

Методы интраоперационной диагностики в пункционной малоинвазивной хирургии рака печени

Е. В. Потапова✉

Орловский государственный университет им. И. С. Тургенева, Орел, Россия

✉ potapova_ev_ogu@mail.ru

Аннотация

Введение. Рак печени занимает лидирующие позиции среди причин смерти от онкологии. Окончательный диагноз о наличии злокачественной патологии определяется по результатам патоморфологического анализа биоптата, полученного в ходе проведения чрескожной пункционной биопсии печени. Несмотря на преимущества этого метода диагностики, у него есть недостатки, в том числе возможность забора недиагностических образцов и долгое ожидание описания результатов. Поэтому необходима разработка дополнительных методов диагностики, позволяющих улучшить качество хирургической помощи пациентам с онкологией. Оптические методы являются чувствительным инструментом для определения метаболических особенностей биотканей, поэтому их использование может помочь повысить эффективность традиционных пункционных диагностических процедур за счет разработки подходов к экспресс-диагностике типа новообразований печени.

Цель работы. Разработка методов интраоперационной диагностики в пункционной малоинвазивной хирургии рака печени *in vivo*, которые позволяют различать паренхиму и опухоли печени, а также классифицировать типы новообразований (первичные злокачественные, метастазы и доброкачественные) на основе методов оптической спектроскопии с использованием машинного обучения.

Материалы и методы. Использованы методы клинических исследований, описательной математической статистики и машинного обучения.

Результаты. Предложены спектроскопические методы интраоперационной диагностики, апробированные в клинике. Достигнуты высокие показатели диагностической точности в ходе чрескожной пункционной биопсии новообразований печени. Применение разработанных классификаторов обеспечивает выявление патологических изменений с чувствительностью и специфичностью 0.90 и 0.95 соответственно. При обнаружении опухолевой ткани возможна дифференциация типа новообразования с чувствительностью и специфичностью, достигающими 0.80 и 0.95.

Заключение. Последние достижения в области оптики позволили реализовать и внедрить оптические технологии в мини-инвазивную область хирургии, в частности, интегрировать тонкоигльные оптоволоконные зонды в стандартные пункционные иглы. Описываемые в статье методы позволяют быстрее сделать предварительное заключение о типе опухоли за счет автоматизированной обработки данных, полученных методами оптической спектроскопии непосредственно в процессе пункционных вмешательств. Это позволит увеличить точность и надежность пункционной биопсии, что имеет первостепенное значение при определении персонализированной стратегии лечения.

Ключевые слова: опухоли печени, чрескожная пункционная биопсия, флуоресцентная спектроскопия, флуоресцентная спектроскопия с временным разрешением, спектроскопия диффузного отражения

Для цитирования: Потапова Е. В. Методы интраоперационной диагностики в пункционной малоинвазивной хирургии рака печени // Изв. вузов России. Радиоэлектроника. 2024. Т. 27, № 6. С. 106–119. doi: 10.32603/1993-8985-2024-27-6-106-119

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Источник финансирования. Работа выполнена при финансовой поддержке проектов РНФ № 18-15-00201 и № 21-15-00325.

Статья поступила в редакцию 04.08.2024; принята к публикации после рецензирования 21.10.2024; опубликована онлайн 27.12.2024

Methods of Intraoperative Diagnosis in Puncture Minimally Invasive Surgery of Liver Cancer

Elena V. Potapova ✉

Orel State University, Orel, Russia

✉ potapova_ev_ogu@mail.ru

Abstract

Introduction. Liver cancer is a leading cause of death in oncology. The final diagnosis is determined by a pathomorphological analysis of tissue specimens obtained during percutaneous puncture biopsy. Despite its obvious advantages, this method is associated with the possibility of obtaining nondiagnostic specimens and the need for long wait times. Therefore, additional diagnostic methods should be developed to improve the quality of surgical care for oncology patients. Optical methods are a sensitive tool for determining the metabolic characteristics of biotissues. Such methods may improve the efficacy of conventional puncture procedures by developing approaches for rapid diagnosis of liver neoplasm types.

Aim. Development of intraoperative diagnostic methods for in vivo minimally invasive liver cancer surgery that allow differentiation between liver parenchyma and tumors, as well as classification of neoplasm types (primary malignant, metastatic, and benign) based on optical spectroscopy and machine learning.

Materials and methods. The methods of clinical research, descriptive mathematical statistics, and machine learning were used.

Results. Spectroscopic methods of intraoperative diagnostics, tested in clinic settings, are proposed. These methods demonstrated high diagnostic accuracy during percutaneous puncture biopsy of liver neoplasms. Application of the developed classifiers enables detection of pathological changes with a sensitivity and specificity of 0.90 and 0.95, respectively. When a tumor tissue is detected, differentiation of neoplasm type is possible with a sensitivity and specificity reaching 0.80 and 0.95, respectively.

Conclusion. Recent advances in optics have enabled the implementation of optical technologies in minimally invasive surgery, particularly the integration of fiber optic probes into standard puncture needles. The methods described in this paper facilitate preliminary conclusion about the tumor type with automated processing of optical spectroscopy data during puncture interventions. The application of these methods in clinical practice will increase the accuracy and reliability of puncture biopsy, which is essential in determining a personalized treatment strategy.

Keywords: liver tumors, percutaneous puncture biopsy, fluorescence spectroscopy, time-resolved fluorescence spectroscopy, diffuse reflectance spectroscopy

For citation: Potapova E. V. Methods of Intraoperative Diagnosis in Puncture Minimally Invasive Surgery of Liver Cancer. Journal of the Russian Universities. Radioelectronics. 2024, vol. 27, no. 6, pp. 106–119. doi: 10.32603/1993-8985-2024-27-6-106-119

Conflict of interest. The author declares no conflicts of interest.

Source of funding. This work was supported by Russian Science Foundation under projects No. 18-15-00201 and No. 21-15-00325.

Submitted 04.08.2024; accepted 21.10.2024; published online 27.12.2024

Введение. Первичный и вторичный (метастазы, образовавшиеся в результате распространения раковых клеток из первичной опухоли, локализованной в другом органе) онкопроцессы в печени занимают лидирующие позиции среди основных причин смерти от онкологии во всем мире [1]. Прогноз течения заболевания сильно коррелирует с задержкой диа-

гностики [2], и раннее выявление болезни – залог успешного лечения и выздоровления. Операции, проведенные на первых стадиях рака печени, как правило, дают хорошие результаты. При обследовании пациентов с подозрением на рак печени предпочтение отдается методам медицинской интроскопии [3]. Их диагностическая эффективность зависит от размеров

Методы интраоперационной диагностики в пункционной малоинвазивной хирургии рака печени

107

Methods of Intraoperative Diagnosis in Puncture Minimally Invasive Surgery of Liver Cancer

опухоли, ее морфологических особенностей, а также от заболеваний и состояния печени [4]. Окончательный диагноз о наличии злокачественной патологии формулируется по результатам патоморфологического анализа биоптата, полученного в процессе чрескожной пункционной биопсии печени (ЧПБ) под контролем ультразвуковой навигации [5]. Одна из проблем ЧПБ – высокая вероятность взятия проб с недиагностической ценностью для цитологии или гистопатологии. При анализе опубликованных данных о неадекватном отборе проб при тонкоигольной ЧПБ различных органов под ультразвуковым контролем было выявлено, что частота выборки неинформативных образцов зависела от опыта врача, проводящего диагностику, а также функциональных перестроек в нормальной ткани органов и по различным данным составляла до 15...25 % [6–8]. Морфологическая классификация опухолей является объективной, но требует времени и высокой квалификации специалистов. При этом определение типа опухоли влияет на лечебный алгоритм и может обуславливать проведение дополнительных диагностических процедур и срочную маршрутизацию пациентов в специализированные центры [9, 10]. В связи с этим актуальна разработка методов диагностики, способных непосредственно во время обследования дифференцировать области опухоли и паренхимы, а также определять уровень злокачественности и происхождение опухоли (первичная или вторичные опухолевые очаги) печени.

Оптические методы – мощный инструмент для определения метаболических особенностей биотканей, поэтому их использование может помочь повысить эффективность традиционных пункционных диагностических процедур. Кроме того, достижения в области оптики позволяют интегрировать тонкоигольные оптоволоконные зонды в стандартные пункционные хирургические инструменты, обеспечивая регистрацию сигналов различной природы из одного диагностического объема с реализацией мультимодального подхода к оптической диагностике [11, 12].

Флуоресцентная спектроскопия (ФС) и спектроскопия диффузного отражения (СДО) активно применяются в качестве инструментов оценки состояния биологических тканей, в том

числе при определении их злокачественности *in vivo* [13–16]. Выраженной автофлуоресценцией при облучении биотканей светом видимого и инфракрасного диапазонов обладает ряд эндогенных флуорофоров, в том числе коферменты НАДН (восстановленный никотинамидадениндинуклеотид) и ФАД (флавинадениндинуклеотид). Метаболические перестройки, опосредованные опухолью, изменяют содержание данных биологических веществ, определяя флуоресцентные различия между неизмененными и онкологическими тканями [17–20]. Кофермент НАДН имеет компоненты с коротким и длительным временами жизни в зависимости от его статуса связывания с белками. По изменению относительного соотношения свободного и связанного НАДН можно оценить клеточный метаболический редокс-статус [21]. Метод ФС с временным разрешением позволяет регистрировать кривые затухания эндогенных флуорофоров и является более высокочувствительным инструментом для оценки биохимических изменений в тканях [22]. На отражательную способность биологических тканей влияет их морфология (в том числе размер ядер), содержание крови и ее оксигенация, которые сопровождают патологические трансформации, в том числе при неоваскуляризации опухолей. Сочетание двух методов оптической диагностики – ФС и СДО – в одной диагностической технологии может дать больше информации о перфузионно-метаболических перестройках опухолевых тканей.

Возможность регистрировать оптические сигналы через зонды малого диаметра легла в основу разработки целого ряда устройств для применения в пункционной малоинвазивной хирургии различных органов. Перспективы оптической биопсии в малоинвазивной пункционной хирургии были исследованы несколькими научными группами для различных органов и систем *ex vivo* и частично *in vivo*, в том числе с целью выявления онкологии головного мозга [23], молочной железы [24–26], легких [27–29]. Для оптической биопсии печени с целью дифференциации опухолевых тканей и паренхимы печени в *ex vivo* исследованиях описаны устройства, созданные с помощью метода СДО [30, 31]. В [32] описана система

для получения оптических характеристик колоректальных метастазов в печени человека *in vivo*, но не было предложено классификатора для дифференциации типов тканей. Также *in vivo* диагностика опухолей печени описана в [33], но используемый зонд (15G) имеет достаточно большой диаметр для проведения исследований в пункционной малоинвазивной хирургии и применялся авторами при открытой операции.

Для улучшения эффективности методов диагностики все чаще используются методы машинного и глубокого обучения. Их преимущество – возможность анализа массивных многопараметрических данных, включая оптические [34], для извлечения значимой информации о клиническом диагнозе и решениях о лечении пациента.

Цель работы, описываемой в данной статье, – создание методов интраоперационной диагностики в пункционной малоинвазивной хирургии рака печени *in vivo*, которые позволяют различать паренхиму и опухоли печени, а также классифицировать типы новообразований (первичные злокачественные, метастазы и доброкачественные) на основе методов оптической спектроскопии с использованием машинного обучения.

Материалы и методы. Методы интраоперационной диагностики в пункционной малоинвазивной хирургии рака печени были разработаны на основе исследований, проводимых с помощью двух оригинальных устройств.

Схема мультимодальной спектроскопиче-

ской системы для *in vivo* регистрации спектров тканей печени через тонкоигольный оптоволоконный зонд методами ФС и СДО приведена на рис. 1 [35].

Блок излучения системы состоит из двух диодных источников излучения с длинами волн 365 и 450 нм и широкополосного галогенного (360...2400 нм) источника излучения. Оптические фильтры предназначены для ослабления обратнорассеянного излучения в канале ФС. Доставка и сбор оптического излучения осуществляются с помощью оптоволоконного зонда с жестким окончанием в виде иглы малого диаметра (1 мм) длиной 220 мм. Зонд содержит 10 оптических волокон: 9 передающих (диаметр 100 мкм) и одно принимающее (диаметр 200 мкм). Такая конфигурация повышает эффективность освещения биоткани и сбора диффузно отраженного и флуоресцентного оптического излучения. Свет, собранный зондом, регистрируется ПЗС-спектрометром. Управление устройством и обработка полученных данных проводятся с помощью компьютера в специально разработанной программной среде. Время экспозиции для измерения одного спектра ФС – 1.5 с, спектра СДО – 0.05 с. Перед каждой серией измерений устройство калибровали.

На рис. 2 приведена схема оригинального устройства для регистрации спектров затухания флуоресценции. Система рассчитана на регистрацию флуоресценции кофермента мета-

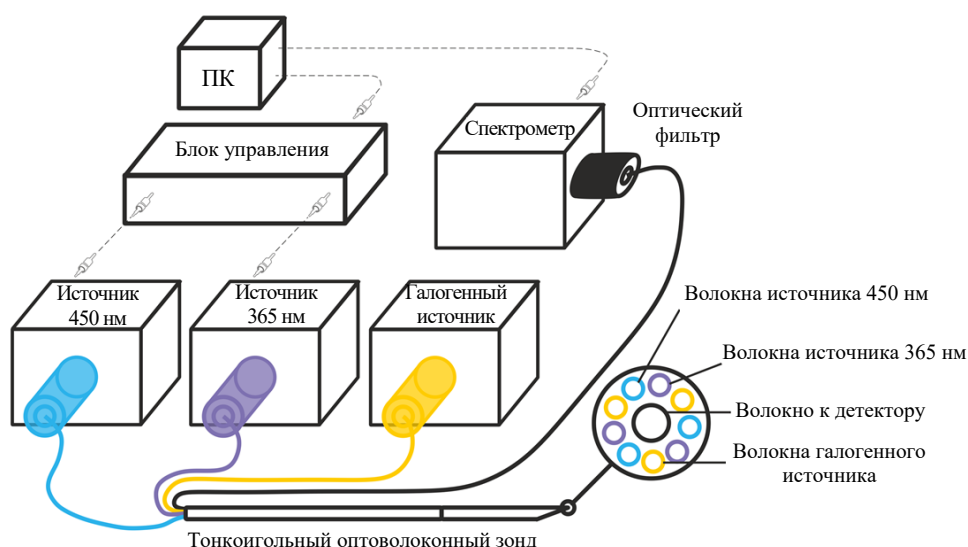


Рис. 1. Структурная схема мультимодальной спектроскопической системы

Fig. 1. Block diagram of a multimodal spectroscopic system

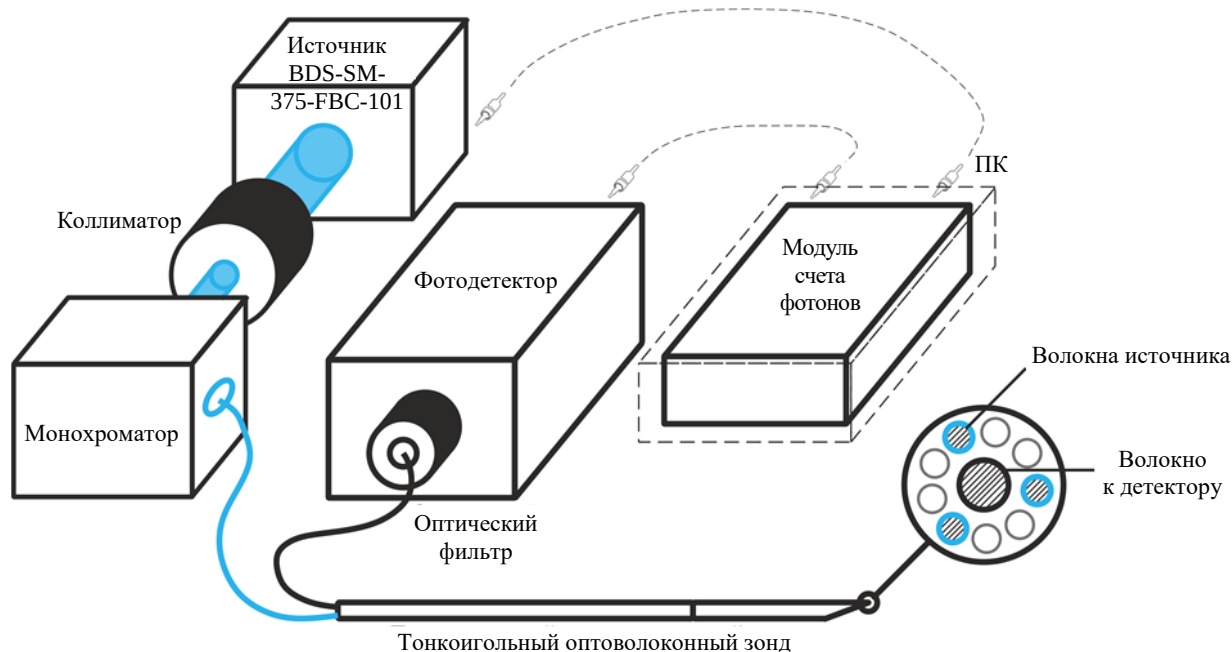


Рис. 2. Структурная схема устройства ФС с временным разрешением

Fig. 2. Block diagram of a time-resolved fluorescence spectroscopy

близма НАДН в его свободном и связанном с белками состояниях.

Основные блоки системы – источник возбуждения флуоресценции – пикосекундный диодный лазер BDS-SM-375-FBC-101 с длиной волны 375 нм и гибридный фотодетектор. Для выделения интересующей спектральной области флуоресцентного излучения использовался полосовой оптический фильтр. Подсчет фотонов в модуле счета фотонов и окончательная обработка данных проводятся с помощью специального программно-алгоритмического обеспечения на компьютере. Время экспозиции для измерения одного спектра – 1 с. Для валидации данных, полученных с помощью системы ФС с временным разрешением и оптоволоконного зонда, описанного ранее, регистрировали кривые затухания флуоресценции свежих растворов НАДН, разбавленных в концентрациях, соответствующих их возможному концентрации в живой клетке [37].

На этапе разработки метода дифференциации новообразований печени от условно здоровой паренхимы с помощью мультимодального устройства, реализующего методы ФС и СДО, привлекались 20 пациентов хирургического отделения Орловской областной клинической больницы. При разработке метода клас-

сификации новообразований печени (первичный рак печени, метастазы, доброкачественные опухоли) с помощью устройства, реализующего метод ФС с временным разрешением, привлекались 25 пациентов из того же отделения. Исследования были одобрены этическим комитетом ОГУ им. И. С. Тургенева (протокол № 14 от 24.01.2019) и выполнены в соответствии с принципами биомедицинской этики, сформулированными в Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующих обновлениях. Регистрация спектров осуществлялась во время стандартной процедуры ЧПБ под ультразвуковым контролем в тканях паренхимы печени и новообразования, характер которого подтверждался гистологическим исследованием.

Результаты. Для разработки метода дифференциации нормальных и опухолевых тканей печени были зарегистрированы и проанализированы спектры флуоресценции и диффузного отражения в здоровой паренхиме и в новообразовании. Типичные примеры спектроскопических сигналов приведены на рис. 3.

При анализе результатов в канале ФС было обнаружено, что пик флуоресценции на длинах волн возбуждения 365 нм (I_{365}) и 450 нм (I_{450}) смещается в длинноволновую область в опухолевой ткани относительно паренхимы печени.

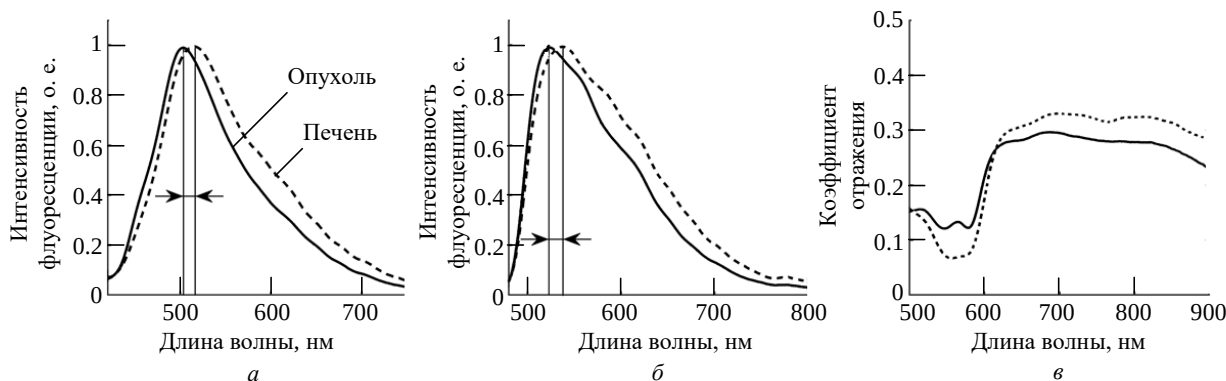


Рис. 3. Зарегистрированные в печени и опухоли спектры флуоресценции на длине волны возбуждения 365 нм (а); 450 нм (б) и диффузного отражения (в) (типичные примеры)

Fig. 3. Spectra recorded in the liver and tumor fluorescence excitation wavelengths of 365 nm (a); of 450 nm (b) and diffuse reflection (c) (typical examples)

Этот параметр может служить качественным диагностическим параметром для дифференциации типа ткани. Также было отмечено, что спектры диффузного отражения наиболее сильно различаются по форме в областях поглощения окси- и дезоксигемоглобина. Для оценки различий в оксигенации тканей был рассчитан параметр тканевой сатурации (StO_2) с помощью подхода, описанного в [34]. Он заключается в использовании нейросетевого прогнозирования параметров, влияющих на спектры диффузного отражения, на основе обучающего набора смоделированных данных. Была обнаружена статистически значимая разница в насыщении кислородом двух типов тканей, при этом сатурация опухолевых тканей оказалась выше, чем в печеночной паренхиме.

Результаты расчетов анализируемых параметров (I_{365} , I_{450} и StO_2) в неизменной паренхиме печени и в опухоли представлены в табл. 1. Из-за несимметричности закона распределения данные представлены в формате Ме [Q1...Q3], где Ме – медиана; Q1 – первый квартиль; Q3 – третий квартиль.

Для определения различий между параметрами (неизменная паренхима печени и опу-

холь) использовали критерий Манна–Уитни.

Результаты патоморфологического анализа образцов, полученных при ЧПБ печени из областей, где проводилась регистрация спектров ФС и СДО, подтвердили наличие онкологии у всех пациентов: у двух человек первичный рак печени и у 18 – метастазы различного происхождения.

На рис. 4 представлены типичные кривые затухания флуоресценции, полученные с помощью устройства, реализующего метод ФС с временным разрешением, зарегистрированные в условно здоровой паренхиме печени по траектории движения к опухоли и непосредственно в опухолевом новообразовании.

Для количественной оценки затухания флуоресценции был применен алгоритм подгонки кривых по методу наименьших квадратов к модели двухэкспоненциального затухания:

$$I(t) = I_{\text{noise}} + I_0 [\alpha_1 \exp(-t/\tau_1) + \alpha_2 \exp(-t/\tau_2)],$$

где $I(t)$ – интенсивность флуоресценции, число фотонов; I_{noise} – постоянный фоновый сигнал; I_0 – интенсивность сигнала в начальный момент времени; α_1 и α_2 – относительные вклады компонент времени жизни ($\alpha_1 + \alpha_2 = 100\%$);

Табл. 1. Результаты расчета диагностических параметров, полученных методом ФС и СДО

Tab. 1. Calculation of diagnostic parameters obtained by fluorescence spectroscopy and diffuse reflection spectroscopy

Область измерения	Пик амплитуды флуоресценции (возбуждение 365 нм) I_{365} , нм	Пик амплитуды флуоресценции (возбуждение 450 нм) I_{450} , нм	Тканевая сатурация StO_2 , %
Паренхима печени	508 [505...512]	531 [523...537]	81.9 [79.5...82.8]
Опухоль	502 [500...503]*	520 [518...524]*	86.7 [85.7...89.7]*

* Статистическая значимость различий с вероятностью $p < 0.001$.

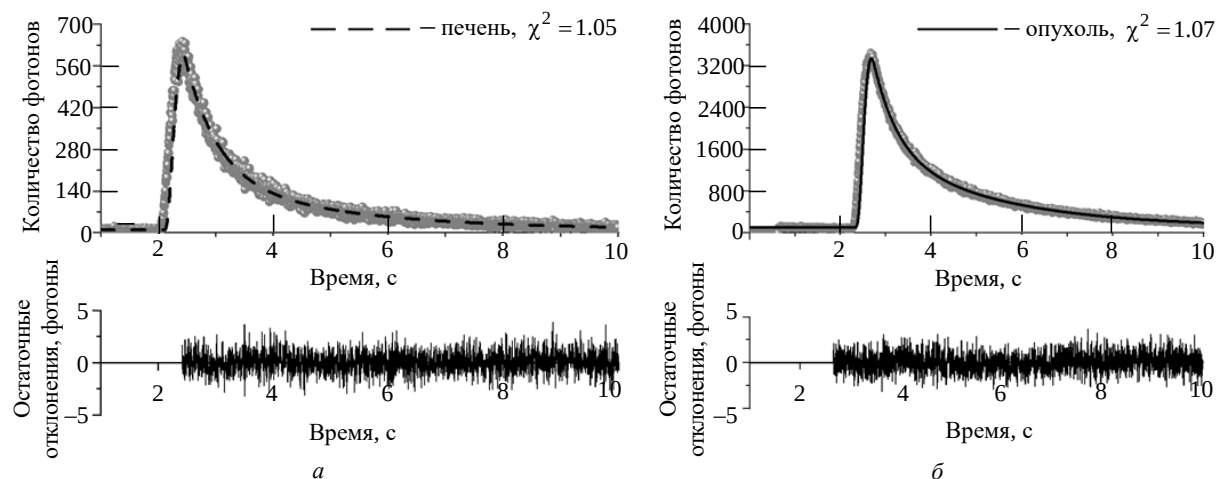


Рис. 4. Кривые затухания флуоресценции, зарегистрированные в печени (а) и опухоли (б) (типичные примеры).
Остаточные отклонения рассчитываются как разница между модельной функцией и экспериментальными данными в каждый момент времени

Fig. 4. Fluorescence decay recorded in a liver parenchyma (a) and in a tumor (b) (typical examples).

Residual deviations are calculated as the difference between the model function and the experimental data at each time point

τ_1 и τ_2 – времена жизни флуорофора (τ_1 – компонента с коротким временем жизни; τ_2 – компонента с длительным временем жизни). Хорошее соответствие характеризуется значением χ^2 , близким к 1.

По результатам гистологического анализа из 25 новообразований: 6 классифицированы как первичный рак печени; 6 – как доброкачественная опухоль и 13 – как метастазы различного происхождения.

Результаты расчетов параметров кривых затухания в условно здоровой паренхиме печени и в центре опухоли для различных типов новообразований представлены в табл. 2. Из двух связанных между собой параметров α_1 и α_2 выбран последний, так как ранее было показано, что именно он может дать больше физиологической информации при построении классификаторов [38]. Из-за несимметричности закона распределения данные также представлены в формате Me [Q1...Q3], где Me – медиана; Q1 – первый квартиль; Q3 – третий квартиль.

Для определения различий между параметрами (неизменная паренхима печени и опухоль) использовали критерий Манна–Уитни.

Для синтеза правила принятия решений с целью разделения тканей на 2 класса: опухоли и нормальные ткани, а также на классы опухолей различного типа (первичные, метастазы и доброкачественные) был рассмотрен ряд клас-

сификационных моделей.

Данные, полученные с помощью мультимодального устройства, реализующего методы ФС и СДО, были поделены на 2 класса: неизменная паренхима и опухоль печени. Было установлено, что для полученного набора данных наибольшей чувствительностью и специфичностью обладает метод опорных векторов (Support Vector Machine – SVM). Он преобразует исходное пространство данных в новое, более многомерное, где данные легче разделить гиперплоскостью. Это достигается через ядро, выполняющее нелинейное преобразование данных. Первым шагом является подготовка данных, которая включает в себя масштабирование признаков и разбиение данных на обучающую и тестовую выборки. Затем создается SVM-модель с определенным типом ядра, которая обучается на обучающей выборке. Во время обучения SVM находит оптимальную гиперплоскость, чтобы максимизировать разрыв между классами. В табл. 3 приведены параметры эффективности разработанных классификаторов при использовании всех трех диагностических параметров (I_{365} , I_{450} и StO_2), а также при их различном попарном сочетании.

Данные, полученные с помощью устройства, реализующего метод ФС с временным разрешением, были поделены на 3 класса: первичный рак печени, метастазы различного происхождения и доброкачественная опухоль.

Табл. 2. Результаты расчета диагностических параметров, полученных методом ФС с временным разрешением

Tab. 2. Calculation of diagnostic parameters obtained by time-resolved fluorescence spectroscopy

Область измерения	Интенсивность флуоресценции (I), фотоны	Короткое время жизни флуоресценции (τ_1), пс	Длительное время жизни флуоресценции (τ_2), пс	Вклад компоненты с длительным временем жизни (α_2), %
Первичный рак печени				
Паренхима печени	$0.48 \cdot 10^6$ [0.14·10 ⁶ ...1.20·10 ⁶]	520 [514...536]	2586 [2556...2762]	35.3 [32.3...43.0]
Опухоль	$1.24 \cdot 10^6$ [0.55·10 ⁶ ...2.05·10 ⁶] ^{***}	514 [506...523] ^{***}	2572 [2537...2603] ^{**}	34.3 [31.5...38.2] [*]
Метастазы				
Паренхима печени	$0.84 \cdot 10^6$ [0.63·10 ⁶ ...1.19·10 ⁶]	492 [469...510]	2558 [2468...2596]	33.8 [31.5...35.9]
Опухоль	$0.99 \cdot 10^6$ [0.69·10 ⁶ ...1.66·10 ⁶] ^{**}	500 [484...511] ^{**}	2551 [2520...2584]	33.8 [30.7...36.3]
Доброкачественная опухоль				
Паренхима печени	$0.63 \cdot 10^6$ [0.35·10 ⁶ ...0.82·10 ⁶]	508 [479...523]	2665 [2600...2710]	35.4 [31.0...38.1]
Опухоль	$0.68 \cdot 10^6$ [0.39·10 ⁶ ...1.20·10 ⁶]	506 [488...525]	2576 [2539...2602] ^{***}	32.8 [31.1...36.3] [*]

* Статистическая значимость различий с вероятностью $p < 0.05$.

** Статистическая значимость различий с вероятностью $p < 0.01$.

*** Статистическая значимость различий с вероятностью $p < 0.001$.

Табл. 3. Параметры эффективности предложенных классификаторов дифференциации условно здоровой паренхимы печени и опухоли на основе данных флуоресценции и диффузного отражения

Tab. 3. Efficiency parameters of the proposed classifiers for differentiation of healthy liver parenchyma and tumor based on fluorescence data and diffuse reflection

Параметр	Классификатор, построенный по трем параметрам: I_{365} , I_{450} , StO_2	Классификатор, построенный по двум параметрам: I_{365} , I_{450}	Классификатор, построенный по двум параметрам: I_{365} , StO_2	Классификатор, построенный по двум параметрам: I_{450} , StO_2
Чувствительность	0.90	0.75	0.90	0.90
Специфичность	0.95	0.85	0.90	0.95

Здесь наиболее эффективным оказался метод случайного леса (Random Forest – RF). В подобной модели используется так называемая bootstrap-агрегация, также известная как bagging, для построения совокупности деревьев решений. Для каждого подмножества обучающих данных строится дерево решений, которое обучается независимо и использует только некоторые случайно выбранные признаки из об-

щего набора признаков. Окончательное решение принимается агрегированием среднего значения решений по всем деревьям. В табл. 4 приведены параметры эффективности разработанных классификаторов при использовании четырех диагностических параметров: I , τ_1 , α_2 и τ_2 .

Обсуждение. На первом этапе с целью построения метода дифференциации условно здоровой паренхимы и опухолей печени были

Табл. 4. Параметры эффективности предложенных классификаторов дифференциации условно здоровой паренхимы печени и опухоли на основе данных, полученных с помощью устройства, реализующего метод ФС с временным разрешением

Tab. 4. Efficiency parameters of the proposed classifiers for differentiation of healthy liver parenchyma and tumor based on the data obtained using time-resolved fluorescence spectroscopy

Параметр	Первичный рак печени	Метастазы различного происхождения	Доброкачественная опухоль
Чувствительность	0.91	0.92	0.84
Специфичность	0.96	0.88	0.97

обнаружены различия в длинах волн, на которых наблюдалось максимальное значение флуоресценции в нормальных и патологических биотканях. Такое наблюдение, скорее всего, обусловлено опухолевыми трансформациями печеночной паренхимы. В норме ткань печени состоит из гепатоцитов, которые обеспечивают метаболические функции органа, в том числе выработку билирубина. При онкологических перестройках эта выделительная функция нарушается и данный пигмент в новообразованиях практически отсутствует. Спектр аутофлуоресценции билирубина сдвинут относительно других основных эндогенных флуорофоров (НАДН, ФАД) в красную область, что, скорее всего, влияет на суммарный регистрируемый спектр флуоресценции печеночной паренхимы. Наблюдаемое увеличение параметра тканевой сатурации в опухолевых тканях по сравнению с условно здоровыми тканями печени можно объяснить тем, что из-за неконтролируемого распространения опухолевых клеток при отсутствии эффективного кровоснабжения возникает гипоксия. В этих условиях увеличивается выработка ангиогенных факторов и начинается активная васкуляризация опухоли. Широко признано, что метастазы и опухоли в печени преимущественно кровоснабжаются артериальной кровью [39]. Кроме того, одно из возможных объяснений заключается в том, что гепатоцеллюлярные карциномы и метастазы из других органов кровоснабжаются печеночными артериями, в то время как паренхима печени имеет двойное кровоснабжение: от 75 до 80 % от общего объема печеночной крови поступает из портальной вены и от 20 до 25 % – из печеночной артерии.

При построении классификаторов для дифференциации паренхимы и опухолей печени самый высокий уровень диагностической эффективности достигается при использовании в качестве диагностических сочетания параметров максимальной амплитуды флуоресценции, возбужденной на длине волны 450 нм, и насыщения тканей кислородом или в случае использования всех трех параметров.

На втором этапе с целью построения метода классификации различного типа опухолей печени было обнаружено, что каждый из типов

новообразования имеет свой так называемый метаболический портрет. В большинстве случаев, если другие метаболические пути не оказывают существенного влияния, наблюдается изменение соотношения относительных вкладов свободной и связанной форм кофермента НАДН из-за изменения баланса между гликолизом и окислительным фосфорилированием [40]. Первичные опухоли печени характеризовались повышенной интенсивностью флуоресценции, уменьшением времени жизни τ_2 и относительного вклада компоненты с длительным временем α_2 , ассоциированных с формой кофермента НАДН, связанной с белком. Такие перестройки характерны при значительном увеличении вклада гликолиза по сравнению с митохондриальным окислительным фосфорилированием в метаболизме опухоли [38, 40]. Также повышенная интенсивность флуоресценции была зарегистрирована в метастазах, незначительные изменения регистрировались в значениях параметра τ_1 . Это может быть связано с тем, что метаболизм в метастазах не имеет преобладающего гликолитического пути и вклад во флуоресценцию вносят флуорофоры, ассоциированные с другими метаболическими перестройками. В группе пациентов с доброкачественной опухолью печени статистически значимая разница зарегистрирована для параметров α_2 и τ_2 , которые тоже были увеличены по сравнению с паренхимой печени. Это может косвенно указывать на метаболические перестройки в указанных типах опухолей, но требует дополнительных исследований.

Задача классификации опухолей по разным группам была более сложной, чем задача дифференциации патологических и опухолевых тканей, но рассчитанные показатели точности диагностики достигли высоких значений для всех видов рака. При этом обнаружение первичного рака печени, с наиболее выраженными и однозначными сдвигами тканевого метаболизма, имеет наибольшую чувствительность и специфичность в классификации типов опухолей.

Таким образом, разработаны 2 метода для дифференциации нормальных и патологических тканей печени при проведении ЧПБ, а также метод получения предварительного диагноза о типе опухолей. Безусловное преимуще-

ство первого метода – относительная дешевизна исполнения его аппаратной части. При реализации в программно-аппаратных комплексах метод легко масштабировать в серийное производство с целью внедрения в рутинную клиническую практику врачей-онкологов для повышения диагностической эффективности пункционных биопсий. По стоимостным характеристикам технических средств второй метод, безусловно, более затратен, однако получаемая информация о типе опухоли является ценной и приближается к диагностической эффективности гистопатологических методов диагностики.

Заключение. Несмотря на достижения в совершенствовании методов визуализационной диагностики (КТ, МРТ, ангиография), у некоторых пациентов диагноз рака печени не может быть подтвержден методами визуализации, и в этих случаях необходимо пункционное малоинвазивное вмешательство. Несмотря на рутинность и относительную безопасность таких процедур, все еще сохраняются проблемы интраоперационной навигации пункционных игл, а также отсутствия возможности получать хотя бы предварительное заключение о типе тканей

с подозрением на онкологические. Оптические технологии уже несколько последних десятилетий доказывают свою перспективность для получения диагностической информации о функциональном состоянии биологических тканей.

Разработанные методы дифференциации паренхимы печени и новообразований, а также классификации типов опухолей печени на основе методов ФС, СДО и ФС с временным разрешением могут применяться на этапе малоинвазивного пункционного вмешательства. Использование предложенных методов позволит не только решить важную проблему выбора места взятия биопсии при проведении ЧПБ печени, но и сразу предварительно определить диагноз природы опухоли (доброкачественная или злокачественная), а также ее происхождение (первичная опухоль или метастазы). Это позволит сделать диагностику при минимально инвазивных хирургических процедурах быстрее, увеличит ее точность и надежность, что имеет первостепенное значение при определении стратегии лечения в каждом клиническом случае и играет решающую роль в переходе к персонализированной медицине.

Список литературы

1. Cancer statistics / R. L. Siegel, K. D. Miller, H. E. Fuchs, A. Jemal // *CA: a cancer j. for clinicians*. 2022. Vol. 72, № 1. P. 7–33. doi: 10.3322/caac.21708
2. Attwa M. H., El-Etreby S. A. Guide for diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma // *World j. of hepatology*. 2015. Vol. 7, № 12. P. 1632–1651. doi: 10.4254/wjh.v7.i12.1632
3. Imaging Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma: A State-of-the-Art Review / G. Candita, S. Rossi, K. Cwiklinska, S. C. Fanni, D. Cioni, R. Lencioni, E. Neri // *Diagnostics*. 2023. Vol. 13, № 4. P. 625. doi: 10.3390/diagnostics13040625
4. Imaging for the diagnosis of hepatocellular carcinoma: A systematic review and meta-analysis / L. R. Roberts, C. B. Sirlin, F. Zaiem, J. Almasri, L. J. Prokop, J. K. Heimbach, M. H. Murad, K. Mohammed // *Hepatology*. 2018. Vol. 67, № 1. P. 401–421. doi: 10.1002/hep.29487
5. When and how should we perform a biopsy for HCC in patients with liver cirrhosis in 2018? A review / F. P. Russo, A. Imondi, E. N. Lynch, F. Farinati // *Digestive and liver disease: official j. of the Italian Society of Gastroenterology and the Italian Association for the Study of the Liver*. 2018. Vol. 50, № 7. P. 640–646. doi: 10.1016/j.dld.2018.03.014
6. Biopsy of focal liver lesions: guidelines, comparison of techniques and cost-analysis / S. M. Francque,

- F. F. De Pauw, G. H. Van den Steen, E. A. Van Marck, P. A. Pelckmans, P. P. Michielsens // *Acta gastroenterologica Belgica*. 2003. Vol. 66, № 2. P. 160–165.
7. Factors affecting inadequate sampling of ultrasound-guided fine-needle aspiration biopsy of thyroid nodules / S. H. Choi, K. H. Han, J. H. Yoon, H. J. Moon, E. J. Son, J. H. Youk, E. K. Kim, J. Y. Kwak // *Clinical endocrinology*. 2011. Vol. 74, № 6. P. 776–782. doi: 10.1111/j.1365-2265.2011.04011.x
8. Inadequate fine needle aspiration biopsy samples: pathologists versus other specialists // G. S. Gomez-Macias, R. Garza-Guajardo, J. Segura-Luna, O. Barboza-Quintana // *CytoJournal*. 2009. Vol. 6. Art. № 4. doi: 10.4103/1742-6413.52831
9. The management of hepatocellular carcinoma / M. Ducreux, G. K. Abou-Alfa, T. Bekaii-Saab, J. Berlin, A. Cervantes, T. de Baere, C. Eng, P. Galle, S. Gill, T. Gruenberger, K. Haustermans, A. Lamarca, P. Laurent-Puig, J. M. Llovet, F. Lordick, T. Macarulla, D. Mukherji, K. Muro, R. Obermannova, J. M. O'Connor, E. M. O'Reilly, P. Osterlund, P. Philip, G. Prager, E. Ruiz-Garcia, B. Sangro, T. Seufferlein, J. Tabernero, C. Verslype, H. Wasan, E. Van Cutsem // *Current expert opinion and recommendations derived from the 24th ESMO/World Congress on Gastrointestinal Cancer, Barcelona, 2022. ESMO open*, 2023, vol. 8, № 3, p. 101567. doi: 10.1016/j.esmoop.2023.101567

10. Treatment of Primary Liver Tumors and Liver Metastases, Part 1: Nuclear Medicine Techniques / N. Voutsinas, S. Lekperic, S. Barazani, J. J. Titano, S. I. Heiba, E. Kim // J. of nuclear medicine: official publication, Society of Nuclear Medicine. 2018. Vol. 59, № 11. P. 1649–1654. doi: 10.2967/jnumed.116.186346

11. Дунаев А. В. Мультимодальная оптическая диагностика микроциркуляторно-тканевых систем организма человека. Старый Оскол: ТНТ, 2022. 440 с.

12. Дунаев А. В. Метод и устройство оценки функционального состояния микроциркуляторно-тканевых систем организма человека на основе мультипараметрической оптической диагностики // Изв. вузов России. Радиоэлектроника. 2020. Т. 23, № 4. С. 77–91. doi: 10.32603/1993-8985-2020-23-4-77-91

13. Croce A. C., Bottiroli G. Autofluorescence spectroscopy and imaging: a tool for biomedical research and diagnosis // European j. of histochemistry: EJH. 2014. Vol. 58, № 4. P. 2461. doi: 10.4081/ejh.2014.2461

14. Флуоресцентная диагностика митохондриальной функции в эпителиальных тканях in vivo / Е. А. Жеребцов, В. В. Дремин, А. И. Жеребцова, Е. В. Потапова, А. В. Дунаев; Орловский государственный университет им. И. С. Тургенева. Орел, 2018. 107 с.

15. Метод оценки местного метаболизма опухолей молочных желез на основе мультимодальной оптической технологии / М. И. Арабачян, В. В. Шуплецов, М. Ю. Кириллин, А. В. Дунаев, Е. В. Потапова // Онкологический журн.: лучевая диагностика, лучевая терапия. 2024. Т. 7, № 2. С. 37–45. doi: 10.37174/2587-7593-2024-7-2-37-45

16. Interrogation of tumor metabolism in tissue samples ex vivo using fluorescence lifetime imaging of NAD(P)H / M. M. Lukina, L. E. Shimolina, N. M. Kiselev, V. E. Zagaynov, D. V. Komarov, E. V. Zagaynova, M. V. Shirmanova // Methods and applications in fluorescence. 2019. Vol. 8, № 1. P. 14002. doi: 10.1088/2050-6120/ab4ed8

17. Metabolic cofactors NAD(P)H and FAD as potential indicators of cancer cell response to chemotherapy with paclitaxel / M. M. Lukina, V. V. Dudenkova, N. I. Ignatova, I. N. Druzhkova, L. E. Shimolina, E. V. Zagaynova, M. V. Shirmanova // Biochimica et biophysica acta. General subjects. 2018. Vol. 1862, № 8. P. 1693–1700. doi: 10.1016/j.bbagen.2018.04.021

18. Sensitive detection of intracellular environment of normal and cancer cells by autofluorescence lifetime imaging / K. Awasthi, D. Moriya, T. Nakabayashi, L. Li, N. Ohta // J. of photochemistry and photobiology. B, Biology. 2016. Vol. 165. P. 256–265. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.10.023

19. Detection of urinary bladder cancer cells using redox ratio and double excitation wavelengths autofluorescence / S. Palmer, K. Litvinova, E. U. Rafailov, G. Nabi // Biomedical optics express. 2015. Vol. 6, № 3. P. 977–986. doi: 10.1364/BOE.6.000977

20. Fiber-Optic System for Intraoperative Study of Abdominal Organs during Minimally Invasive Surgical Interventions / K. Kandurova, V. Dremine, E. Zherebtsov, E. Potapova, A. Alyanov, A. Mamoshin,

Y. Ivanov, A. Borsukov, A. Dunaev // Applied Sciences. 2019. Vol. 9, № 2. P. 217. doi: 10.3390/app9020217

21. Metabolic mapping of MCF10A human breast cells via multiphoton fluorescence lifetime imaging of the coenzyme NADH / D. K. Bird, L. Yan, K. M. Vrotsos, K. W. Eliceiri, E. M. Vaughan, P. J. Keely, J. G. White, N. Ramanujam // Cancer research. 2005. Vol. 65, № 19. P. 8766–8773. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-3922

22. Suhling K., French P. M. W., Phillips D. Time-resolved fluorescence microscopy // Photochemical & Photobiological Sciences. 2005. Vol. 4, № 1. P. 13–22. doi: 10.1039/b412924p

23. Real time optical Biopsy: Time-resolved Fluorescence Spectroscopy instrumentation and validation / D. S. Kittle, F. Vasefi, C. G. Patil, A. Mamelak, K. L. Black, P. V. Butte // Scientific reports. 2016. Vol. 6. P. 38190. doi: 10.1038/srep38190

24. Preclinical ex vivo evaluation of the diagnostic performance of a new device for in situ label-free fluorescence spectral analysis of breast masses / M. C. Mathieu, A. Toullec, C. Benoit, R. Berry, P. Validire, P. Beaumel, Y. Vincent, P. Maroun, P. Vielh, L. Alchab, R. Farcy, H. Moniz-Koum, M. P. Fontaine-Aupart, S. Delalogue, C. Balleyguier // European radiology. 2018. Vol. 28, № 6. P. 2507–2515. doi: 10.1007/s00330-017-5228-7

25. Towards the use of diffuse reflectance spectroscopy for real-time in vivo detection of breast cancer during surgery / L. L. de Boer, T. M. Bydlon, F. van Duijnhoven, M. T. F. D. Vranken Peeters, C. E. Loo, G. A. O. Winter-Warnars, J. Sanders, H. J. C. M. Sterenberg, B. H. W. Hendriks, T. J. M. Ruers // J. of translational medicine. 2018. Vol. 16, № 1. P. 367. doi: 10.1186/s12967-018-1747-5

26. Auto-fluorescence lifetime and light reflectance spectroscopy for breast cancer diagnosis: potential tools for intraoperative margin detection / V. Sharma, S. Shivalingaiah, Y. Peng, D. Euhus, Z. Gryczynski, H. Liu // Biomedical optics express. 2012. Vol. 3, № 8. P. 1825–1840. doi: 10.1364/BOE.3.001825

27. Pulmonary Endogenous Fluorescence Allows the Distinction of Primary Lung Cancer from the Perilesional Lung Parenchyma / L. Gust, A. Toullec, C. Benoit, R. Farcy, S. Garcia, V. Secq, J. Y. Gaubert, D. Trousse, B. Orsini, C. Doddoli, H. Moniz-Koum, P. A. Thomas, X. B. D'journo // PloS One. 2015. Vol. 10, № 8. P. e0134559. doi: 10.1371/journal.pone.0134559

28. A customized multispectral needle probe combined with a virtual photometric setup for in vivo detection of Lewis lung carcinoma in an animal model / F. Braun, R. Schalk, M. Nachtmann, A. Hien, R. Frank, T. Beuermann, F.-J. Methner, B. Kränzlin, M. Rädle, N. Gretz // Measurement Science and Technology. 2019. Vol. 30, № 10. P. 104001. doi: 10.1088/1361-6501/ab24a1

29. Real-time In Vivo Tissue Characterization with Diffuse Reflectance Spectroscopy during Transthoracic Lung Biopsy: A Clinical Feasibility Study / J. W. Spliethoff, W. Prevoo, M. A. Meier, J. de Jong, H. M. Klomp, D. J. Evers, H. J. Sterenberg, G. W. Lucassen, B. H. Hen-

driks, T. J. Ruers // Clinical cancer research: an official j. of the American Association for Cancer Research. 2016. Vol. 22, № 2. P. 357–365. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-0807

30. Diffuse reflectance spectroscopy of human liver tumor specimens – towards a tissue differentiating optical biopsy needle using light emitting diodes / A. Keller, P. Bialecki, T. J. Wilhelm, M. K. Vetter // Biomedical optics express. 2018. Vol. 9, № 3. P. 1069–1081. doi: 10.1364/BOE.9.001069

31. Monitoring of tumor response to Cisplatin using optical spectroscopy / J. W. Spliethoff, D. J. Evers, J. E. Jaspers, B. H. Hendriks, S. Rottenberg, T. J. Ruers // Translational oncology. 2014. Vol. 7, № 2. P. 230–239. doi: 10.1016/j.tranon.2014.02.009

32. In vivo characterization of colorectal metastases in human liver using diffuse reflectance spectroscopy: toward guidance in oncological procedures / J. W. Spliethoff, L. L. de Boer, M. A. Meier, W. Prevoo, J. de Jong, K. Kuhlmann, T. M. Bydlon, H. J. Sterenborg, B. H. Hendriks, T. J. Ruers // J. of biomedical optics. 2016. Vol. 21, № 9. P. 097004. doi: 10.1117/1.JBO.21.9.097004

33. In vivo tumor identification of colorectal liver metastases with diffuse reflectance and fluorescence spectroscopy / E. Tanis, D. J. Evers, J. W. Spliethoff, V. V. Pully, K. Kuhlmann, F. van Coevorden, B. H. Hendriks, J. Sanders, W. Prevoo, T. J. Ruers, // Lasers in surgery and medicine. 2016. Vol. 48, № 9. P. 820–827. doi: 10.1002/lsm.22581

34. Hyperspectral imaging of human skin aided by artificial neural networks / E. Zhrebtsov, V. Dremine, A. Popov, A. Doronin, D. Kurakina, M. Kirillin, I. Meglinski, A. Bykov // Biomedical optics express. 2019. Vol. 10, № 7. P. 3545–3559. doi: 10.1364/BOE.10.003545

35. Optical percutaneous needle biopsy of the liver: a pilot animal and clinical study / V. Dremine, E. Potapova, E. Zhrebtsov, K. Kandurova, V. Shupletsov, A. Alekseyev, A. Mamoshin, A. Dunaev // Scientific reports. 2020. Vol. 10, № 1. P. 14200. doi: 10.1038/s41598-020-71089-5

36. International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP). Guidelines on limits of exposure to ultraviolet radiation of wavelengths between 180 nm and 400 nm (incoherent optical radiation) // Health physics. 2004. Vol. 87, № 2. P. 171–186. doi: 10.1097/00004032-200408000-00006

37. Fluorescence lifetime needle optical biopsy discriminates hepatocellular carcinoma / E. A. Zhrebtsov, E. V. Potapova, A. V. Mamoshin, V. V. Shupletsov, K. Y. Kandurova, V. V. Dremine, A. Y. Abramov, A. V. Dunaev // Biomedical optics express. 2022. Vol. 13, № 2. P. 633–646. doi: 10.1364/BOE.447687

38. Detection of NADH and NADPH levels in vivo identifies shift of glucose metabolism in cancer to energy production / E. V. Potapova, E. A. Zhrebtsov, V. V. Shupletsov, V. V. Dremine, K. Y. Kandurova, A. V. Mamoshin, A. Y. Abramov, A. V. Dunaev // The FEBS j. 2024. Vol. 291, № 12. P. 2674–2682. doi: 10.1111/febs.17067

39. Development of arterial blood supply in experimental liver metastases / K. Dezso, E. Bugyik, V. Papp, V. László, B. Döme, J. Tóvári, J. Timár, P. Nagy, S. Paku // The American j. of pathology. 2009. Vol. 175, № 2. P. 835–843. doi: 10.2353/ajpath.2009.090095

40. In vivo multiphoton fluorescence lifetime imaging of protein-bound and free nicotinamide adenine dinucleotide in normal and precancerous epithelia / M. C. Skala, K. M. Riching, D. K. Bird, A. Gendron-Fitzpatrick, J. Eickhoff, K. W. Eliceiri, P. J. Keely, N. Ramanujam // J. of biomedical optics. 2007. Vol. 12, № 2. P. 024014. doi: 10.1117/1.2717503

Информация об авторе

Потапова Елена Владимировна – кандидат технических наук (2008), доцент (2017), доцент кафедры приборостроения, метрологии и сертификации, старший научный сотрудник научно-технологического центра биомедицинской фотоники Орловского государственного университета им. И. С. Тургенева. Автор более 100 научных работ. Сфера научных интересов – биомедицинское приборостроение; биомедицинская фотоника; оптическая диагностика в малоинвазивной хирургии.

Адрес: Орловский государственный университет им. И. С. Тургенева, ул. Комсомольская, д. 95, Орел, 302026, Россия

E-mail: potapova_ev_ogu@mail.ru

http://orcid.org/0000-0002-9227-6308

References

1. Siegel R. L., Miller K. D., Fuchs H. E., Jemal A. Cancer Statistics. CA: a Cancer J. for Clinicians. 2022, vol. 72, no. 1, pp. 7–33. doi: 10.3322/caac.21708

2. Attwa M. H., El-Etreby S. A. Guide for Diagnosis and Treatment of Hepatocellular Carcinoma. World J. of Hepatology. 2015, vol. 7, no. 12, pp. 1632–1651. doi: 10.4254/wjh.v7.i12.1632

3. Candita G., Rossi S., Cwiklinska K., Fanni S. C., Cioni D., Lencioni R., Neri E. Imaging Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma: A State-of-the-Art Review. Diagnostics. 2023,

vol. 13, no. 4, p. 625. doi: 10.3390/diagnostics13040625

4. Roberts L. R., Sirlin C. B., Zaiem F., Almasri J., Prokop L. J., Heimbach J. K., Murad M. H., Mohammed K. Imaging for the Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma: A Systematic Review and Meta-Analysis. Hepatology. 2018, vol. 67, no. 1, pp. 401–421. doi: 10.1002/hep.29487

5. Russo F. P., Imondi A., Lynch E. N., Farinati F. When and How Should We Perform a Biopsy for HCC in Patients with Liver Cirrhosis in 2018? A Review. Digestive and Liver Disease: Official J. of the Italian Society of Gastroenterology

and the Italian Association for the Study of the Liver. 2018, vol. 50, no. 7, pp. 640–646. doi: 10.1016/j.dld.2018.03.014

6. Francque S. M., De Pauw F. F., Van den Steen G. H., Van Marck E. A., Pelckmans P. A., Michielsen P. P. Biopsy of Focal Liver Lesions: Guidelines, Comparison of Techniques and Cost-Analysis. *Acta Gastro-Enterologica Belgica*. 2003, vol. 66, no. 2, pp. 160–165.

7. Choi S. H., Han K. H., Yoon J. H., Moon H. J., Son E. J., Youk J. H., Kim E. K., Kwak J. Y. Factors Affecting Inadequate Sampling of Ultrasound-Guided Fine-Needle Aspiration Biopsy of Thyroid Nodules. *Clinical Endocrinology*. 2011, vol. 74, no. 6, pp. 776–782. doi: 10.1111/j.1365-2265.2011.04011.x

8. Gomez-Macías G. S., Garza-Guajardo R., Segura-Luna J., Barboza-Quintana O. Inadequate Fine Needle Aspiration Biopsy Samples: Pathologists Versus Other Specialists. *CytoJournal*. 2009, vol. 6, art. no. 4. doi: 10.4103/1742-6413.52831

9. Ducreux M., Abou-Alfa G. K., Bekaii-Saab T., Berlin J., Cervantes A., de Baere T., Eng C., Galle P., Gill S., Gruenberger T., Haustermans K., Lamarca A., Laurent-Puig P., Llovet J. M., Lordick F., Macarulla T., Mukherji D., Muro K., Obermannova R., O'Connor J. M., O'Reilly E. M., Osterlund P., Philip P., Prager G., Ruiz-Garcia E., Sangro B., Seufferlein T., Tabernero J., Verslype C., Wasan H., Van Cutsem E. The Management of Hepatocellular Carcinoma. Current Expert Opinion and Recommendations Derived from the 24th ESMO/World Congress on Gastrointestinal Cancer, Barcelona, 2022. *ESMO open*, 2023, vol. 8, no. 3, p. 101567. doi: 10.1016/j.esmoop.2023.101567

10. Voutsinas N., Lekperic S., Barazani S., Titano J. J., Heiba S. I., Kim E. Treatment of Primary Liver Tumors and Liver Metastases. Part 1: Nuclear Medicine Techniques. *J. of Nuclear Medicine: Official Publication, Society of Nuclear Medicine*. 2018, vol. 59, no. 11, pp. 1649–1654. doi: 10.2967/jnumed.116.186346

11. Dunaev A. V. *Multimodal'naya opticheskaya diagnostika mikrocirkulyatorno-tkaneyv sistem organizma cheloveka: monografiya* [Multimodal Optical Diagnostics of Microcirculatory and Tissue Systems of the Human Body: Monograph]. *Staryj Oskol*, TNT, 2022, 440 p. (In Russ.)

12. Dunaev A. V. Method and a Device for Evaluating the Functional State of Microcirculatory-Tissue Systems of the Human Body Based on Multiparametric Optical Diagnostics. *J. of the Russian Universities. Radioelectronics*. 2020, vol. 23, no. 4, pp. 77–91. doi: 10.32603/1993-8985-2020-23-4-77-91 (In Russ.)

13. Croce A. C., Bottiroli G. Autofluorescence Spectroscopy and Imaging: A Tool for Biomedical Research and Diagnosis. *European J. of Histochemistry: EJH*. 2014, vol. 58, no. 4, p. 2461. doi: 10.4081/ejh.2014.2461

14. Zhrebtsov E. A., Dremine V. V., Zhrebtsova A. I., Potapova E. V., Dunaev A. V. *Fluorescentnaya diagnostika mitohondrial'noj funktsii v epiteliial'nykh tkanyah in vivo: monografiya* [Fluorescence Diagnostics of Mitochondrial Function in Epithelial Tissues in Vivo: Monograph]. Orel, Orel State University, 2018, 107 p. (In Russ.)

15. Arabachyan M. I., Shupletsov V. V., Kirillin M. Y., Dunaev A. V., Potapova E. V. Method for Assessing Local Metabolism of Mammary Tumors Based on Multimodal Optical Technology. *J. of Oncology: Diagnostic Radiology*

and Radiotherapy. 2024, vol. 7, no. 2, pp. 37–45. doi: 10.37174/2587-7593-2024-7-2-37-45 (In Russ.)

16. Lukina M. M., Shimolina L. E., Kiselev N. M., Zagaynov V. E., Komarov D. V., Zagaynova E. V., Shirmanova M. V. Interrogation of Tumor Metabolism in Tissue Samples Ex Vivo Using Fluorescence Lifetime Imaging of NAD(P)H. *Methods and Applications in Fluorescence*. 2019, vol. 8, no. 1, p. 14002. doi: 10.1088/2050-6120/ab4ed8

17. Lukina M. M., Dudenkova V. V., Ignatova N. I., Druzhkova I. N., Shimolina L. E., Zagaynova E. V., Shirmanova M. V. Metabolic Cofactors NAD(P)H and FAD as Potential Indicators of Cancer Cell Response to Chemotherapy with Paclitaxel. *Biochimica et Biophysica Acta. General Subjects*. 2018, vol. 1862, no. 8, pp. 1693–1700. doi: 10.1016/j.bbagen.2018.04.021

18. Awasthi K., Moriya D., Nakabayashi T., Li L., Ohta N. Sensitive Detection of Intracellular Environment of Normal and Cancer Cells by Autofluorescence Lifetime Imaging. *J. of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*. 2016, vol. 165, pp. 256–265. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2016.10.023

19. Palmer S., Litvinova K., Rafailov E. U., Nabi G. Detection of Urinary Bladder Cancer Cells Using Redox Ratio and Double Excitation Wavelengths Autofluorescence. *Biomedical Optics Express*. 2015, vol. 6, no. 3, pp. 977–986. doi: 10.1364/BOE.6.000977

20. Kandurova K., Dremine V., Zhrebtsov E., Potapova E., Alyanov A., Mamoshin A., Ivanov Y., Borsukov A., Dunaev A. Fiber-Optic System for Intraoperative Study of Abdominal Organs during Minimally Invasive Surgical Interventions. *Applied Sciences*. 2019, vol. 9, no. 2, p. 217. doi: 10.3390/app9020217

21. Bird D. K., Yan L., Vrotsos K. M., Eliceiri K. W., Vaughan E. M., Keely P. J., White J. G., Ramanujam N. Metabolic Mapping of MCF10A Human Breast Cells Via Multiphoton Fluorescence Lifetime Imaging of the Coenzyme NADH. *Cancer Research*. 2005, vol. 65, no. 19, pp. 8766–8773. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-04-3922

22. Suhling K., French P. M. W., Phillips D. Time-Resolved Fluorescence Microscopy. *Photochemical & Photobiological Sciences*. 2005, vol. 4, no. 1, pp. 13–22. doi: 10.1039/b412924p

23. Kittle D. S., Vasefi F., Patil C. G., Mamelak A., Black K. L., Butte, P. V. Real Time Optical Biopsy: Time-Resolved Fluorescence Spectroscopy Instrumentation and Validation. *Scientific Reports*. 2016, vol. 6, p. 38190. doi: 10.1038/srep38190

24. Mathieu M. C., Toullec A., Benoit C., Berry R., Validire P., Beaumel P., Vincent Y., Maroun P., Vielh P., Alchab L., Farcy R., Moniz-Koum H., Fontaine-Aupart M. P., Delalogue S., Balleyguier C. Preclinical Ex Vivo Evaluation of the Diagnostic Performance of a New Device for in Situ Label-Free Fluorescence Spectral Analysis of Breast Masses. *European Radiology*. 2018, vol. 28, no. 6, pp. 2507–2515. doi: 10.1007/s00330-017-5228-7

25. De Boer L. L., Bydlon T. M., van Duijnhoven F., Vranken Peeters M. T. F. D., Loo C. E., Winter-Warnars G. A. O., Sanders J., Sterenborg H. J. C. M., Hendriks B. H. W., Ruers T. J. M. Towards the Use of Diffuse Reflectance Spectroscopy for Real-Time in

Vivo Detection of Breast Cancer During Surgery. *J. of Translational Medicine*. 2018, vol. 16, no. 1, p. 367. doi: 10.1186/s12967-018-1747-5

26. Sharma V., Shivalingaiah S., Peng Y., Euhus D., Gryczynski Z., Liu H. Auto-Fluorescence Lifetime and Light Reflectance Spectroscopy for Breast Cancer Diagnosis: Potential Tools for Intraoperative Margin Detection. *Biomedical Optics Express*. 2012, vol. 3, no. 8, pp. 1825–1840. doi: 10.1364/BOE.3.001825

27. Gust L., Toullec A., Benoit C., Farcy R., Garcia S., Secq V., Gaubert J. Y., Trousse D., Orsini B., Doddoli C., Moniz-Koum H., Thomas P. A., D'journo X. B. Pulmonary Endogenous Fluorescence Allows the Distinction of Primary Lung Cancer from the Perilesional Lung Parenchyma. *PloS one*. 2015, vol. 10, no. 8, p. e0134559. doi: 10.1371/journal.pone.0134559

28. Braun F., Schalk R., Nachtmann M., Hien A., Frank R., Beuermann T., Methner F.-J., Kränzlin B., Rädle M., Gretz N. A Customized Multispectral Needle Probe Combined with a Virtual Photometric Setup for in Vivo Detection of Lewis Lung Carcinoma in an Animal Model. *Measurement Science and Technology*. 2019, vol. 30, no. 10, p. 104001. doi: 10.1088/1361-6501/ab24a1

29. Spliethoff J. W., Prevoo W., Meier M. A., de Jong J., Klomp H. M., Evers D. J., Sterenborg H. J., Lucassen G. W., Hendriks B. H., Ruers T. J. Real-Time In Vivo Tissue Characterization with Diffuse Reflectance Spectroscopy during Transthoracic Lung Biopsy: A Clinical Feasibility Study. *Clinical Cancer Research: an Official J. of the American Association for Cancer Research*. 2016, vol. 22, no. 2, pp. 357–365. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-0807

30. Keller A., Bialecki P., Wilhelm T. J., Vetter M. K. Diffuse Reflectance Spectroscopy of Human Liver Tumor Specimens – Towards a Tissue Differentiating Optical Biopsy Needle Using Light Emitting Diodes. *Biomedical Optics Express*. 2018, vol. 9, no. 3, pp. 1069–1081. doi: 10.1364/BOE.9.001069

31. Spliethoff J. W., Evers D. J., Jaspers J. E., Hendriks B. H., Rottenberg S., Ruers T. J. Monitoring of Tumor Response to Cisplatin Using Optical Spectroscopy. *Translational Oncology*. 2014, vol. 7, no. 2, pp. 230–239. doi: 10.1016/j.tranon.2014.02.009

32. Spliethoff J. W., de Boer L. L., Meier M. A., Prevoo W., de Jong J., Kuhlmann K., Bydlon T. M., Sterenborg H. J., Hendriks B. H., Ruers T. J. In Vivo Characterization of Colorectal Metastases in Human Liver Using Diffuse Reflectance Spectroscopy: Toward Guidance in Oncological Procedures. *J. of Biomedical Optics*. 2016, vol. 21, no. 9, p. 097004. doi: 10.1117/1.JBO.21.9.097004

33. Tanis E., Evers D. J., Spliethoff J. W., Pully V. V., Kuhlmann K., van Coevorden F., Hendriks B. H., Sanders J., Prevoo W., Ruers, T. J. In Vivo Tumor Identification of Colorectal Liver Metastases with Diffuse Reflectance and Fluorescence Spectroscopy. *Lasers in Surgery and Medicine*. 2016, vol. 48, no. 9, pp. 820–827. doi: 10.1002/lsm.22581

34. Zhrebtsov E., Dremine V., Popov A., Doronin A., Kurakina D., Kirillin M., Meglinski I., Bykov A. Hyperspectral Imaging of Human Skin Aided by Artificial Neural Networks. *Biomedical Optics Express*. 2019, vol. 10, no. 7, pp. 3545–3559. doi: 10.1364/BOE.10.003545

35. Dremine V., Potapova E., Zhrebtsov E., Kandurova K., Shupletsov V., Alekseyev A., Mamoshin A., Dunaev A. Optical Percutaneous Needle Biopsy of the Liver: a Pilot Animal and Clinical Study. *Scientific Reports*. 2020, vol. 10, no. 1, p. 14200. doi: 10.1038/s41598-020-71089-5

36. International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection (ICNIRP). Guidelines on Limits of Exposure to Ultraviolet Radiation of Wavelengths between 180 nm and 400 nm (Incoherent Optical Radiation). *Health Physics*. 2004, vol. 87, no. 2, pp. 171–186. doi: 10.1097/00004032-200408000-00006

37. Zhrebtsov E. A., Potapova E. V., Mamoshin A. V., Shupletsov V. V., Kandurova K. Y., Dremine V. V., Abramov A. Y., Dunaev A. V. Fluorescence Lifetime Needle Optical Biopsy Discriminates Hepatocellular Carcinoma. *Biomedical Optics Express*. 2022, vol. 13, no. 2, pp. 633–646. doi: 10.1364/BOE.447687

38. Potapova E. V., Zhrebtsov E. A., Shupletsov V. V., Dremine V. V., Kandurova K. Y., Mamoshin A. V., Abramov A. Y., Dunaev A. V. Detection of NADH and NADPH Levels in Vivo Identifies Shift of Glucose Metabolism in Cancer to Energy Production. *The FEBS J*. 2024, vol. 291, no. 12, pp. 2674–2682. doi: 10.1111/febs.17067

39. Dezso K., Bugyik E., Papp V., László V., Döme B., Tóvári J., Tímár J., Nagy P., Paku S. Development of Arterial Blood Supply in Experimental Liver Metastases. *The American J. of Pathology*. 2009, vol. 175, no. 2, pp. 835–843. doi: 10.2353/ajpath.2009.090095

40. Skala M. C., Riching K. M., Bird D. K., Gendron-Fitzpatrick A., Eickhoff J., Eliceiri K. W., Keely P. J., Ramanujam N. In Vivo Multiphoton Fluorescence Lifetime Imaging of Protein-Bound and Free Nicotinamide Adenine Dinucleotide in Normal and Precancerous Epithelia. *J. of Biomedical Optics*. 2007, vol. 12, no. 2, p. 024014. doi: 10.1117/1.2717503

Information about the authors

Elena V. Potapova, Cand. Sci. (2008), Associate Professor (2017), Associate Professor of the Department of Instrumentation, Metrology and Certification, Senior Researcher of Research and Development Center of Biomedical Photonics of Orel State University. The author of more than 100 scientific publications. Area of expertise: biomedical engineering; biomedical photonics; optical diagnostics in minimally invasive surgery.
Address: Orel State University, 95, Komsomolskaya St., Orel 302026, Russia
E-mail: potapova_ev_ogu@mail.ru
<http://orcid.org/0000-0002-9227-6308>