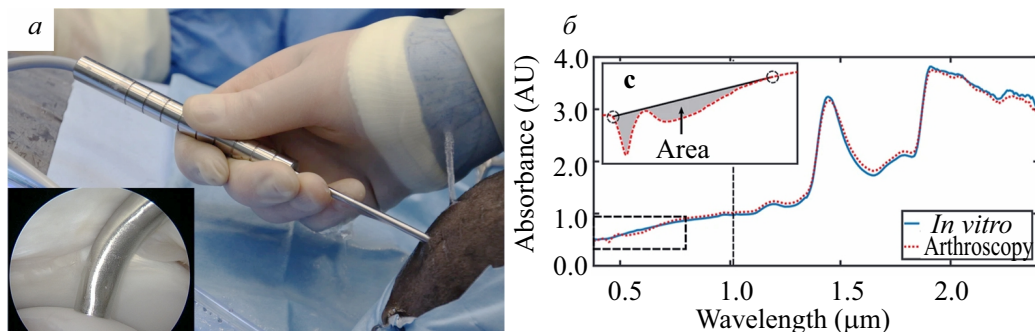


Рис. 5. *a* — Внешний вид волоконно-оптического зонда, используемого для спектроскопии тканей суставов в ИК диапазоне от 0.5 до 2 мкм. *б* — Спектры диффузного отражения тканей сустава в диапазоне от 0.5 до 2 мкм, полученные *in vitro* и *in vivo*. Рисунок адаптирован из работы [122], распространяемой под лицензией CC-BY

свойств двулучепреломления белков хрящевой ткани при их деградации во время заболеваний, что легло в основу ОКТ-диагностики. Различия в васкуляризации субхондральной кости и хряща используются для их классификации с помощью спектроскопии диффузного отражения и ОА томографии, а модификации в структуре и составе белкового хрящевое матрикса напрямую отражаются в спектрах ИК-поглощения — данный факт используется в спектроскопии отражения ИК-диапазона.

Метод ОКТ позволяет диагностировать деградацию хрящевой ткани, оценивать толщину хряща и субхондральной кости, оценивать структурные свойства хрящевой ткани [109–114]. Так, например, на 30 пациентах с диагностированным разрывом мениска, которым была предписана артроскопия, с помощью ОКТ системы с поляризационной чувствительностью были измерены карты оптического отклика с возбуждением суперлюминесцентным диодом на 1310 нм (с шириной спектра на полувысоте 50 нм, система Imalux OCT Imaging System). Было показано, что количественно и качественно оцениваемые ОКТ-изображения хорошо коррелируют с артроскопической шкалой Аутербриджа для оценки степени деградации хряща. ОКТ-визуализация также позволяет диагностировать деградацию хрящевой ткани на ранних стадиях. При этом количественные значения, полученные в результате обработки ОКТ-изображений, коррелируют с данными МРТ и превосходят их по точности оценки степени деградации по Аутербриджу [109, 111].

Отличия спектральных свойств субхондральной кости и хрящевой ткани позволяют оценивать толщину и классифицировать эти типы тканей *ex vivo* и *in vivo* с помощью спектроскопии диффузного отражения видимого диапазона. По отличию в концентрации гемоглобина в хрящевой ткани и субхондральной кости была продемонстрирована возможность оценки толщины хряща по спектрам диффузного отражения в видимом и ближнем ИК диапазоне [115]. Совмещенная со спектроскопией КР, спектроскопия диффузного отражения при реализации в виде контактного волоконного зонда может быть использована для точной локализации и оценки молекулярного состава субхондральной кости и хряща [116]. Другим важным объектом являются связки и сухожилия. В работах [117, 118] указывается, что спектры диффузного отражения,

измеренные в диапазоне 700–2200 нм, позволяют построить классификаторы, предсказывающие ряд механических свойств сухожилий, среди которых прочность на разрыв, вязкость образца в точке текучести и разрыва.

Различия в спектрах поглощения и рассеяния хрящевой ткани могут быть использованы для ОА томографии с возбуждением в видимом диапазоне (532 нм) хряща и субхондральной кости и определения толщины хрящевой ткани [119]. При этом спектры ОА-отклика в видимом и ближнем ИК-диапазоне (500–1300 нм) могут быть использованы для оценки свойств коллагенового матрикса хряща. Данные спектрально разрешенного ОА-отклика хрящей *ex vivo* хорошо коррелируют со шкалой Mankin оценки тяжести остеоартрита [120].

Благодаря молекулярной специфичности отраженного сигнала в инфракрасном диапазоне, для характеристики состава и оценки механических свойств хряща может быть применена спектроскопия ИК-диапазона (в диапазоне длин волн 1–10 мкм или в диапазоне волновых чисел 1000–10000 см<sup>-1</sup>). Подробный обзор применений ИК-спектроскопии для оценки свойств хряща представлен в работе [121].

На рис. 5, *a, б* представлен волоконный зонд для диагностики хрящевой ткани с помощью спектроскопии ИК-диапазона (рис. 5, *a*), примеры спектров отражения ИК диапазона в диапазоне от 0.5 до 2 мкм (рис. 5, *б*), полученные в результате *in vitro* и *in vivo* измерений.

В настоящее время ведётся активная разработка коммерческих приборов, реализующих технологии фотоники для диагностики хрящевой ткани. Так, в проекте MIRACLE [123] используется сразу несколько новых решений (прозрачные для ИК диапазона оптические волокна, квантово-каскадные лазерные источники и др.) для реализации оптического волоконного зонда, позволяющего производить ИК-спектроскопию в ближнем и среднем ИК диапазонах для точной количественной оценки свойств хрящевой ткани. На настоящий момент чувствительность и специфичность по классификации различного рода механических и ферментативных деградаций хрящевой ткани с помощью оптических методов, используемых в устройстве MIRACLE, достигают 95.8% и 84.7%.



## 5. НЕЙРОХИРУРГИЯ

В области нейрохирургии широкое распространение получил оптический подход, основанный на фотодинамической диагностике (ФДД), — введении красителя 5–АЛК и последующей флуоресцентной визуализации накопления порфиринов в раковых клетках. Данный подход активно развивается в России, в частности он часто используется при диагностике глиом [124]. Также существуют исследования, которые показывают, что ФДД с использованием 5–АЛК потенциально может быть использована при удалении внутрисерепных менингиом, особенно в случаях рецидива, при опухолях, расположенных в основании черепа, а также при опухолях, инфильтрирующих сосудистые структуры и/или вышележащую костную ткань [125]. Авторы также показали, что дополнительное измерение спектров флуоресценции с помощью волоконной системы LESA-01 компании «БИОСПЕК» [126] дает преимущества в условиях плохой видимости, например в случае кровотечения. Помимо 5–АЛК для диагностики опухолей мозга могут использоваться также другие флуоресцентные красители, например, агрегаты индоцианина зеленого [127].

Помимо методов, использующих экзогенный контраст, имеется запрос на методы, не требующие введения контрастирующих агентов (label-free методы), которые могли бы обеспечить большую специфичность диагностики, чем ФДД. В мире в качестве таких методов рассматриваются спектроскопия КР, ОКТ, ТГц–спектроскопия, МФТ.

Результаты, полученные в области спектроскопии и визуализации в ТГц–диапазоне, говорят о потенциальной возможности использования ТГц–технологий биофотоники для высокочувствительной и высокоспецифичной классификации здоровых тканей мозга и тканей, пораженных глиомой [128]. Например, сообщается, что на модельных объектах и образцах *ex vivo* ТГц–спектроскопия позволяет определять границы опухолей, в том числе низких степеней злокачественности [128–130]. При этом для увеличения разрешающей способности ТГц–визуализации могут быть применены методы, позволяющие преодолеть дифракционный предел и визуализировать границы опухоли с высокой точностью [131]. Однако из-за высокого коэффициента поглощения воды в ТГц–диапазоне применение ТГц–методов на практике может быть осложнено неоднородным содержанием воды в поверхностных слоях ткани.

Решения на основе КР–спектроскопии для нейрохирургии разрабатывались компанией ODS Medical, в частности была разработана система с портативным зондом для интраоперационной навигации при резекции опухоли головного мозга [132]. В исследованиях *in vivo* были получены спектры у 17 пациентов с градацией злокачественности глиомы от 2 до 4, одновременно производились и измерения нормальных областей мозга (66 нормальных спектров и 92 опухолевых). Авторы сообщили о чувствительности 93% и специфичности 91% в разделении нормальной ткани мозга от плотного рака и нормального мозга, пораженного раковыми клетками [6].

## 6. РАК ЯЗЫКА

Для определения границы опухоли при раке языка была предложена методика, основанная на измерении содержания воды в ткани методом спектроскопии КР. В ходе *ex vivo* экспериментов на удаленных образцах языка было показано, что в области опухоли концентрация воды, определяемая по соотношению интенсивностей полос О–Н (вода) и С–Н (белки и липиды) колебаний в спектре КР, повышена в сравнении с нормой [132]. Отметим, что технически детектировать сигнал из высокочастотной (high wave number region, 2000–4000  $\text{cm}^{-1}$ ) области спектра КР, где лежат полосы указанных выше О–Н и С–Н, а также N–H колебаний, значительно проще, чем из области «отпечатков пальцев» (finger print region, 200–2000  $\text{cm}^{-1}$ ), которая используется для более тонкой диагностики, например оценки изменения конформации белков. Использование данного подхода позволило авторам реализовать свой зонд в виде иглы, внутрь которой вставлялось волокно, заточенное под острым углом, с помощью которой образец сканировался в разных точках по глубине, что позволяло получить 3D–карту распределения воды с разрешением  $<1$  мм. Данная система развивается компанией Margin Guide [133]. Интересны также обзоры авторов данной методики, в которых анализируется точность определения границы плоскоклеточного рака языка стандартными методами [134] — показано, что она составляет около 15%, что обуславливает актуальность разработки новых высокочувствительных методов, в частности оптических.

## 7. РАК ЖЕЛУДКА

Эндоскопия в белом свете — наиболее распространенный метод визуальной диагностики ранних признаков рака желудка в больницах. Изображения слизистой оболочки желудка отображаются на мониторе для выбора места отбора биопсии, которую проводит врач. Анализ материала биопсии подтверждает диагноз через несколько дней. Задержка с постановкой диагноза связана с тем, что обычная эндоскопия в белом свете не может точно отличить нормальные ткани от злокачественных.

Для решения этой задачи был разработан эндоскопический моговолоконный зонд для реализации метода КР спектроскопии *in vivo* [135]. С использованием данной системы было измерено 2748 спектров ткани желудка *in vivo* от 305 пациентов, из которых 2465 соответствовали норме, а 283 — раковым опухолям. Созданная на базе этих измерений классификационная модель для диагностики рака желудка обладала чувствительностью 85.6% и специфичностью 86.2%. Применению спектроскопии КР для диагностики рака желудка на ранней стадии посвящен также ряд других работ [136–138].

Обнадеживающие результаты метода КР–спектроскопии легли в основу технологии и прибора, разработанного компанией Endofotonics [139]. Система SPECTRA IMDx<sup>TM</sup> позволяет проводить молекулярную диагностику *in vivo* раннего рака желудка. Данная система по сигналу

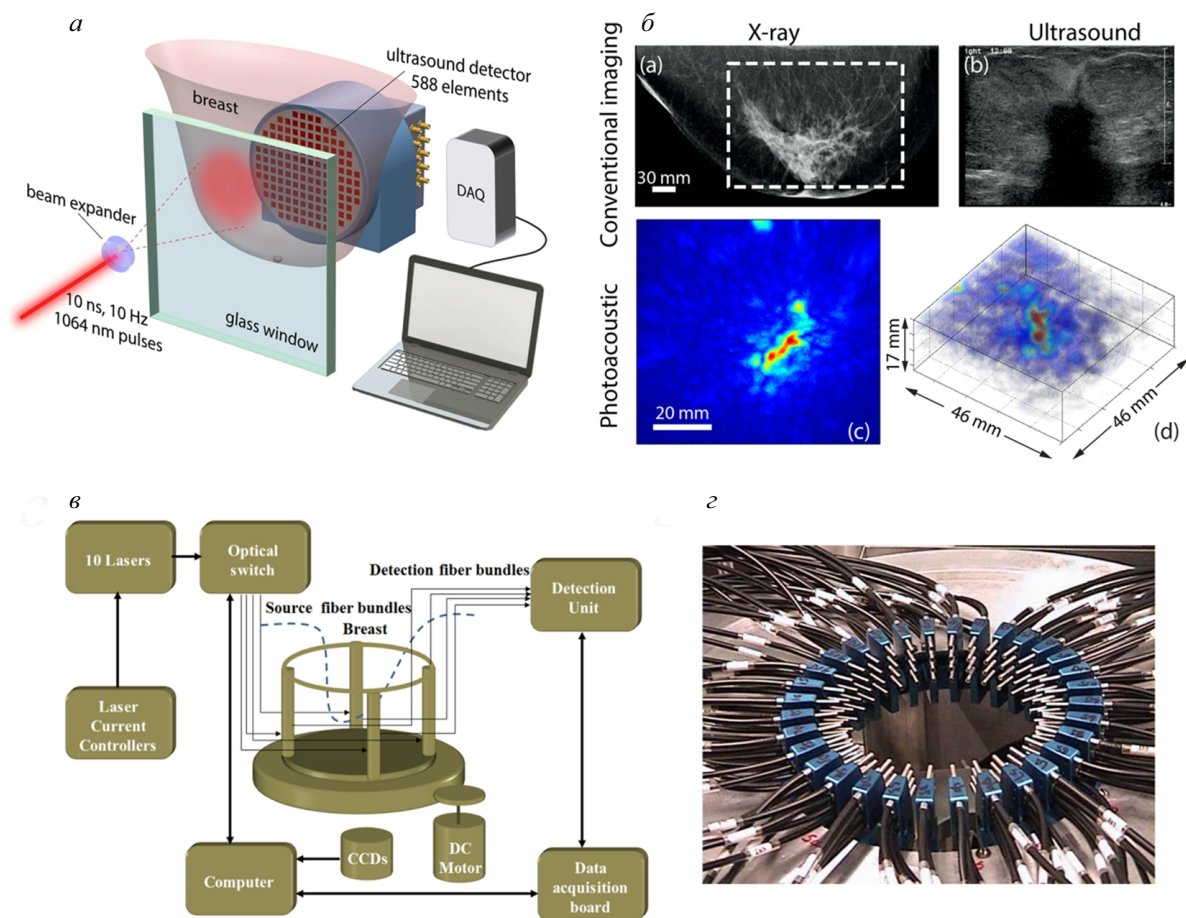


Рис. 6. *a* — Принципиальная схема реализации оптоакустической визуализации молочной железы: участок ткани освещается импульсным лазерным излучением, поглощающимся в тканях, поглощение излучения приводит к повышению температуры ткани, что ведет к генерации акустических волн. *б* — Изображения опухолевых тканей, получаемые с помощью рентгена, ультразвука и ОА. *в* — Схематическое изображение мультиспектрального диффузного оптического томографа (ДОТ). *г* — Волоконно-оптическая матрица для обнаружения рака груди с помощью диффузной оптической томографии. Панели *a, б* адаптированы из работы [146], панели *в, г* — из работы [147], распространяемых по лицензии CC-BY

КР тканей определяет вероятность наличия у пациента рака желудка и в режиме реального времени предоставляет врачам объективную обратную связь, что позволяет улучшить раннюю диагностику. Согласно данным от производителя чувствительность и специфичность методики составляют 94.4% и 96.3% против чувствительности и специфичности 48% и 67% у цистоскопии в белом свете [140].

## 8. РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Диагностика рака молочной железы — область, в которой широкое применение получили методы оптической томографии, а именно оптоакустическая (ОА) томография и диффузно-оптическая томография. Данные методы обладают наибольшей глубиной зондирования из всех оптических методик.

Оптоакустическая томография — это гибридный метод, который объединяет оптическое возбуждение и ультразвуковое детектирование. Поскольку чисто оптические методы визуализации не могут осуществлять визуализацию с высоким разрешением в глубоких слоях биологических тканей из-за наличия рассеяния и поглощения света, возможность получения контрастных изображений с высоким

разрешением в биологических тканях на глубине до единиц сантиметров делает ОА перспективным методом для клинической визуализации. В ОА обычно используется наносекундный импульсный лазер (длительность импульса  $< 100$  нс) для освещения биологического образца, а измеряемая частота акустического сигнала находится в пределах 5–10 МГц. Молекулы поглощают фотоны и преобразуют энергию в тепло, вызывая повышение температуры [141]. Термоупругое расширение в результате повышения температуры генерирует акустические волны, которые регистрируются с помощью ультразвуковых преобразователей. Поскольку звук рассеивается в тканях в среднем в 1000 раз меньше света [142, 143], акустический сигнал гораздо дольше распространяется в биологической ткани без значительного затухания. Схема прибора для реализации ОА и сравнение визуализации опухолевых тканей с помощью рентгена, ультразвука и ОА представлены на рис. 6, *a, б*.

В качестве молекулярного контраста при ОА-визуализации молочной железы выступают молекулы окси- и дезоксигемоглобина: в качестве диагностических критериев используются параметры васкуляризации и оксигенации. ОА выявляет нали-

чие неопластического опухолю — формирования новых кровеносных сосудов вокруг злокачественных образований, которые не могут без этого вырасти более чем на 2–3 мм. Было показано, что использование в качестве маркеров распознавания опухолевых тканей сочетания концентрации гемоглобина и его оксигенации дает хорошую диагностическую точность [144] — злокачественные опухоли имеют повышенную концентрацию крови (гемоглобина) при пониженном содержании кислорода. Данная функциональная информация имеет прямое отношение к патофизиологии опухоли и помогает клиницисту принимать решения относительно злокачественного новообразования и необходимости биопсии. ОА-визуализация позволяет идентифицировать опухоли размером до 3 мм и обладает способностью визуализировать субмиллиметровые сосудистые структуры. Важность раннего обнаружения опухолей связана с необходимостью предотвращения их метастазирования. Метод ОА, совмещенный с УЗ-визуализацией, лежит в основе прибора, выпускаемого компанией Senomedical [145], совмещающего в себе получение анатомической (УЗ) и физиологической (ОА) информации. Данная система прошла клинические испытания.

Визуализация распределения полного гемоглобина и его относительной оксигенации лежит также в основе принципа диагностики рака груди с использованием диффузной оптической томографии (ДОТ) [148]. В данном методе с использованием матрицы источников и детекторов (рис. 6, в, г) измеряется сигнал излучения видимого и ближнего ИК диапазона на детекторе при включенных источниках, расположенных от него на различном расстоянии: чем больше расстояние, тем с большей глубины детектируется сигнал и тем меньше его интенсивность. По отклику, детектируемому с помощью нескольких детекторов, решается задача восстановления распределения хромофоров (молекул, поглощающих свет, в данном случае оксигемоглобина и дезоксигемоглобина) в объеме ткани [149]. Метод ДОТ достаточно давно стал рассматриваться в качестве перспективного для диагностики рака груди и исследования динамики ответа на терапию; были проведены сравнительные анализы диагностической ценности метода по отношению к МРТ, показавшие высокую чувствительность и специфичность ДОТ при обнаружении злокачественных образований груди [150].

## 9. СОСУДИСТАЯ ХИРУРГИЯ И АТЕРОСКЛЕРОЗ

Острый коронарный синдром, вызванный нестабильностью бляшек и последующим тромбозом, остается основной причиной заболеваемости и смертности при сердечно-сосудистых заболеваниях. После ряда успешных применений ультразвуковой диагностики для диагностики коронарной артерии интерес в области внутрисосудистой визуализации сместился на определение бляшек, подверженных риску и приводящих к фатальным тромботическим явлениям. Из-за сложной многофакторной патофизиологии атероматозных бляшек обычная внутрисосудистая визуализация не позволяет селективно

обнаруживать бляшки, вызывающие коронарные события [151]. Таким образом, для визуализации сердечно-сосудистой системы в последние годы актуальным трендом является получение биохимической информации одновременно с анатомической для предсказания дальнейшей судьбы бляшек. Комбинированная мультимодальная визуализация с использованием внутрисосудистого УЗИ (IVUS, Intra Vascular Ultra Sound) или ОКТ для анализа морфологических свойств бляшек и методов оптической спектроскопии для анализа биохимических параметров бляшек является одним из перспективных подходов для решения этой задачи. В этом направлении работает достаточно много исследовательских групп, а некоторые разработки получили сертификацию FDA и дошли до стадии коммерческого прибора. В данном разделе мы рассмотрим три метода — спектроскопию отражения в ближнем ИК диапазоне (near infra-red spectroscopy, NIRS), ИК автофлуоресценцию и метод картирования времени жизни флуоресценции (FLIM, Fluorescence life time imaging).

Методика спектроскопии отражения в ближнем ИК-диапазоне основана на анализе состава объекта по спектру его поглощения. В используемом диапазоне длин волн (примерно 800–2500 нм) лежат полосы поглощения, связанные с колебаниями воды, липидов и белков, что позволяет характеризовать липидный состав бляшки [152]. Данная технология прошла сертификацию FDA и встроена в систему Makoto компании Infrared X [153]. Коммерчески доступная система визуализации NIRS состоит из катетера, устройства отката и вращения и специальной консоли, содержащей оборудование для реализации метода ИК-спектроскопии [154]. Катетер состоит из вращающегося сердечника с оптическими волокнами, которые доставляют и собирают свет в диапазоне длин волн от 800 до 2500 нм, в результате чего из карты коэффициента диффузного отражения получают «хемограмму», то есть карту распределения липидов по образцу [155]. Данная методика позволяет работать в присутствии крови и кровотока. Список исследований, в которых проводились испытания NIRS-системы *in vivo*, можно найти в работе [154].

Еще одним методом оптического контрастирования для обнаружения опасных атеросклеротических бляшек является ИК АФ. В работе [156] была обнаружена повышенная ИК АФ у бляшек, в которых наблюдались гемorragии, и на основе колокализации сигнала ИК АФ с окраской на билирубин было предположено, что именно он является ее источником. На моделях мышей *in vivo* с помощью диффузной оптической томографии было показано, как можно детектировать бляшки неинвазивно. Параллельно с этим ИК АФ для бляшек активно применялась другими группами [157]. В работе 2021 г. было показано, что флуорофором, ответственным за ИК флуоресценцию, является цероид, пигмент, образующийся в клетках при окислении липидов [158]. На модели макрофагов было продемонстрировано, что окисленные липопротеины низкой плотности приводят к появлению ИК АФ, окислительного

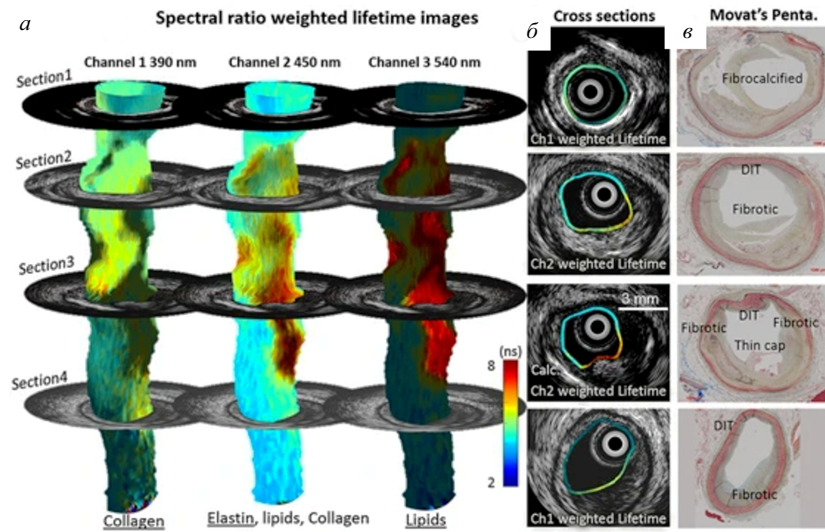


Рис. 7. Визуализация состояния коронарной артерии *ex vivo* с помощью мультиспектральной визуализации времени затухания флуоресценции (fluorescence life time imaging, FLIM) и внутрисосудистого УЗИ (intravascular ultrasound, IVUS) для оценки атеросклеротических поражений. Измерение с помощью метода FLIM проводилось в трех спектральных каналах (390, 450 и 540 нм). Цветом обозначено время жизни флуоресценции, яркость соответствует интенсивности сигнала. Рисунок адаптирован из работы [159], распространяемой под лицензией CC-BY

стресса и продуктов перекисного окисления липидов *in vitro*, а эффективность этих процессов снижается при добавлении антиоксидантов. Клинические испытания интракоронарной системы ИК АФ/ОКТ показали ее возможности в обнаружении опасных бляшек [157]. Было показано, что интенсивность ИК АФ в коронарных артериях была повышена только у бляшек, обладавших нестабильным фенотипом, т.е. бляшек с высоким риском осложнений.

Совмещению ультразвуковой внутрисосудистой визуализации с картированием времени жизни флуоресценции (FLIM) посвящена работа [160]. Время жизни флуоресценции молекулы не зависит от концентрации и является, во-первых, индикатором наличия молекул определенного типа и, во-вторых, индикатором изменения конформации и/или окружения молекулы. Классический пример диагностики с использованием времени жизни флуоресценции — оптический метаболический имиджинг [161], в котором информативными параметрами являются свойства флуоресценции НАД(Ф)Н.

Было показано, что технология FLIM имеет несколько преимуществ в визуализации атеросклероза, поскольку она может одновременно оценивать различные биохимические особенности атеросклеротических бляшек, включая параметры липидов и наличие макрофагов (рис. 7). Для таких характеристик опасных бляшек, как наличие скоплений пенных макрофагов, внеклеточных липидов, поверхностного кальция и новообразованного слоя рыхлых волокнистых тканей, были выявлены специфические параметры кинетики затухания флуоресценции с использованием мультиспектрального FLIM. Исследование [162] выполнено на большом количестве свежих коронарных артерий человека на аутопсийном материале, и для доказательства клинической применимости технологии необходимо проведение измерений *in vivo*. Ограничением FLIM является требование отсутствия крови при

сканировании. Сравнение информации, получаемой методами NIRS/IVUS, FLIM/IVUS и NIRAF/OCT, приведено в работе [163].

## 10. ОПТИЧЕСКАЯ БИОПСИЯ *EX VIVO*

В клинической практике существует процедура, когда врачом для оценки локализации опухоли во время операции отбирается биопсия, для которой незамедлительно проводят морфологическое исследование, чаще всего с использованием окраски гематоксилином и эозином. Время анализа при этом составляет 10–15 минут. В области анализа *ex vivo* оптические методы могут предложить достаточно много интересных возможностей и в ряде случаев не уступают и даже превосходят в чувствительности стандартное гистологическое исследование.

Перспективным подходом для анализа образцов *ex vivo* является уже упоминавшаяся в контексте дерматологии МФТ — метод, позволяющий сканировать образец в 3D (без использования окраски типичный объем исследования составляет  $1 \times 1 \times 0.2 \text{ мм}^3$ ) с субклеточным разрешением. Обнадеживающие результаты в этом направлении получены с помощью метода SLAM (Simultaneous Label-free Autofluorescence Multiharmonic microscopy), в котором детектируются сигналы генерации второй (ГВГ) и третьей (ГТГ) оптических гармоник, а также сигналы двухфотонной и трехфотонной флуоресценции при возбуждении образца короткими ( $\sim 50 \text{ фс}$ ) импульсами с длиной волны в районе 1200 нм [164]. Сигнал ГВГ позволяет визуализировать коллагеновые волокна (строму), сигнал ГТГ — липидные капли, сигнал двухфотонной флуоресценции — клетки стромы, характеризующиеся повышенным сигналом от флавинов, а сигнал трехфотонной флуоресценции — раковые клетки по флуоресценции НАД(Ф)Н. Принципиальная схема устройства, реализующего метод SLAM, представлена на рис. 8, а. Получаемые изображения можно в режиме реального времени переко-

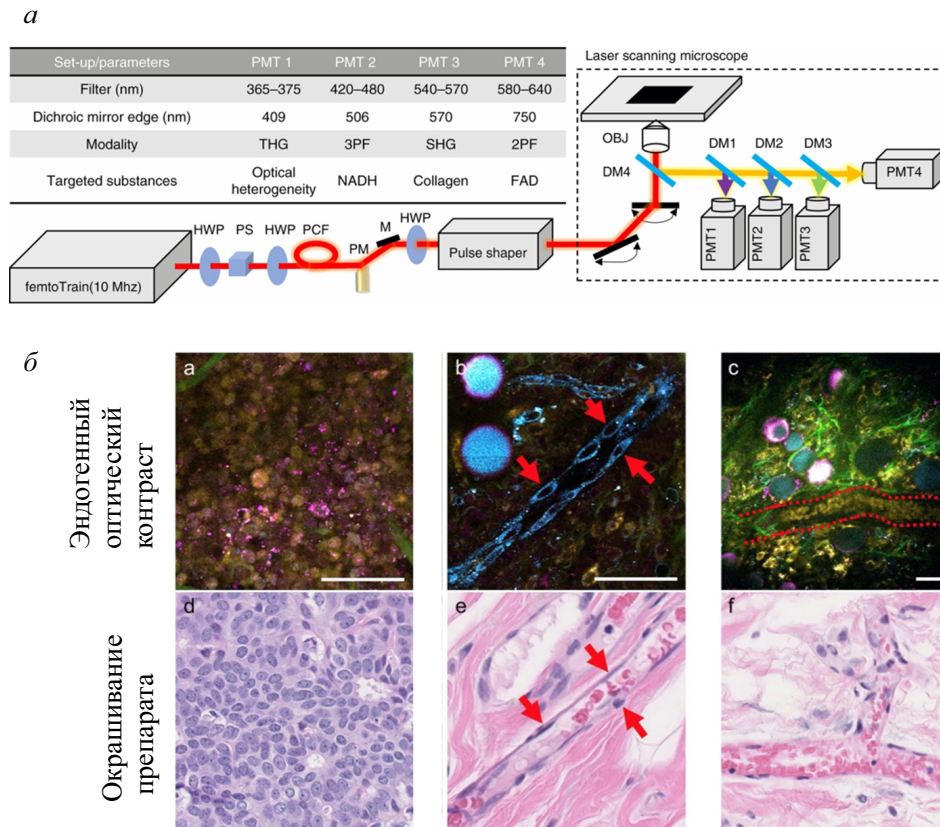


Рис. 8. *а* — Принципиальная схема устройства, реализующего метод SLAM (Simultaneous Label-free Autofluorescence Multiharmonic microscopy). В детектирующей системе используются различные дихроичные зеркала и оптические фильтры для сбора спектрально разрешенного нелинейного оптического отклика с помощью нескольких детекторов. Типы сигналов резюмированы в таблице на панели. *б* — Изображения опухолевых клеток, клеток эндотелия и эритроцитов с помощью микроскопии SLAM (верхний ряд) и соответствующая им окраска гематоксилином и эозином (нижний ряд). Изображения адаптированы из [165], распространяемой под лицензией CC-BY

дировать в псевдоцвета, соответствующие стандартному гистологическому исследованию, предоставляя таким образом морфологу полный набор информации в привычном ему виде (рис. 8, б).

Еще одним решением, дошедшим до коммерческого прибора, является система INVENIO [166], реализующая визуализацию нативных участков тканей *ex vivo* с помощью метода вынужденного комбинационного рассеяния (ВКР) [167]. Данный подход, как и МФТ, не требует подготовки срезов или окрашивания, что позволяет проводить гистологическую оценку вне лаборатории. Методика, основанная на ВКР, была верифицирована на более чем 1500 процедурах лечения опухолей головного мозга — *Hollon et al.* продемонстрировали в 2020 г., что сверточная нейронная сеть, которая была обучена на более чем 2.5 миллионах изображений от 415 пациентов, смогла классифицировать изображения ВКР по 13 наиболее распространенным классам заболеваний [168].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенный анализ литературы показывает, что технологии биомедицинской фотоники обладают широким набором возможностей для визуализации и анализа состава биотканей на молекулярном и клеточном уровнях. Скорость и чувствительность анализа делают оптические методы интересными для

решения задач навигации в хирургии. Данный факт привел к тому, что по каждой из рассмотренных в обзоре областей было разработано решение, пригодное для клинического использования. Тот факт, что трансляция рассмотренных методов в клинику активно происходит в последние 5 лет, говорит о том, что в биомедицинской диагностике имеет место явный тренд на разработку и внедрение оптических методов, а в ближайшие годы стоит ожидать интенсивного развития направления клинической биомедицинской фотоники.

Работа выполнена в рамках программы развития Междисциплинарной научно-образовательной школы Московского университета «Фотонные и квантовые технологии. Цифровая медицина».

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ash C., Dubec M., Donne K., Bashford T. // *Lasers Med. Sci.* 2017. **32**, N 8. P. 1909.
2. Boas D.A., Brooks D.H., Miller E.L. et al. // *IEEE Signal Process. Mag.* 2001. **18**, N 6. P. 57.
3. Chudakov D.M., Matz M. V., Lukyanov S., Lukyanov K.A. // *Physiol. Rev.* 2010. **90**, N 3. P. 1103.
4. Pahlow S., Weber K., Popp J. et al. // *Appl. Spectrosc.* 2018. **72**, N S1. P. 52.
5. Roblyer D.M. // *J. Biomed. Opt.* 2020. **25**, N 10. P. 1.
6. Santos I.P., Barroso E.M., Schut T.C.B. et al. // *Analyst.* 2017. **142**, N 17. P. 3025.
7. Asari R., Passler C., Kaczirek K. et al. // *Arch. Surg.* 2008. **143**, N 2. P. 132.

8. Lin D.T., Patel S.G., Shaha A.R. et al. // *Laryngoscope*. 2002. **112**, N 4. P. 608.
9. Thomusch O., Machens A., Sekulla C. et al. // *Surgery*. 2003. **133**, N 2. P. 180.
10. Bergenfelz A., Jansson S., Kristoffersson A. et al. // *Langenbeck's Arch. Surg.* 2008. **393**, N 5. P. 667.
11. Bilezikian J.P., Khan A., Potts Jr J.T. et al. // *J. Bone Miner. Res.* 2011. **26**, N 10. P. 2317.
12. Paras C., Keller M., Mahadevan-Jansen A. et al. // *J. Biomed. Opt.* 2011. **16**, N 6. P. 1.
13. Kose E., Rudin A. V., Kahramangil B. et al. // *Surgery*. 2020. **167**, N 1. P. 173.
14. McWade M.A., Paras C., White L.M. et al. // *Surgery*. 2013. **154**, N 6. P. 1371.
15. McWade M.A., Paras C., White L.M. et al. // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2014. **99**, N 12. P. 4574.
16. Ladurner R., Lerchenberger M., Al Arabi N. et al. // *Mol.* 2019. **24**, N 14.
17. Thomas G., McWade M.A., Nguyen J.Q. et al. // *Surgery*. 2019. **165**, N 1. P. 114.
18. Kiernan C.M., Thomas G., Baregamian N., Solórzano C.C. // *J. Surg. Oncol.* 2021. **124**, N 3. P. 271.
19. Dip F., Falco J., Verna S. et al. // *J. Am. Coll. Surg.* 2019. **228**, N 5. P. 744.
20. Moore E.C., Rudin A., Alameh A., Berber E. // *Gland Surg.* 2019. **8**, N 3. P. 283.
21. Tabei I., Fuke A., Fushimi A., Takeyama H. // *Front. Surg.* 2021. **7**. P. 619859.
22. Thomas G., McWade M.A., Sanders M.E. et al. In *Biomedical Optics*. 2016, Optical Society of America, 2016. PTu3A.5.
23. Bec J., Vela D., Phipps J.E. et al. // *JACC Cardiovasc. Imaging*. 2021. **14**, N 9. P. 1832.
24. Liu J., Wang X., Wang R. et al. // *BMC Surg.* 2020. **20**, N 1. P. 4.
25. Karlas A., Pleitez M.A., Aguirre J., Ntziachristos V. // *Nat. Rev. Endocrinol.* 2021. **17**, N 6. P. 323.
26. Taruttis A., Ntziachristos V. // *Nat. Photonics*. 2015. **9**, N 4. P. 219.
27. Tummers W.S., Miller S.E., Teraphongphom N.T. et al. // *Ann. Surg. Oncol.* 2018. **25**, N 7. P. 1880.
28. Lediju Bell M.A., Ostrowski A.K., Li K. et al. // *Photoacoustics*. 2015. **3**, N 2. P. 78.
29. Padhye V., Valentine R., Wormald P.J. // *Int. Arch. Otorhinolaryngol.* 2014. **18**. P. S173.
30. Mowatt G., N'Dow J., Vale L. et al. // *Int. J. Technol. Assess. Health Care*. 2011. **27**, N 1. P. 3.
31. Lotan Y., Bivalacqua T.J., Downs T. et al. // *Nat. Rev. Urol.* 2019. **16**, N 6. P. 377.
32. Bochenek K., Aebisher D., Mikdzybrodzka A. et al. // *Photodiagnosis Photodyn. Ther.* 2019. **27**, P. 141.
33. Yatabe T., Marie S.-L., Fukuhara H. et al. // *10.1186/s40981-019-0279-1JA Clin. Reports*. 2019. **5**, N 1. P. 58.
34. Herr H.W., Donat S.M. // *BJU Int.* 2008. **102**, N 9. P. 1111.
35. Zheng C., Lv Y., Zhong Q. et al. // *BJU Int.* 2012. **110**, N 11b. P. E680.
36. Cauberg E.C.C., Kloen S., Visser M. et al. // *Urology*. 2010. **76**, N 3. P. 658.
37. <https://www.ncbi-porta1.eu/en/uro/> accessed last October 11, 2021.
38. Tandogdu Z., Lewis R., Duncan A. et al. // *BMJ Open*. 2019. **9**, N 9. P. e022268.
39. Cho J.-H. // *Clin. Endosc.* 2015. **48**, N 6. P. 503.
40. Draga R.O.P., Grimbergen M.C.M., Vijverberg P.L.M. et al. // *Anal. Chem.* 2010. **82**, N 14. P. 5993.
41. Kriegmair M.C., Honeck P., Theuring M. et al. // *World J. Urol.* 2018. **36**, N 5. P. 745.
42. Jacobson M.C., White R.W. deVere, Demos S.G. // *J. Biomed. Opt.* 2012. **17**, N 3. P. 1.
43. Tewari A., Peabody J., Sarle R. et al. // *Urology*. 2002. **60**, N 4. P. 569.
44. T. G.M., András H., Laurent S. et al. // *J. Urol.* 2003. **170**, N 2. P. 416.
45. Pinto M., Zorn K.C., Tremblay J.-P. et al. // *J. Biomed. Opt.* 2019. **24**, N 2. P. 1.
46. Daniel S., Arkadiusz M., Samir L. et al. // *J. Urol.* 2019. **202**, N 6. P. 1263.
47. Schlager D., Schulte A., Schütz J. et al. // *World J. Urol.* 2021. **39**, N 7. P. 2719.
48. Jan S., Arkadiusz M., Albrecht B., Daniel S. // *J. Urol.* 2019. **201**, N 1. P. 182.
49. Lange B., Cordes J., Brinkmann R. In *Medical Laser Applications and Laser-Tissue Interactions VII*. **9542**. Optical Society of America. 2015. 954200.
50. Lange B., Cordes J., Brinkmann R. // *Lasers Surg. Med.* 2015. **47**, N 9. P. 737.
51. Strittmatter F., Eisel M., Brinkmann R. et al. // *Transl. Biophotonics*. 2020. **2**, N 1. P. e201900029.
52. Miernik A., Eilers Y., Nuese C. et al. // *World J. Urol.* 2015. **33**, N 10. P. 1593.
53. Carli P., Mannone F., de Giorgi V. et al. // *Melanoma Res.* 2003. **13**, N 2.
54. Kittler H., Pehamberger H., Wolff K., Binder M. // *Lancet Oncol.* 2002. **3**, N 3. P. 159.
55. Morton C.A., Mackie R.M. // *Br. J. Dermatol.* 1998. **138**, N 2. P. 283.
56. van der Rhee J.I., Bergman W., Kukutsch N.A. // *Acta Derm. Venereol.* 2011. **91**, N 4. P. 428.
57. Santos I.P., Caspers P.J., Bakker Schut T.C. et al. // *Anal. Chem.* 2016. **88**, N 15. P. 7683.
58. Pellacani G., Cesinaro A.M., Seidenari S. // *J. Am. Acad. Dermatol.* 2005. **53**, N 6. P. 979.
59. Ahlgrimm-Siess V., Massone C., Koller S. et al. // *Br. J. Dermatol.* 2008. **158**, N 5. P. 1000.
60. Langley R.G.B., Walsh N., Sutherland A.E. et al. // *Dermatology* 2007. **215**, N 4. P. 365.
61. Dahlstrand U., Sheikh R., Nguyen C.D. et al. // *Ski. Res. Technol.* 2018. **24**, N 4. P. 667.
62. Murphy B.W., Webster R.J., Turlach B.A. et al. // *J. Biomed. Opt.* 2005. **10**, N 6. P. 1.
63. Zonios G., Dimou A., Bassukas I. et al. // *J. Biomed. Opt.* 2008. **13**, N 1. P. 1.
64. Borisova E., Troyanova P., Pavlova P., Avramov L. // *Quantum Electron.* 2008. **38**, N 6. P. 597.
65. Borisova E., Pavlova P., Pavlova E. et al. // *Int. J. Bioautomation*. 2012. **16**, N 1. P. 53.
66. Bratchenko I.A., Artemyev D.N., Myakinin O.O. et al. // *J. Biomed. Opt.* 2017. **22**, N 2. P. 1.
67. Borisova E.G., Bratchenko I.A., Khristoforova Y.A. et al. // *Opt. Eng.* 2020. **59**, N 6. P. 1.
68. Leupold D., Scholz M., Stankovic G. et al. // *Pigment Cell Melanoma Res.* 2011. **24**, N 3. P. 438.
69. Dimitrow E., Riemann I., Ehlers A. et al. // *Exp. Dermatol.* 2009. **18**, N 6. P. 509.
70. Szyk L., Scharlach C., Haensle H., Fink C. // *J. Biomed. Opt.* 2021. **26**, N 7. P. 1.
71. Ghassemi F., Mirshahi R., Fadakar K., Sabour S. // *Clin. Ophthalmol.* 2018. **12**. P. 207.
72. Gambichler T., Regeniter P., Bechara F.G. et al. // *J. Am. Acad. Dermatol.* 2007. **57**, N 4. P. 629.
73. Gniadecka M., Philipsen P.A., Wessel S. et al. // *J. Invest. Dermatol.* 2004. **122**, N 2. P. 443.
74. Bratchenko I.A., Bratchenko L.A., Moryatov A.A. et al. // *Exp. Dermatol.* 2021. **30**, N 5. P. 652.
75. Deán-Ben X.L., Razansky D. // *Exp. Dermatol.* 2021. n/a, N n/a.

76. E. M.T., R. P.I., Angelica S.M. et al. // *Sci. Transl. Med.* 2011. **3**, N 71. P. 71ra15.
77. Ju K.-Y., Degan S., Fischer M.C. et al. // *J. Biomed. Opt.* 2019. **24**, N 5. P. 1.
78. Nahata H., Singh S.P. In *Machine Learning with Health Care Perspective*. Springer, 2020. pp. 159–182.
79. Adegun A., Viriri S. // *Artif. Intell. Rev.* 2021. **54**, N 2. P. 811.
80. Cicchi R., Cosci A., Rossari S. et al. // *J. Biophotonics.* 2014. **7**, N 1–2. P. 86.
81. Varkentin A., Mazurenka M., Blumenröther E. et al. // *J. Biophotonics.* 2018. **11**, N 6. P. e201700288.
82. Mazurenka M., Behrendt L., Meinhardt-Wollweber M. et al. // *Rev. Sci. Instrum.* 2017. **88**, N 10. P. 105103.
83. Gelikonov G., Gelikonov V., Moiseev A. et al. In *Springer International Publishing*, 2020, pp. 425–464.
84. Mogensen M., Nürnberg B.M., Forman J.L. et al. // *Br. J. Dermatol.* 2009. **160**, N 5. P. 1026.
85. Boone M.A.L.M., Norrenberg S., Jemec G.B.E., Del Marmol V. // *Br. J. Dermatol.* 2012. **167**, N 4. P. 856.
86. Warszawik-Hendzel O., Olszewska M., Maj M. et al. // *J. Dermatol. Case Rep.* 2015. **9**, N 4. P. 89.
87. Sauermaun K., Gambichler T., Wilmert M. et al. // *Ski. Res. Technol.* 2002. **8**, N 3. P. 141.
88. Gerger A., Koller S., Weger W. et al. // *Cancer.* 2006. **107**, N 1. P. 193.
89. Paoli J., Smedh M., Wennberg A.-M., Ericson M.B. // *J. Invest. Dermatol.* 2008. **128**, N 5. P. 1248.
90. Thompson A.J., Coda S., Surenson M.B. et al. // *J. Biophotonics.* 2012. **5**, N 3. P. 240.
91. Drakaki E.A., Dessinioti C., Stratigos A.J. et al. // *J. Biomed. Opt.* 2014. **19**, N 3. P. 1.
92. Bakker Schut T.C., Caspers P.J., Puppels G.J. et al. // *J. Invest. Dermatol.* 2002. **119**, N 1. P. 64.
93. Boitor R., de Wolf C., Weesie F. et al. // *Biomed. Opt. Express.* 2021. **12**, N 4. P. 2015.
94. Gerger A., Wiltgen M., Langsenlehner U. et al. // *Ski. Res. Technol.* 2008. **14**, N 3. P. 359.
95. Shirshin E.A., Yakimov B.P., Darvin M.E. et al. // *Biochem.* 2019. **84**, N 1. P. 69.
96. Shirshin E.A., Gurfinkel Y.I., Priezzhev A.V. et al. // *Sci. Rep.* 2017. **7**, N 1. P. 1171.
97. Kröger M., Scheffel J., Nikolaev V.V. et al. // *Sci. Rep.* 2020. **10**, N 1. P. 14930.
98. Shirshin E.A., Gurfinkel Y.I., Matskeplishvili S.T. et al. // *J. Biophotonics.* 2018. **11**, N 9. P. 1.
99. Caspers P.J., Bruining H.A., Puppels G.J. et al. // *J. Invest. Dermatol.* 2001. **116**, N 3. P. 434.
100. Caspers P.J., Lucassen G.W., Puppels G.J. // *Biophys. J.* 2003. **85**, N 1. P. 572.
101. Lademann J., Meinke M.C., Sterry W., Darvin M.E. // *Exp. Dermatol.* 2011. **20**, N 5. P. 377.
102. Choe C., Lademann J., Darvin M.E. // *Analyst.* 2016. **141**, N 22. P. 6329.
103. Yakimov B.P., Venets A. V., Schleusener J. et al. // *Analyst.* 2021. **146**, N 10. P. 3185.
104. Choe C., Lademann J., Darvin M.E. // *J. Dermatol. Sci.* 2015. **79**, N 2. P. 176.
105. <https://www.riverd.com/> accessed last October 11, 2021.
106. Yakimov B.P., Shirshin E.A., Schleusener J. et al. // *Sci. Rep.* 2020. **10**, N 1. P. 14374.
107. Guimaraes P., Batista A., Zieger M. et al. // *Sci. Rep.* 2020. **10**, N 1. P. 7968.
108. Batista A., Breunig H.G., Hager T. et al. // *Sci. Rep.* 2019. **9**, N 1. P. 10241.
109. Chu C.R., Izzo N.J., Irrgang J.J. et al. // *J. Biomed. Opt.* 2007. **12**, N 5. P. 1.
110. Rogowska J., Bryant C.M., Brezinski M.E. // *J. Opt. Soc. Am. A.* 2003. **20**, N 2. P. 357.
111. Chu C.R., Williams A., Tolliver D. et al. // *Arthritis Rheum.* 2010. **62**, N 5. P. 1412.
112. O'Malley M.J., Chu C.R. // *Minim. Invasive Surg.* 2011. **2011**. P. 671308.
113. Pailhé R., Mounier A., Boisson B. et al. // *Osteoarthr. Cartil.* 2018. **26**, N 2. P. 285.
114. Bear D.M., Szczodry M., Kramer S. et al. // *J. Orthop. Trauma.* 2010. **24**, N 9. P. 577.
115. Öberg P.E., Sundqvist T., Johansson A. // *Med. Biol. Eng. Comput.* 2004. **42**, N 1. P. 3.
116. Kreiß L., Hohmann M., Klämpfl F. et al. // *Sensors Actuators B Chem.* 2019. **301**. P. 127121.
117. Prakash M., Joukainen A., Torniaainen J. et al. // *Osteoarthr. Cartil.* 2019. **27**, N 8. P. 1235.
118. Sarin J.K., te Moller N.C.R., Mohammadi A. et al. // *Osteoarthr. Cartil.* 2021. **29**, N 3. P. 423.
119. Hagiwara Y., Izumi T., Yabe Y. et al. // *J. Orthop. Sci.* 2015. **20**, N 2. P. 397.
120. Wu M., van Teeffelen B.C.J., Ito K. et al. // *Osteoarthr. Cartil.* 2021. **29**, N 7. P. 1071.
121. Olumegbon I.A., Oloyede A., Afara I.O. // *Appl. Spectrosc. Rev.* 2017. **52**, N 6. P. 541.
122. Sarin J.K., te Moller N.C.R., Mancini I.A.D. et al. // *Sci. Rep.* 2018. **8**, N 1. P. 13409.
123. <https://miracleproject.eu/> accessed last October 11, 2021.
124. Kustov D.M., Kozlikina E.I., Efendiev K.T. et al. // *Biomed. Opt. Express.* 2021. **12**, N 3. P. 1761.
125. Potapov A.A., Goryaynov S.A., Okhlopkov V.A. et al. // *Neurosurg. Rev.* 2016. **39**, N 3. P. 437.
126. Лоуценов В.Б., Луньков К.Г., Савельева Т.А. et al. // *Biomed. photonics.* 2013. **2**, N 3. P. 17.
127. Farrakhova D., Romanishkin I., Maklygina Y. et al. // *Nanomaterials.* 2021. **11**, N 12. P. 3185.
128. Tzeng S.-Y., Guo J.-Y., Yang C.-C. et al. // *Biomed. Opt. Express.* 2016. **7**, N 2. P. 616.
129. Gvdush A.A., Chernomyrdin N.V., Malakhov K.M. et al. // *J. Biomed. Opt.* 2019. **24**, N 2. P. 1.
130. Cherkasova O., Peng Y., Konnikova M. et al. // *Photonics.* 2021. **8**, N 1.
131. Kucheryavenko A.S., Chernomyrdin N.V., Gvdush A.A. et al. // *Biomed. Opt. Express.* 2021. **12**, N 8. P. 5272.
132. Michael J., Kelvin M., Jeanne M. et al. // *Sci. Transl. Med.* 2015. **7**, N 274. P. 274ra19.
133. <https://surguide.nl/marginguide/> accessed last October 11, 2021.
134. Barroso E.M., Smits R.W.H., van Lanschot C.G.F. et al. // *Cancer Res.* 2016. **76**, N 20. P. 5945.
135. Duraipandian S., Bergholt M.S., Zheng W. et al. // *J. Biomed. Opt.* 2012. **17**, N 8. P. 1.
136. Bergholt M.S., Zheng W., Ho K.Y. et al. // *J. Biophotonics.* 2013. **6**, N 1. P. 49.
137. Kim H.H. // *Biomed Res. Int.* 2015. **2015**. P. 670121.
138. Teh S.K., Zheng W., Ho K.Y. et al. // *Br. J. Surg.* 2010. **97**, N 4. P. 550.
139. <http://www.endofotonics.com/> accessed last October 11, 2021.
140. Wang J., Lin K., Zheng W. et al. // *Anal. Bioanal. Chem.* 2015. **407**, N 27. P. 8303.
141. Attia A.B.E., Balasundaram G., Moothanchery M. et al. // *Photoacoustics.* 2019. **16**. P. 100144.
142. Lengenfelder B., Mehari F., Hohmann M. et al. // *Sci. Rep.* 2019. **9**, N 1. P. 1057.
143. de Assis S., Warri A., Cruz M.I. et al. // *Nat. Commun.* 2012. **3**, N 1. P. 1053.

144. Lin L., Hu P., Tong X. et al. // *Nat. Commun.* 2021. **12**, N 1. P. 882.
145. <https://senomedical.com/> accessed last October 11, 2021.
146. Heijblom M., Piras D., Brinkhuis M. et al. // *Sci. Rep.* 2015. **5**, N 1. P. 11778.
147. Hajihashemi M.R., Grobmyer S.R., Al-Quran S.Z., Jiang H. // *PLoS One.* 2012. **7**, N 9. P. e45714.
148. McBride T.O., Pogue B.W., Gerety E.D. et al. // *Appl. Opt.* 1999. **38**, N 25. P. 5480.
149. Choe R., Konecky S.D., Corlu A. et al. // *J. Biomed. Opt.* 2009. **14**, N 2. P. 1.
150. Choe R., Corlu A., Lee K. et al. // *Med. Phys.* 2005. **32**, N 4. P. 1128.
151. Stone G.W., Maehara A., Lansky A.J. et al. // *N. Engl. J. Med.* 2011. **364**, N 3. P. 226.
152. Wilson R.H., Nadeau K.P., Jaworski F.B. et al. // *J. Biomed. Opt.* 2015. **20**, N 3. P. 1.
153. <https://www.infraredx.com/> accessed last October 11, 2021.
154. Jaguszewski M., Klingenberg R., Landmesser U. // *Curr. Cardiovasc. Imaging Rep.* 2013. **6**, N 5. P. 426.
155. Jang I.-K. // *Circ. Cardiovasc. Interv.* 2012. **5**, N 1. P. 10.
156. Htun N.M., Chen Y.C., Lim B. et al. // *Nat. Commun.* 2017. **8**, N 1. P. 75.
157. J U.G., Hao W., Edouard G. et al. // *JACC Cardiovasc. Imaging.* 2016. **9**, N 11. P. 1304.
158. Albaghdadi M.S., Ikegami R., Kassab M.B. et al. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2021. **41**, N 7. P. e385.
159. Bec J., Phipps J.E., Gorpas D. et al. // *Sci. Rep.* 2017. **7**, N 1. P. 8960.
160. Li C., Bec J., Zhou X., Marcu L. In *Proc. SPIE.* **11621**. 2021.
161. Лукина М.М., Ширманова М.В., Сергеева Т.Ф., Загайнова Е.В. // *Современные технологии в медицине.* 2016. **8**, N 4.
162. Bec J., Shaik T.A., Krafft C. et al. // *Front. Cardiovasc. Med.* 2020. **7**. P. 122.
163. Sunwon K., Hongki Y., Won K.J. // *JACC Cardiovasc. Imaging.* 2021. **14**, N 9. P. 1843.
164. Sun Y., You S., Du X. et al. // *Quant. Imaging Med. Surg.* 2020. **10**, N 11. P. 2177.
165. Bertrand M.-J., Abran M., Maafi F. et al. // *Sci. Rep.* 2019. **9**, N 1. P. 2670.
166. <https://www.invenio-imaging.com/> accessed last October 11, 2021.
167. Orringer D.A., Pandian B., Niknafs Y.S. et al. // *Nat. Biomed. Eng.* 2017. **1**, N 2. P. 27.
168. Hollon T.C., Pandian B., Adapa A.R. et al. // *Nat. Med.* 2020. **26**, N 1. P. 52.

### Biomedical Photonics for Intraoperative Diagnostics: Review of Capabilities and Clinical Applications

E.A. Shirshin<sup>1,2,a</sup>, B.P. Yakimov<sup>1,2</sup>, G.S. Budylin<sup>2,3</sup>, N.V. Zlobina<sup>1,2</sup>, D.A. Davydov<sup>1,2</sup>, A.G. Armaganov<sup>2</sup>, V.V. Fadeev<sup>1</sup>, N.N. Sysoev<sup>1</sup>, A.A. Kamalov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Lomonosov Moscow State University, Faculty of Physics. Moscow, 119234, Russia

<sup>2</sup>Medical Research and Education Center, Lomonosov Moscow State University. Moscow, 119192, Russia

<sup>3</sup>Institute of Spectroscopy of the Russian Academy of Sciences. Troitsk, 108840 Moscow, Russia

E-mail: <sup>a</sup>[eshirshin@gmail.com](mailto:eshirshin@gmail.com)

Optical spectroscopy and microscopy techniques are widely used for basic studies of living systems. However, their application in clinical practice has two fundamental limitations. First, the depth of probing biological tissues with light is small and varies from tenths to several of millimeters. Secondly, it is difficult to use exogenous labels, which increase the sensitivity and specificity of pathological tissue detection, in vivo measurements on patients. This raises the question of the place of biomedical photonics among other physical diagnostic methods used in clinical practice. This article presents a review of optical methods and relatively new certified commercially available medical devices that use photonics to solve intraoperative diagnostic problems, i.e., the discrimination between pathological and healthy tissue sites in vivo and ex vivo by an endogenous optical response. This work discusses a wide range of medical fields in which researchers and engineers have been able to achieve high rates of sensitivity and specificity in solving the problem of classifying such tissues. The advantages and disadvantages of optical imaging and diagnostic methods, which determine their place in clinical practice, are discussed by the example of intraoperative diagnostics

**Keywords:** intraoperative diagnostics, optical guidance, tumor margin, biomedical photonics, endoscopy, optical spectroscopy, autofluorescence, diffuse reflectance spectroscopy, optoacoustic imaging, optical coherence tomography, multiphoton microscopy.

PACS: 95.75.Fg.

Received 16 July 2022.

English version: *Moscow University Physics Bulletin.* 2022. **77**, No. 6. Pp. 777–800.

#### Сведения об авторах

1. Ширшин Евгений Александрович — канд. физ.-мат. наук, ст. науч. сотрудник; e-mail: [shirshin@lid.phys.msu.ru](mailto:shirshin@lid.phys.msu.ru).
2. Якимов Борис Павлович — науч. сотрудник; e-mail: [bp.jakimov@physics.msu.ru](mailto:bp.jakimov@physics.msu.ru).
3. Бudyлин Глеб Сергеевич — канд. физ.-мат. наук, науч. сотрудник.
4. Злобина Надежда Владимировна — аспирант; e-mail: [nadezlobina@yandex.ru](mailto:nadezlobina@yandex.ru).
5. Давыдов Денис Андреевич — мл. науч. сотрудник, аспирант; e-mail: [da.davydov@physics.msu.ru](mailto:da.davydov@physics.msu.ru).
6. Армаганов Арташес Георгиевич — вед. специалист; e-mail: [persmedinfo@gmail.com](mailto:persmedinfo@gmail.com).
7. Фадеев Виктор Владимирович — профессор, доктор физ.-мат. наук; e-mail: [victor\\_fadeev@mail.ru](mailto:victor_fadeev@mail.ru).
8. Сысоев Николай Николаевич — профессор, доктор физ.-мат. наук; e-mail: [nn.sysoev@physics.msu.ru](mailto:nn.sysoev@physics.msu.ru).
9. Камалов Армаис Альбертович — профессор, доктор мед. наук, директор; e-mail: [armais.kamalov@rambler.ru](mailto:armais.kamalov@rambler.ru).