

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САМАРСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА С.П. КОРОЛЕВА»
(САМАРСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

ОПТИЧЕСКИЕ И СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В БИОМЕДИЦИНЕ

Рекомендовано редакционно-издательским советом федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева» в качестве учебного пособия для обучающихся по основным образовательным программам высшего образования по направлениям подготовки 12.03.04 Биотехнические системы и технологии и 12.03.05 Лазерная техника и лазерные технологии

САМАРА
Издательство Самарского университета
2025

УДК 543.424.2:616-71

ББК 22.344+53.4

О981

Авторы: ***И. А. Матвеева, И. А. Братченко, Ю. А. Христофорова,
Л. А. Братченко, Д. Н. Артемьев, В. П. Захаров***

Рецензенты: д-р физ.-мат. наук С. С. Стафеев,
канд. физ.-мат. наук А. М. Майорова

О981 Оптические и спектроскопические методы в биомедицине: учебное пособие / *И. А. Матвеева, И. А. Братченко, Ю. А. Христофорова* [и др.]. – Самара: Издательство Самарского университета, 2025. – 176 с.

ISBN 978-5-7883-2277-3

Содержит теоретический и справочный материал о передовых оптических и спектроскопических методах исследования биологических тканей и жидкостей.

Направлено на применение различных методов спектроскопии к неинвазивной диагностике здоровых и патологических состояний организма. Рассмотрены основные различия между здоровыми биологическими тканями и злокачественными новообразованиями различных нозологий.

Рекомендуется обучающимся по основной образовательной программе высшего образования по направлениям подготовки 12.03.04 Биотехнические системы и технологии и 12.03.05 Лазерная техника и лазерные технологии.

Подготовлено на кафедре лазерных и биотехнических систем.

УДК 543.424.2:616-71

ББК 22.344+53.4

ISBN 978-5-7883-2277-3

© Самарский университет, 2025

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
1 СОВРЕМЕННЫЕ ВИДЫ СПЕКТРОСКОПИИ	6
1.1 Измерения оптических свойств опухолей: краткое описание	6
1.2 Интегрирующая сферическая спектроскопия.....	10
1.3 Спектроскопия диффузного обратного рассеяния	19
1.4 Рамановская спектроскопия	23
1.5 Список использованной литературы по главе 1	60
2 ОПТИЧЕСКИЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ТКАНЕЙ.....	86
2.1 Рак легких	86
2.2 Рак молочной железы.....	92
2.3 Рак кожи	100
2.4 Колоректальный рак.....	111
2.5 Рак шейки матки.....	115
2.6 Рак предстательной железы.....	118
2.7 Рак мочевого пузыря.....	120
2.8 Рак желудка и пищевода.....	126
2.9 Рак полости рта.....	130
2.10 Рак печени	132
2.11 Рак щитовидной железы	136
2.12 Рак мозга	138
2.13 Рак почки.....	140
2.14 Рак поджелудочной железы	142
2.15 Биохимическая модель рака	143
2.16 Список использованной литературы по главе 1	149
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	173

ВВЕДЕНИЕ

Данное учебное пособие разработано с целью представить студентам и специалистам в области биотехнических систем основные современные оптические биомедицинские технологии, применяющиеся для изучения оптических свойств как здоровых, так и опухолевых тканей в широком диапазоне длин волн. Спектроскопические методы, такие как спектроскопия диффузного отражения, флуоресцентная и рамановская спектроскопия, позволяют получать ценную информацию о состоянии здоровых и патологически изменённых биологических тканей, что особенно актуально для ранней диагностики и мониторинга онкологических заболеваний.

Морфологические и биохимические изменения, связанные с развитием рака, во многих случаях зависят от конкретного типа и локализации рака. В данном учебном пособии рассматриваются оптические методы для изучения нормальных, доброкачественных и злокачественных тканей легких, молочной железы, толстой кишки, предстательной железы, шейки матки, мочевого пузыря, желудка, пищевода, печени, почек, кожи, полости рта, щитовидной железы и мозга с использованием спектроскопии диффузного отражения, флуоресценции и рамановской спектроскопии. Проанализированы биохимические диагностические модели как инструмент, помогающий определять биохимический состав тканей и функциональное состояние клеточного метаболизма. Полученные данные могут быть использованы для разработки новых методов диагностики и лечения рака.

Пособие подготовлено на основе курса лекций кафедры лазерных и биотехнических систем и рекомендуется обучающимся по направлению 12.03.04 Биотехнические системы и технологии. Материал пособия будет полезен как для освоения базовых принципов

спектроскопических исследований, так и для расширения профессиональных компетенций в области биомедицинской инженерии и разработки новых методов диагностики и терапии.

Выражаем глубокую признательность нашему коллеге, кандидату физико-математических наук, доценту А.Н. Башкатову за его выдающийся вклад в развитие биомедицинской оптики и оптической диагностики. Его научные работы, посвящённые применению спектроскопических методов для исследования биологических тканей, заложили основу для многих современных биомедицинских технологий. Мы благодарны ему за научное наследие, которое стало опорой для новых поколений исследователей.

1 СОВРЕМЕННЫЕ ВИДЫ СПЕКТРОСКОПИИ

1.1 Измерения оптических свойств опухолей: краткое описание

Несмотря на развитие медицины, рак остается одним из самых опасных заболеваний в наши дни. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) сообщила о 18,1 миллионах новых случаев рака и 9,6 миллионах случаев смерти от рака в 2018 году. Поэтому выявление и лечение онкологических заболеваний является одной из самых сложных задач для медицины в XXI веке. Эффективным решением проблемы является использование современных междисциплинарных технологий. Чаще всего, если опухоль диагностирована раньше и пролечена, у пациента будет лучший прогноз и гораздо большие возможности для полного выздоровления. Многие недавние технологические инновации использовали физические принципы, такие как оптика и когерентная фотоника, для улучшения ранних диагностических и терапевтических процедур с целью снижения заболеваемости раком и смертности от него [1].

Развитие оптических методов в современной медицине в области диагностики, хирургии и терапии стимулировало изучение оптических свойств тканей человека и животных, поскольку эффективность оптического зондирования тканей зависит от распространения фотонов и распределения плотности потока энергии [2].

Примерами диагностического использования являются: мониторинг оксигенации крови и метаболизма тканей, анализ основных компонентов тканей, обнаружение злокачественных новообразований и недавно предложенные различные методы оптической визуализации. Последние особенно интересны для виртуальной оптической биопсии и точного определения границ опухолей во время хирургических операций. Терапевтическое использование в основном

включает приложения в фотодинамической терапии. Для всех этих приложений знание оптических свойств тканей имеет большое значение для интерпретации и количественной оценки диагностических данных, а также для прогнозирования распределения света и поглощенной энергии для терапевтического и хирургического использования.

Среди многочисленных методов измерения оптических свойств тканей наиболее широко используются спектроскопия с использованием интегрирующих сфер, отражательная спектроскопия, а также рамановская и флуоресцентная спектроскопия.

Итерационные методы обработки экспериментальных данных, как правило, учитывают расхождения показателей преломления на границах образца, а также многослойность образца. Следующие факторы обуславливают погрешности в оценочных значениях оптических коэффициентов и должны учитываться при сравнительном анализе оптических параметров, полученных в различных экспериментах [3]:

- физиологическое состояние тканей (степень гидратации, однородность, видоспецифическая изменчивость, замороженное/размороженное или фиксированное/нефиксированное состояние, измерения *in vitro* / *in vivo*, гладкая/шероховатая поверхность);

- геометрия облучения;

- совпадающие/несовпадающие показатели преломления интерфейса;

- числовая апертура фотоприемников;

- разделение излучения, испытывающего прямое рассеяние, от нерассеянного излучения;

- теория, используемая для решения обратной задачи.

Для анализа распространения света в условиях многократного рассеяния предполагается, что поглощающие, флуоресцентные и рассеивающие центры равномерно распределены по ткани. УФ-А,

видимое или ближнее ИК-излучение обычно подвергаются анизотропному рассеянию, характеризующемуся четко выраженным направлением фотонов, претерпевающих однократное рассеяние, что может быть обусловлено наличием крупных клеточных оргanelл (митохондрий, лизосом, аппарата Гольджи и т. д.) [3–5].

Когда рассеивающая среда освещается неполяризованным светом и/или требуется вычислить только интенсивность многократно рассеянного света, достаточно строгое математическое описание распространения непрерывного (CW) света в среде возможно в рамках скалярной стационарной теории переноса излучения (RTT) [3–6]. Эта теория справедлива для ансамбля рассеивателей, расположенных далеко друг от друга, и успешно применялась для разработки некоторых практических аспектов тканевой оптики. Основное стационарное уравнение RTT для средней спектральной плотности потока мощности $I_\lambda(\vec{r}, \vec{s})$ (в Вт/см²ср) для длины волны λ в точке $\vec{r}$ в заданном направлении $\vec{s}$ и монохроматическое излучение имеет вид

$$\frac{\partial I_\lambda(\vec{r}, \vec{s})}{\partial s} = -\mu_t I_\lambda(\vec{r}, \vec{s}) + \frac{\mu_s}{4\pi} \int_{4\pi} I_\lambda(\vec{r}, \vec{s}') p(\vec{s}, \vec{s}') d\Omega' + \varepsilon(\vec{s}, \vec{s}'), \quad (1)$$

где $p(\vec{s}, \vec{s}')$ – индикатриса рассеяния, 1/ср; $d\Omega'$ – единичный телесный угол относительно направления $\vec{s}'$, ср, а $\mu_t = \mu_a + \mu_s$ – полный коэффициент ослабления, 1/см; μ_a – коэффициент поглощения, 1/см; μ_s – коэффициент рассеяния, 1/см, $\varepsilon(\vec{s}, \vec{s}')$ – внутренний источник света, аккумулирующий эффекты флуоресценции и рамановской спектроскопии. Однако в большинстве практически интересных случаев измерение коэффициентов поглощения и рассеяния тканей можно проводить, пренебрегая эффектами флуоресценции и рамановской спектроскопии, поскольку их квантовая эффективность относительно мала. Оно эквивалентно уравнению (1) при отсутствии внутренних источников излучения.

Скалярное приближение уравнения переноса излучения (УПИ) дает плохую точность, когда размер рассеивающих частиц намного меньше длины волны, но обеспечивает приемлемые результаты для частиц, сравнимых с длиной волны и превышающих ее [7].

Фазовая функция $p(\vec{s}, \vec{s}')$ описывает рассеивающие свойства среды и фактически является функцией плотности вероятности рассеяния в направлении $\vec{s}'$ фотона, движущегося в направлении $\vec{s}$; иными словами, она характеризует элементарный акт рассеяния. Если рассеяние симметрично относительно направления падающей волны, то фазовая функция зависит только от угла рассеяния θ (угла между направлениями $\vec{s}$ и $\vec{s}'$), т.е. $p(\vec{s}, \vec{s}') = p(\theta)$. Предположение о случайном распределении рассеивателей в среде (т.е. об отсутствии пространственной корреляции в структуре ткани) приводит к нормировке:

$$\int_0^\pi p(\theta) 2\pi \sin \theta d\theta = 1.$$

На практике фазовая функция обычно хорошо аппроксимируется с помощью постулируемой функции Хеньи-Гринштейна [2–6, 8]:

$$p(\theta) = \frac{1}{4\pi} \frac{1-g^2}{(1+g^2-2g \cos \theta)^{3/2}}, \quad (2)$$

где g – параметр анизотропии рассеяния (средний косинус угла рассеяния θ):

$$g = \langle \cos \theta \rangle = \int_0^\pi p(\theta) \cos \theta 2\pi \sin \theta d\theta.$$

Значение g изменяется в диапазоне от -1 до 1 ; $g = 0$ соответствует изотропному (рэлеевскому) рассеянию, $g = 1$ к общему прямому рассеянию (рассеяние Ми на крупных частицах) и $g = -1$ к полному обратному рассеянию [3–9].

Другими фазовыми функциями, обычно используемыми для анализа распространения света в мутных средах, включая ткани, являются: фазовая функция малоуглового рассеяния [10, 11], фазовая функция Ми [12–15], δ -фазовая функция Эддингтона [16, 17], фазовая функция Рейнольдса-Маккормика [18–20], фазовая функция ядра Гегенбауэра [14, 15, 21, 22] и их модификации [23–25].

1.2 Интегрирующая сферическая спектроскопия

Спектроскопия интегрирующей сферы (СИС) обычно используется в качестве оптического калибровочного и измерительного инструмента и, в частности, успешно применяется для измерения оптических свойств тканей [1, 2, 3, 5]. Подробная теория спектроскопии интегрирующей сферы представлена в работах [26–32]. Внутренняя поверхность интегрирующей сферы равномерно покрыта диффузными материалами с высокой отражательной способностью (превышающими 0,98) для достижения однородного распределения светового излучения на внутренней стенке сферы. Световой луч, падающий на внутреннюю поверхность интегрирующей сферы, равномерно рассеивается во всех направлениях (ламбертовские отражения), и световые потоки равномерно распределяются (пространственно интегрируются) на однородной внутренней поверхности сферы после многократных ламбертовских отражений. Стандартная интегрирующая сфера обычно имеет три порта: входной порт, выходной порт и третий порт для детектора. В некоторых приложениях четвертый порт также используется, чтобы луч зеркального отражения мог выходить из сферы в световой ловушке. Однако для реальных интегрирующих сфер поверхности не обладают идеальным ламбертовским отражением. Чтобы предотвратить ошибки измерения из-за зеркального отражения, внутри сферы ча-

сто размещают перегородку(и), покрытую высокоотражающим материалом, чтобы еще больше рассеять зеркальное отражение и не допустить попадания прямого отражения на детектор.

Использование методов интегрирующей сферы для измерения спектрального отражения и пропускания образцов тканей имеет несколько преимуществ по сравнению с прямым измерением образца спектрометром. Во-первых, при обычном измерении спектрометром падающий свет напрямую освещает поверхность образца, и обнаруженная отражательная способность часто зависит от угла и расстояния между падающим лучом и детектором. При использовании интегрирующей сферы все отраженные от образца потоки улавливаются и нормализуются сферой. Поэтому угловая зависимость больше не является проблемой. Во-вторых, расстояние от детектора до объекта часто фиксируется при измерении интегрирующей сферы. Даже если есть небольшое изменение расстояния от образца до сферы, это не повлияет на результаты измерений, пока весь отраженный свет отражается обратно в сферу. Кроме того, при использовании интегрирующих сфер спектральные измерения меньше зависят от формы светового пучка и однородности образца, поскольку как падающий световой луч, так и отраженный/рассеянный свет будут нормализованы на внутренней поверхности сферы перед тем, как попасть на детектор.

Оптические параметры образцов тканей (а именно коэффициент поглощения μ_a , коэффициент рассеяния μ_s и фактор анизотропии рассеяния g) можно измерить различными методами. Метод одинарной или двойной интегрирующей сферы в сочетании с измерением коллимированного пропускания (см. рисунок 1) наиболее часто используется для исследований тканей *in vitro*. Вкратце, этот подход подразумевает последовательное или одновременное определение трех параметров: полного пропускания $T_t = T_c + T_d$ (T_d – диффузное пропускание), диффузного отражения R_d и коллимированного пропускания $T_c = I_d / I_0$ (I_d – интенсивность прошедшего света,

измеренная с помощью удаленного фотодетектора с малой апертурой, а I_0 – интенсивность падающего излучения).

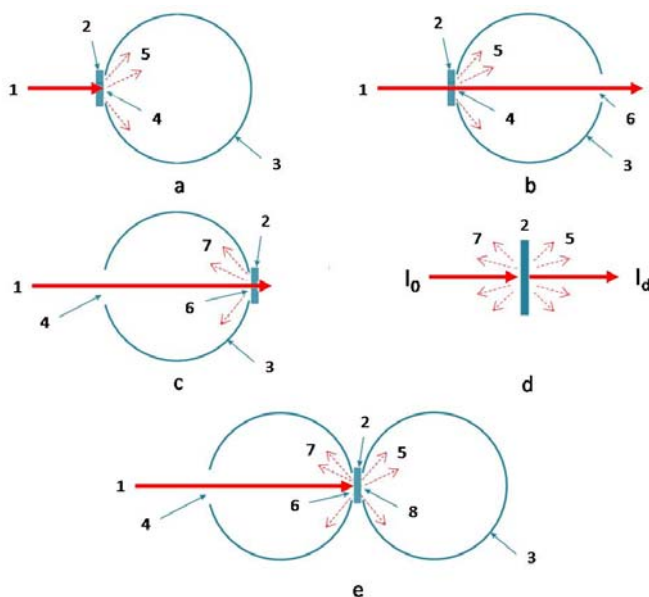


Рисунок 1 – Измерение оптических свойств ткани с помощью интегрирующей сферы: (а) – режим полного пропускания, (б) – режим диффузного пропускания, (с) – режим диффузного отражения, (д) – режим коллимированного пропускания, (е) – двойная интегрирующая сфера. 1 – падающий луч; 2 – образец ткани; 3 – интегрирующая сфера; 4 – входной порт; 5 – прошедшее излучение; 6 – выходной порт; 7 – диффузно отраженное излучение [1]

Любые три измерения из следующих пяти достаточны для оценки всех трех оптических параметров [3]:

1. Полное (или диффузное) пропускание для коллимированного или диффузного излучения.
2. Полное (или диффузное) отражение для коллимированного или диффузного излучения.
3. Поглощение образцом, помещенным внутрь интегрирующей сферы.

4. Коллимированное пропускание.

5. Угловое распределение излучения, рассеянного образцом.

Оптические параметры ткани выводятся из этих измерений с использованием различных теоретических выражений или численного моделирования: методов обратного Монте-Карло (ИМС) [33–41] или обратного сложения-удвоения (IAD) [42–51] или методов, основанных на диффузионном приближении уравнения переноса [52–56]. Однако диффузионное приближение имеет ограничения, в том числе описание ткани с низким альбедо и точный учет граничных условий. Для преодоления этих недостатков чаще всего используются другие методы, такие как IAD и ИМС.

Метод сложения-удвоения представляет собой численный метод решения уравнения переноса 1D в геометрии пластины. Его можно использовать для ткани с произвольной фазовой функцией, произвольным угловым распределением пространственно однородного падающего излучения и бесконечным размером пучка, поскольку боковые потери света не могут быть учтены. Угловое распределение отраженного излучения (нормализованное к падающему диффузному потоку) дано Пралем и др. [42]:

$$I_{ref}(\eta_c) = \int_0^1 I_{in}(\eta'_c) R(\eta'_c, \eta_c) 2\eta'_c d\eta'_c, \quad (3)$$

где $I_{in}(\eta_c)$ – произвольное угловое распределение падающей яркости, η_c – косинус полярного угла, а $R(\eta'_c, \eta_c)$ – функция перераспределения отражения, определяемая оптическими свойствами пластины.

Распределение прошедшего излучения можно выразить аналогичным образом, с очевидной заменой функции перераспределения пропускания $T(\eta'_c, \eta_c)$. Если выбрано M квадратурных точек для охвата интервала $(0, 1)$, соответствующие матрицы могут аппроксимировать функции перераспределения отражения и пропускания:

$$R(\eta'_{ci}, \eta_{cj}) \rightarrow R_{ij}; \quad T(\eta'_{ci}, \eta_{cj}) \rightarrow T_{ij}. \quad (4)$$

Эти матрицы называются операторами отражения и пропускания соответственно. Если плита с границами, индексированными как 0 и 2, состоит из двух слоев, (01) и (12), с внутренним интерфейсом 1 между слоями, операторы отражения и пропускания для всей плиты (02) можно выразить как:

$$\begin{aligned} \mathbf{T}^{02} &= \mathbf{T}^{12}(\mathbf{E} - \mathbf{R}^{10}\mathbf{R}^{12})^{-1}\mathbf{T}^{01}, \\ \mathbf{R}^{20} &= \mathbf{T}^{12}(\mathbf{E} - \mathbf{R}^{10}\mathbf{R}^{12})^{-1}\mathbf{R}^{01}\mathbf{T}^{12} + \mathbf{R}^{21}, \\ \mathbf{T}^{20} &= \mathbf{T}^{10}(\mathbf{E} - \mathbf{R}^{12}\mathbf{R}^{10})^{-1}\mathbf{T}^{21}, \\ \mathbf{R}^{02} &= \mathbf{T}^{10}(\mathbf{E} - \mathbf{R}^{12}\mathbf{R}^{10})^{-1}\mathbf{R}^{12}\mathbf{T}^{01} + \mathbf{R}^{10}, \end{aligned} \quad (5)$$

где $\mathbf{E}$ – единичная матрица, определяемая в данном случае как:

$$E_{ij} = \frac{1}{2\eta_{ci}w_i} \delta_{ij}, \quad (6)$$

где w_i – вес, присвоенный i -й квадратурной точке, а δ_{ij} – символ дельты Кронекера, $\delta_{ij} = 1$, если $i = j$, и $\delta_{ij} = 0$, если $i \neq j$.

Определение умножения матриц также немного отличается от стандартного. А именно,

$$(\mathbf{AB})_{jk} \equiv \sum_{j=1}^M A_{ij} 2\eta_{cj} w_j B_{jk}. \quad (7)$$

Уравнения (5) позволяют вычислить операторы отражения и пропускания пластины, когда известны операторы составляющих ее слоев. Идея метода заключается в том, чтобы начать с тонкого слоя, для которого УПИ может быть довольно легко упрощено и решено, получая операторы отражения и пропускания, а затем продолжить удвоение толщины слоя до тех пор, пока не будет достигнута толщина всей пластины. Существует несколько методов инициализации слоя. Уравнения однократного рассеяния для отражения и пропускания для функции Хени-Гринштейна приведены ван де Хулстом [57] и Пралем [58]. Несоответствие показателей преломления можно учесть, добавив эффективные граничные слои нулевой толщины и определив операторы отражения и пропускания по формулам Френеля. Как полное пропускание, так и отражение

пластины получаются путем прямого интегрирования уравнения (3). Различные методы выполнения интегрирования и программа IAD, предоставленная Пралем [42, 58], позволяют получить коэффициенты поглощения и рассеяния из измеренного диффузного отражения R_d и полного пропускания T_t тканевого слоя. Эта программа является численным решением стационарного УПИ [уравнение (1)], реализующим итерационный процесс, который оценивает отражательную способность и пропускание из набора оптических параметров до тех пор, пока вычисленные отражательная способность и пропускание не будут соответствовать измеренным значениям. Значения для фактора анизотропии g и показателя преломления n должны быть предоставлены программе в качестве входных параметров.

Было показано, что при использовании только четырех квадратурных точек метод IAD обеспечивает оптические параметры с точностью в пределах 2–3% [42]. Однако более высокую точность можно получить, используя большее количество квадратурных точек, но это потребует увеличения времени вычислений. Еще одной ценной особенностью метода IAD является его применимость для исследования образцов со сравнимыми коэффициентами поглощения и рассеяния [42], поскольку другие методы, основанные только на диффузионном приближении, неадекватны. Кроме того, поскольку и анизотропная фазовая функция, и френелевское отражение на границах точно аппроксимируются, метод IAD хорошо подходит для оптических измерений биологических тканей и крови, удерживаемых между двумя предметными стеклами. Метод сложения-удвоения обеспечивает точные результаты в случаях, когда боковые потери незначительны, но он менее гибок, чем метод Монте-Карло (MC).

Как реальная геометрия эксперимента, так и структура ткани могут быть сложными. Поэтому для получения надежных оценок

необходимо использовать обратный метод Монте-Карло. В настоящее время в литературе представлен ряд алгоритмов для использования метода ИМС [5, 15, 19, 33, 37–39, 59–61]. Многие исследователи используют алгоритм и программу моделирования Монте-Карло (МС), предоставленные Жаком, Вонгом и др. [35, 62, 63]. Метод МС используется как метод решения прямой задачи в обратном алгоритме для определения оптических свойств тканей и крови. Метод МС основан на формализме RTT, где коэффициент поглощения определяется как вероятность поглощения фотона на единицу длины, а коэффициент рассеяния определяется как вероятность рассеяния фотона на единицу длины. Эффекты флуоресценции и комбинационного рассеяния также могут быть учтены аналогичным образом путем введения вероятности генерации новых фотонов с различной частотой для соответственно поглощенных или рассеянных исходных фотонов. Используя эти вероятности, генерируется случайная выборка траекторий фотонов. Среди впервые разработанных алгоритмов ИМС можно также упомянуть похожие алгоритмы для определения всех трех оптических параметров ткани (μ_a , μ_s и g), основанные на оценке *in vitro* полного пропускания, диффузного отражения и коллимированного пропускания с использованием спектрофотометра с интегрирующими сферами [5, 15, 33, 37, 38, 40, 41, 44, 50, 60, 61, 64]. Начальное приближение (для ускорения процедуры) достигается с помощью теории Кубелки-Мунка, в частности ее четырехпоточного варианта [3, 5, 33, 37, 38, 65–67]. Алгоритмы учитывают боковые потери фотонов, что становится существенным в достаточно толстых образцах. Аналогичные результаты были получены с использованием метода конденсированного ИМС [5, 60, 61, 68–73].

На рисунке 2 представлена типичная блок-схема метода ИМС [41].

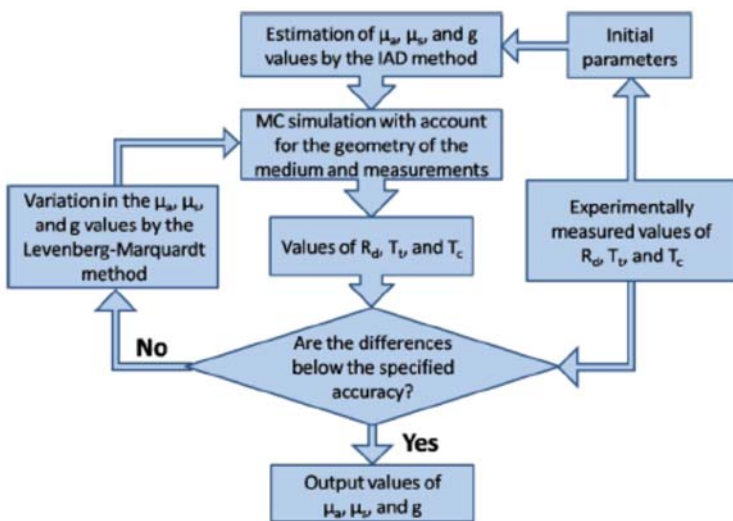


Рисунок 2 – Типичная блок-схема метода ИМК [1]

В базовом алгоритме МС фотону, описываемому тремя пространственными координатами и двумя углами (x, y, z, θ, ϕ) , присваивается его вес $W = W_0$, и он помещается в начальное положение в зависимости от характеристик источника. Размер шага s фотона определяется как $s = -\ln(\xi)/\mu_t$, где ξ – случайное число между $(0,1)$. Направление следующего движения фотона определяется функцией фазы рассеяния, подставленной в качестве распределения плотности вероятности. В моделировании МС использовались несколько приближений для функции фазы рассеяния ткани и крови. Они включают две эмпирические фазовые функции, широко используемые для аппроксимации функции фазы рассеяния ткани и крови, фазовую функцию Хени-Гринштейна (HGPF) (см. Уравнение (2)), фазовую функцию ядра Гегенбауэра (GKPF) и фазовую функцию Ми.

В большинстве случаев предполагается азимутальная симметрия. Это приводит к $p(\phi)=1/2\pi$ и, следовательно, $\phi_{rnd} = 2\pi\xi$

каждом шаге фотон теряет часть своего веса за счет поглощения: $W = W(1 - \Lambda)$, где $\Lambda = \mu_s/\mu_t$ – альбеда среды.

Когда фотон достигает границы, часть его веса передается в соответствии с уравнениями Френеля. Количество, переданное через границу, добавляется к отражательной способности или пропусканию. Поскольку угол преломления определяется законом Снеллиуса, можно рассчитать угловое распределение выходящего света. Фотон с оставшейся частью веса зеркально отражается и продолжает свое случайное блуждание.

Когда вес фотона становится меньше заданного минимального значения, фотон может быть остановлен с помощью процедуры «русской рулетки» [35, 62, 63]. Эта процедура экономит время, поскольку не имеет смысла продолжать случайное блуждание фотона, которое не внесет существенного вклада в измеряемый сигнал. С другой стороны, она обеспечивает поддержание энергетического баланса на протяжении всего процесса моделирования.

Метод МС имеет несколько преимуществ по сравнению с другими методами, поскольку он может учитывать несовпадающие интерфейсы среда-стекло и стекло-воздух, потери света на краях образца, любую фазовую функцию среды, а также конечный размер и произвольное угловое распределение падающего пучка. Единственным недостатком этого метода является длительное время, необходимое для обеспечения хорошей статистической сходимости, поскольку это статистический подход. Среднеквадратическое отклонение величины (диффузного отражения, пропускания и т. д.), аппроксимируемой методом МС, уменьшается пропорционально $1/\sqrt{N}$, где N – общее число запущенных фотонов. Стоит отметить, что стабильная работа алгоритма поддерживается генерацией от 10^5 до 5×10^5 фотонов за итерацию. Для оценки оптических параметров с точностью около 2% обычно требуется от двух до пяти итераций.

1.3 Спектроскопия диффузного обратного рассеяния

Спектроскопия диффузного обратного рассеяния (BS) [5, 72–87] хорошо подходит для использования в биомедицинских приложениях благодаря низкой стоимости оборудования, простоте внедрения и неразрушающей измерительной установке. Следовательно, было разработано много различных конфигураций измерения BS. Оптоволоконные массивы и бесконтактная отражательная визуализация являются двумя типичными конфигурациями датчиков при измерении BS, которые могут быть реализованы с помощью волоконно-оптического зонда (FOP), монохроматической визуализации (MCI) и гиперспектральной визуализации (HSI). При измерении FOP для измерения диффузного отражения на разных расстояниях от точки падения света можно использовать один спектрометр, несколько спектрометров или комбинацию спектрографа и камеры в сочетании с несколькими волокнами обнаружения. Более того, также желательно измерять образец ткани на большей глубине. Чтобы преодолеть недостатки жесткого FOP, для измерения оптических свойств ткани можно использовать гибкий FOP с многочисленными оптическими волокнами, охватывающими пространственный диапазон расстояний 0–30 мм. Оптические волокна должны быть соединены с многоканальной гиперспектральной системой визуализации, которая позволяет одновременно получать спектры отражения от образца. Использование нескольких различных размеров волокон для зонда также эффективно расширяет динамический диапазон камеры, позволяя получать спектры на большей глубине образца.

Как бесконтактный метод, MCI больше подходит для измерения оптических свойств тканей для монохроматического облучения. Лазерный диод или комбинация суперконтинуального лазера и монохроматора могут использоваться для освещения образца на определенной длине волны. Диффузное отражение получается

с помощью ПЗС-камеры. Эта конфигурация BS проста и относительно легко реализуема. Полученные двумерные изображения рассеяния сводятся к одномерным профилям рассеяния путем радиального усреднения, когда изображения рассеяния осесимметричны относительно точки падения лазера. Однако это предположение не выполняется для анизотропных тканей, где свет направляется волокнами ткани. Например, в случае бычьей мышечной ткани эффект волокон привел к пятнам рассеяния в форме ромба. Измерение на нескольких длинах волн требует последовательного сканирования длины волны. Кроме того, значительная часть сигнала каждого пикселя поступает из окружающих областей, что может повлиять на точность измерения. Поэтому характеристика функции рассеяния точки (ФРТ) необходима для минимизации ошибок в полученных значениях интенсивности при интерпретации данных изображения.

При гиперспектральной визуализации спектральная и пространственная информация получаются одновременно, и поэтому она выгодна для измерения профилей диффузного отражения в широком спектральном диапазоне. Как правило, типичная система BS на основе гиперспектральной визуализации в режиме линейного сканирования имеет высокое пространственное разрешение и в основном состоит из высокопроизводительной ПЗС-камеры, спектрографа визуализации, зум-объектива или объектива с фиксированным фокусным расстоянием, источника света и оптического волокна, соединенного с фокусирующей линзой для доставки широкополосного луча к образцу.

В качестве косвенного метода измерения оптических свойств вычисление оптических параметров из измерений BS обычно требует сложного моделирования на основе диффузионного приближения теории переноса излучения или моделирования MC в сочета-

нии с соответствующими обратными алгоритмами. Численные методы обычно требуются для решения уравнения переноса излучения или использования обратного моделирования МС. Эти методы являются гибкими и допускают возможность моделирования различных геометрий экспериментальных установок, но они могут быть подвержены статистическим неопределенностям во время оценки отражательной способности. Более того, одним из основных недостатков численных методов является то, что они требуют значительного времени вычислений. Для преодоления недостатков можно использовать метод конденсированного ИМС, то есть можно рассчитать библиотеку профилей BS, смоделированных МС, для сетки значений μ_s , μ_a и g , а затем библиотеку можно использовать либо в качестве справочной таблицы, либо для обучения нейронной сети.

Другой способ реконструкции оптических параметров ткани (таких как μ_a и приведенный коэффициент рассеяния $\mu'_s = \mu_s(1 - g)$) был предложен Зониосом и др. [88–91]. Их подход основан на диффузионном приближении и предполагает, что $R(\lambda) = \frac{\mu'_s(\lambda)}{k_1 + k_2 \mu_a(\lambda)}$. Здесь $R(\lambda)$ – диффузное отражение, λ – длина волны, а k_1 и k_2 – константы, зависящие от геометрии зонда. Оптические коэффициенты μ_a и μ'_s могут быть связаны с поглощающими и рассеивающими свойствами ткани через уравнения (8) и (9) (например):

$$\mu_a(\lambda) = C_{Hb}[\alpha \cdot \varepsilon_{HbO}(\lambda) + (1 - \alpha)\varepsilon_{Hb}(\lambda)] + C_w \cdot \varepsilon_w(\lambda) + C_{mel} \cdot \varepsilon_{mel}(\lambda) + C_{col} \cdot \varepsilon_{col}(\lambda) + \dots, \quad (8)$$

где C_{Hb} – общая концентрация гемоглобина, α – насыщение гемоглобина кислородом, C_w – концентрация воды, C_{mel} – концентрация меланина, C_{col} – концентрация коллагена, а ε_{HbO} , ε_{Hb} , ε_w , ε_{mel} , ε_{col} – коэффициенты поглощения оксигемоглобина, дезоксигемоглобина, воды, меланина и коллагена соответственно.

$$\mu'_s(\lambda) = \frac{A}{\lambda w}, \quad (9)$$

где параметр A определяется концентрацией рассеивающих частиц в ткани, а показатель длины волны w не зависит от концентрации частиц, характеризует средний размер частиц и определяет спектральное поведение коэффициента рассеяния [92].

Точная оценка оптических параметров обратными алгоритмами является непростой задачей из-за сложности аналитических решений и потенциальных экспериментальных ошибок при измерении диффузного отражения от среды. Более того, для многих биологических материалов значения коэффициента поглощения в определенной спектральной области (особенно в области от 700 до 900 нм) довольно малы, что затрудняет получение точной оценки оптических параметров. По этим причинам обычно считается приемлемым или точным, когда ошибки измерения μ_a и μ'_s находятся в пределах 10%.

В целом, оценку оптических параметров можно определить как нелинейную задачу оптимизации наименьших квадратов с несколькими важными предположениями, то есть постоянными ошибками дисперсии, некоррелированными ошибками и гауссовым распределением ошибок. Результаты будут недействительны, если эти предположения нарушаются. Кроме того, для оценки оптических параметров слоистых сред увеличенное количество свободных параметров может значительно увеличить время вычислений, что еще больше усугубляет оценку оптических параметров и/или приводит к некорректным задачам.

Для оптимизации обратных алгоритмов и повышения точности оценок были предложены различные стратегии, такие как многошаговый метод, анализ чувствительности, статистическая оценка и т. д. [93].

1.4 Рамановская спектроскопия

Рамановское рассеяние. Неопластические клетки характеризуются повышенным содержанием ядерного материала, повышенным ядерно-цитоплазматическим отношением, повышенной митотической активностью, аномальным распределением хроматина и сниженной дифференциацией [94, 95]. Происходит прогрессирующая потеря созревания клеток, а пролиферация этих недифференцированных клеток приводит к повышению метаболической активности. Морфологические и биохимические изменения, происходящие со злокачественной тканью, многочисленны и во многих случаях зависят от конкретного типа и местоположения рака. Биохимические маркеры опухолей включают антигены клеточной поверхности, цитоплазматические белки, ферменты и гормоны. Эти общие особенности неопластических клеток приводят к специфическим изменениям в количестве и/или конформациях нуклеиновых кислот, белков, липидов и углеводов [95]. Существует множество молекулярных маркеров, расположенных в мембране, цитоплазме, ядре и внеклеточном пространстве, которые могут указывать на неоплазию. Поскольку большинство биологических молекул активны в рамановских спектрах и имеют характерные спектры в области отпечатков пальцев ($500\text{--}1800\text{ см}^{-1}$), колебательная спектроскопия является востребованным инструментом для применения в целях обнаружения рака.

Рамановская спектроскопия основана на неупругом рассеянии фотонов колебаниями молекулярных связей. Поэтому изменение молекулярных сигнатур в клетке или ткани, подвергшейся раковой трансформации, может быть обнаружено неинвазивным рамановским рассеянием без маркировки.

В общем, большинство рассеянных фотонов имеют ту же частоту, что и падающие фотоны, когда свет проходит через ткань

(рисунок 3). Это явление известно как рэлеевское, или упругое рассеяние. Однако очень малая часть фотонов изменяет энергию после столкновения с молекулами из-за неупругого или комбинационного рассеяния. Разница энергии между падающими и рассеянными фотонами (рамановский сдвиг, измеряемый волновым числом в см^{-1}) соответствует колебательной энергии конкретной исследуемой молекулярной связи [96–98].

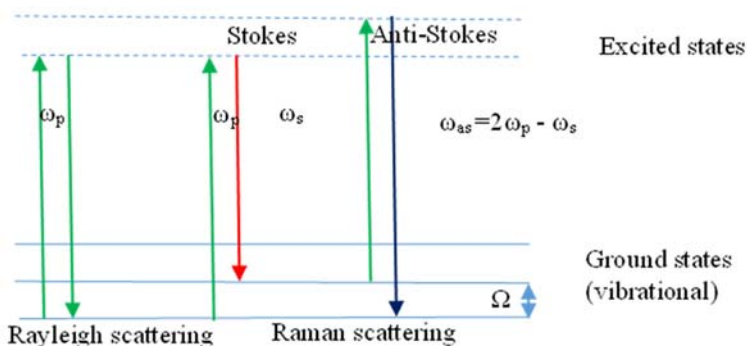


Рисунок 3 – Диаграмма уровней энергии для упругого (рэлеевского) и неупругого спонтанного комбинационного рассеяния [1]

Колебательные частоты и энергии основного состояния изменяются в зависимости от прочности связей и масс атомов, участвующих в нормальном движении моды. Наибольшее разнообразие колебательных переходов в биологических молекулах происходит в диапазоне отпечатков пальцев (от 500 до 1800 см^{-1}). Сигнатуры в диапазоне более высоких волновых чисел (НВ) (от 2800 до 3500 см^{-1}) возникают из-за переходов между состояниями мод, включающих симметричное или асимметричное растяжение связей С–Н. Интенсивность рамановских пиков для конкретной молекулы прямо пропорциональна концентрации этой молекулы в образце, поэтому результирующий спектр является суперпозицией рамановского отклика всех рамановских активных молекул из образца.

Таким образом, рамановский спектр является внутренним молекулярным отпечатком образца, раскрывающим подробную информацию о содержании ДНК, белка и липидов, а также о макромолекулярных конформациях, которые можно извлечь из измеренных спектров. Спектральная емкость кодирования химической информации может быть оценена как максимальное количество отдельных спектральных состояний, которые можно различить, и включает до 50 спектральных пиков во всем рамановском спектре [99]. Первоначальный анализ рамановских сигналов основан на различиях в интенсивности, форме и расположении различных рамановских полос между нормальными и раковыми клетками и тканями. Эти характерные рамановские полосы проливают свет не только на информацию о биологических компонентах клетки, но также на их качество, количество, симметрию и ориентацию. Их можно использовать для понимания спектральной сигнатуры, поскольку она относится к процессу заболевания. Однако следует учитывать, что высокая чувствительность к небольшим биохимическим изменениям сопровождается слабым сигналом рамановского рассеяния (сечение неупругого рассеяния составляет $\sim 10^{-30}$ см² на молекулу), часто в присутствии высокого фона. Поэтому существуют значительные проблемы для получения жизнеспособных сигнатур рамановского рассеяния, присущих химически сложным и широко варьирующимся биологическим тканям. Основной проблемой для получения рамановских спектров из биологических материалов является собственная флуоресценция, которая повсеместно присутствует почти во всех тканях и на несколько порядков интенсивнее рамановского сигнала.

Типичная рамановская установка показана на рисунке 4 и состоит из трех основных компонентов – лазерного источника (1), модуля доставки и сбора света образца (2) и спектрометра с ПЗС-детектором (3). Диагностическая эффективность рамановской системы тесно связана с параметрами аппаратуры, которые должны быть выбраны очень тщательно для измерения слабых рамановских

сигналов. Как правило, выбор аппаратуры всегда является компромиссом между различными факторами, обусловленными исследуемой тканью и патофизиологическими процессами. Например, мощность лазера ограничена отношением сигнал/шум (SNR) и максимально допустимым воздействием.

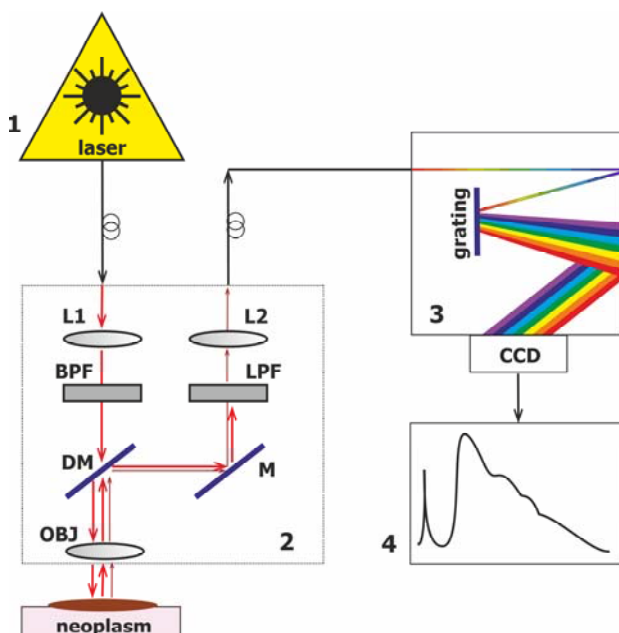


Рисунок 4 – Типичная схема рамановской установки: 1 – лазер; 2 – модуль доставки и сбора света; 3 – спектрометр с ПЗС-детектором; 4 – ПК; L1, L2 – линза волоконной связи; OBJ – объектив; DM – дихроичное зеркало; M – зеркало; BPF – полосовой фильтр; LPF – длиннополосный фильтр [1]

Ключевым компонентом рамановской системы является детектор, который в большинстве случаев является прибором с зарядовой связью (ПЗС). При выборе подходящей матрицы ПЗС для любого применения рамановской спектроскопии необходимо учитывать

несколько важных факторов. В частности, уровень шума и квантовая эффективность (QE) имеют большое значение. Типичная камера ПЗС, используемая в спектроскопии, состоит из прямоугольного чипа, в котором горизонтальная ось соответствует оси длины волны/волнового числа, а вертикальная ось используется для укладки нескольких волокон для увеличения пропускной способности, которые впоследствии могут быть объединены для улучшения SNR. В то время как различные типы чипов коммерчески доступны для различных применений, ПЗС с задней подсветкой и глубоким обеднением обеспечивает самый высокий уровень количественного смягчения в регионе ближнего ИК. Большинство ПЗС используют термоэлектрическую (TE) многоступенчатую систему Пельтье для активного охлаждения камеры по крайней мере до $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$, чтобы реализовать превосходные характеристики темнового шума.

Фактически, современные рамановские системы для большинства биомедицинских приложений ограничены только дробовым шумом. Выбор подходящих длин волн для возбуждения часто регулируется уменьшением флуоресценции и фона рассеяния, который уменьшается с увеличением длины волны. Однако из-за зависимости $1/\lambda^4$ интенсивность рамановского сигнала также уменьшается с увеличением длины волны, а квантовая эффективность кремниевых CCD-детекторов быстро падает для длин волн более 1000 нм.

В целом, исследователи в этой области склонны отдавать предпочтение возбуждению 785 и 830 нм как разумному компромиссу для большинства тканей. Полный обзор различных схем рамановской аппаратуры и различных конструкций зондов приведен в [100–102].

Обработка и анализ данных. Прямое вычитание фона из необработанного сигнала может быть достигнуто путем смещения длины волны возбуждения в пределах нескольких нанометров с по-

следующей дифференциацией получаемых сигналов, но такая аппаратная техника требует особых конструктивных соображений, включая использование настраиваемых стабилизированных лазеров [103, 104]. Другие распространенные методы устранения флуоресценции используют программные математические методы, такие как фильтрация в частотной области [105], вейвлет-преобразование [106], полиномиальная подгонка [107, 108]. Полиномиальная подгонка кривой имеет преимущество перед другими методами снижения флуоресценции из-за ее присущей способности сохранять спектральные контуры и интенсивности входных рамановских спектров и минимального присутствия искусственных пиков в спектрах с низким отношением сигнал/шум [100, 108].

Поскольку интенсивность рамановского рассеяния света чрезвычайно мала, измеренные спектры комбинационного рассеяния требуют значительного сглаживания шума для извлечения основных полос рамановского рассеяния, включая медианный фильтр, фильтр окна скользящего среднего, гауссовский фильтр, фильтр Савицкого–Голея различных порядков [109–111] и многомерные статистические подходы для удаления компонентов более высокого порядка и шума [112].

Спектры рамановского рассеяния сложны по своей природе, поскольку ткань содержит разнообразный набор малых и больших биомолекул. Частоты колебаний, связанные с различными функциональными группами и цепями остова, например, в белках, сахарах и нуклеиновых кислотах, часто перекрываются, что затрудняет приписывание определенной наблюдаемой полосы в рамановском спектре определенной функциональной группе конкретной молекулы в ткани [113]. Более того, хотя пиковое положение изолированной функциональной группы атомов обычно известно, фактическое пиковое положение функциональной группы в молекуле мо-

жет немного отличаться от изолированного случая из-за взаимодействий и связей с ее соседями. Тем не менее, функциональные группы, связанные с определенными молекулами, часто приводят к появлению относительно узких и хорошо разрешенных полос в рамановских спектрах. В таблице 1 суммируются основные спектральные моды рамановского рассеяния, где были обнаружены спектральные различия для нормальных и раковых тканей [94, 95, 98, 114–121].

Таблица 1 – Основные молекулярные колебательные моды и биохимические характеристики, наблюдаемые для нормальных и злокачественных тканей [94, 95, 98, 114–121]

Колебательные режимы	Частота полосы^а, см⁻¹	Химические вещества
1	2	3
С–С режим растяжения	855	Белок (коллаген)
С–С режим растяжения	935	Пролин и валин, белок (α -спираль)/гликоген
С–С симметричный кольцевой режим дыхания	1004	Фенилаланин (коллаген)
Режим изгиба С–Н	1031	Фенилаланин
PO ₂ симметричный режим растяжения	1080	Фосфолипиды
С–С режим растяжения	1158	Каротиноиды
PO ₂ асимметричный режим растяжения	1259	Фосфолипиды
Режим скручивания CH ₂	1302	Белки (коллаген)/ Фосфолипиды
CH ₂ CH ₃ режим виляния	1335	ДНК/белок (коллаген)

1	2	3
CH ₂ режим ножниц	1444	Липиды
C=C режим растяжения	1518	Каротиноиды
C=O–C режим растяжения	1600–1700	Амид I, конформация α-спирали
C=C режим растяжения	1618	Порфирин, белок (триптофан)
Режим изгиба OH	1642	Вода
C=C режим растяжения	1660	Ненасыщенные связи липидов
C=O режим растяжения	1750	Липиды
CH ₂ симметричный режим растяжения	2854 2850	Насыщенные связи липидов
(CH ₂)C–N асимметричная мода растяжения	2888	Насыщенные связи липидов
CH ₂ асимметричный режим растяжения	2884	
CH ₂ асимметричный режим растяжения	2926	Насыщенные связи липидов
Симметричный режим растяжения CH ₃	2930 2928	Белки
Режим растяжения H–C=C	3009	Ненасыщенные связи липидов
Режим растяжения OH	3258	Вода
Режим растяжения OH	3410	Вода
Режим растяжения OH	3450	Вода

^a Обратите внимание, что колебания рамановского рассеяния могут смещаться по волновому числу в зависимости от образца и что эти значения не следует рассматривать как абсолютные.

Подробное описание спектральных мод рамановского рассеяния для злокачественных тканей можно найти в работах [94, 115]. Характерные рамановские пики возникают из-за нуклеиновых кислот, липидов (растяжение C–C, C–O), белков (растяжение C–C, C–N) и растяжения C–O углеводов в области между 800 и 1200 см^{-1} ; растяжение C–N и изгиб N–H (полоса амида III) с вкладами от белков (виляние, скручивание, изгиб CH_3CH_2), полисахаридов, липидов (виляние, скручивание CH_3CH_2) и нуклеиновых кислот в области между 1200 и 1400 см^{-1} ; колебания C–H, CH_2 и CH_3 в области между 1400 и 1500 см^{-1} ; валентные колебания C=O (полоса амида I), белков (C=C), нуклеиновых кислот и липидов (растяжение C=C) в области между 1500 и 1760 см^{-1} ; симметричные и асимметричные моды растяжения CH_2 липидов и белков в области между 2850 и 3000 см^{-1} ; моды растяжения OH воды в области от 3100 до 3500 см^{-1} . Несмотря на наличие четких полос рамановского рассеяния в злокачественной ткани, которые, вероятно, связаны с обилием различных биомолекул, не было уникальных пиков, которые можно было бы отнести к какому-либо типу рака в отдельности.

Прогностическое значение рамановской диагностики следует из присущей ей химической специфичности, которая позволяет определять изменения в содержимом опухоли по сравнению с окружающей тканью. Наблюдаемое изменение содержимого включает несколько биомаркеров, таких как относительное обилие ДНК [122–124], изменения в структурной и водородной информации о связях липидов, белков и нуклеиновых кислот [122, 125, 126], изменение контекста коллагена и эластина [122, 123, 127–130], увеличение или уменьшение содержания химических компонентов, таких как триптофан [113, 123, 128, 129], кератин [113], каротиноиды [129, 131], гликоген [123, 128, 131], эфир холестерина [122, 131], тирозин и пролин [123, 128]. Большинство маркеров имеют несколько пиков, что способствует повышению надежности обнаружения.

В некоторых случаях можно определить идентичность диагностически значимых видов по нескольким факторам. Например, Хака и др. [122] показали, что относительное содержание в гидроксипатите кальция и дигидрате оксалата кальция коррелирует со злокачественными новообразованиями при раке молочной железы. Пары пиков также могут предоставить информацию о соотношениях белок–ДНК и белок–липид. Несколько исследовательских групп показали, что соотношение интенсивностей при 1455 см^{-1} и 1655 см^{-1} может использоваться для классификации опухолей и нормальных тканей в легких, мозге, молочной железе, толстой кишке и шейке матки [109, 124, 129], поскольку полоса 1655 см^{-1} соответствует растяжению C=O коллагена и эластина, а полоса 1445 см^{-1} (CH₂ режим ножниц) меняется в зависимости от соотношения липидов и белков. Но в большинстве случаев спектральные изменения между здоровой и больной тканью появляются в контексте целых очень сложных спектров ткани; и диагностическая информация может быть получена только с помощью подходов распознавания спектральных образов. Рамановские спектры также содержат скрытые связи между различными полосами спектра из-за вклада одних и тех же химических компонентов. Это приводит к появлению множественных корреляций. Следовательно, многомерные статистические методы стали общепринятой практикой для разработки алгоритмов дискриминации и классификации для диагностических приложений. Хемометрика является одним из мощных инструментов, которые способны идентифицировать вариации, которые приводят к точному и надежному разделению злокачественной и нормальной ткани. В последние несколько лет применялись методы дискриминации, такие как линейная и нелинейная регрессия [132–134], анализ главных компонент (PCA) для сжатия данных [112, 114], а также методы классификации, такие как машины опорных векторов (SVM) [135], нейронные сети [125, 136],

деревья классификации [137, 138], частичный дискриминантный анализ наименьших квадратов (PLS-DA) [139, 140]. Одним из предполагаемых преимуществ PLS-DA является то, что он способен анализировать высококоллинеарные и зашумленные данные. В результате сочетание спектральных данных рамановского рассеяния и хеометрики способно различать раковые и нормальные ткани, как показано в публикациях, рассмотренных в таблице 2.

Таблица 2 – Общий обзор исследований рака методом рамановской спектроскопии

№	Соответствующий рак	Метод рамановской спектроскопии	Тип выборки	Количество образцов	Спектральный диапазон, см ⁻¹	Лазер, нм
1	2	3	4	5	6	7
1	Рак легких	Рамановский зонд	<i>ex vivo</i> (ткань)	28	700-1800	785
2	Рак легких	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	80	2775-3040	785
3	Рак легких	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	26	700-1700; 1600-3500	785
4	Рак легких	Зонд Рамана + ОКТ	<i>ex vivo</i> (ткань)	22	800-1800	785
5	Рак молочной железы	Микроспектрометр	<i>in vitro</i> (клеточные линии)	60	500-1800; 2800-3050	532
6	Рак молочной железы	Микроспектрометр	<i>ex vivo</i> (ткань)	150	500 - 3500	532
7	Рак молочной железы	Микроспектрометр	<i>ex vivo</i> (ткань)	146	500 - 3500	514, 532

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6	7
8	Рак молочной железы	Микроспектрометр	<i>ex vivo</i> (ткань)	58	800-1800	830
9	Рак молочной железы	Рамановский зонд	<i>ex vivo</i> (ткань)	?	600-1800	830
10	Рак молочной железы	Рамановский зонд	<i>ex vivo</i> (ткань)	21	800-1800	830
11	Рак молочной железы	Рамановский зонд	<i>in vivo</i> (биопсия)	33	800-1800	830
12	Рак молочной железы	Рамановский зонд	<i>in vivo</i> (биопсия)	33	800-1800	830
13	Рак молочной железы	Рамановский зонд	<i>ex vivo</i> (ткань)	90	800-1800	830
14	Рак молочной железы	Микроспектрометр	<i>ex vivo</i> (ткань)	44	200-3600	514
15	Рак молочной железы	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	133	800-1800	785
16	Колоректальный рак	Микроспектрометр	<i>ex vivo</i> (ткань)	88	610-1700	785
17	Колоректальный рак	Микроспектрометр	<i>ex vivo</i>	88	1000-4000	
18	Колоректальный рак	Микроспектрометр	<i>in vitro</i> (клеточные линии)		300-1800; 1800-3200	532
19	Колоректальный рак	Рамановский зонд	<i>ex vivo</i> , <i>в естественных условиях</i>	54	800-1800	785
20	Колоректальный рак	Микроспектрометр	<i>ex vivo</i>	81	400-4000	532

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6	7
21	Колоректальный рак	Рамановский зонд	<i>ex vivo</i>	242	220-3310	785
22	Рак ЖКТ	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	107	800-1800	785
23	Рак ЖКТ	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	305	800-1800	785
24	Рак ЖКТ	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	450	800-1800	785
25	Рак ЖКТ (желудка)	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	67	800-1800	785
26	Дисплазия желудка	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	157	400-3600	785
27	Дисплазия желудка	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	191	800-1800; 2800-3600	785
28	Рак пищевода	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	92	800-1800	785
29	Рак желудка	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	29	800-1800	785
30	Дисплазия желудка	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	66	800-1800	785
31	Плоскоклеточный рак пищевода	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	48	800-1800; 2800-3600	785
32	Рак желудка	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	67	800-1800	785

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6	7
33	Рак желудка	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	83	800-1800	785
34	Рак желудка	Зонд Раман + NIR AF	<i>в естественных условиях</i>	81	800-1800	785
35	Язва цуам 3С желудка	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	71	800-1800	785
36	Пищевод Барретта	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	373	800-1800	785
37	Рак желудка	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	73	800-1800	785
38	Дисплазия желудка	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	30	800-1800	785
39	Рак желудка	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	62	800-1800	785
40	Дисплазия желудка	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	44	800-1800	785
41	Пищевод Барретта	Рамановский зонд	<i>ex vivo</i>	673	400-1850	830
42	Печень	Микроспектрометр	Клеточные линии		500-3100	488
43	Печень	Микроспектрометр	<i>ex vivo</i> (ткань)	15	800-1800	785, 1064
44	Рак мочевого пузыря	Рамановский зонд	<i>ex vivo</i> (ткань)	29	800-1800	785
45	Рак мочевого пузыря	Зонд Рамана+ОСТ	<i>ex vivo</i> (ткань)	8	300-3200	785

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6	7
46	Рак моче- вого пу- зыря	Рамановский зонд	<i>ex vivo</i> (ткань)	54	400- 1800	785
47	Рак моче- вого пу- зыря	Рамановский зонд	<i>в естест- венных условиях</i>	38	400- 1800	785
48	Рак моче- вого пу- зыря	Рамановский зонд	<i>ex vivo</i> (ткань)	32	400- 3200	785
49	рак про- статы	Рамановский зонд	<i>ex vivo</i> (ткань)	18	800- 1800; 2800- 3550	671, 785
50	рак про- статы	Микроспектро- метр	<i>in vitro</i> (клеточные линии)	200	400- 1800	830
51	рак про- статы	Рамановский зонд	<i>ex vivo</i> (ткань)	38	800- 1800	785
52	рак про- статы	Рамановский зонд	<i>ex vivo</i> (ткань)	32	500- 1800	785
53	рак про- статы	Микроспектро- метр	<i>ex vivo</i> (ткань)	50	700- 1800	632.8
54	рак про- статы	Микроспектро- метр	<i>ex vivo</i> (ткань)	74	700- 1800	1064
55	рак про- статы	Микроспектро- метр	<i>ex vivo</i> (ткань)	366	600- 1800	785
56	Предрак шейки матки	Рамановский зонд	<i>в естест- венных условиях</i>	93	800- 1800	785
57	Предрак шейки матки	Рамановский зонд	<i>в естест- венных условиях</i>	29	800- 1800	785
58	Предрак шейки матки	Рамановский зонд	<i>в естест- венных условиях</i>	84	800- 1800	785

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6	7
59	Предрак шейки матки	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	44	800-1800; 2800-3800	785
60	Предрак шейки матки	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	46	2800-3700	785
61	Предрак шейки матки	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	172	1000-1800	785
62	Предрак шейки матки	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	145	800-1800	785
63	Предрак шейки матки	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	79	800-1800	785
64	Предрак шейки матки	Микроспектрометр	<i>ex vivo</i> (ткань)	35	400-1800	532
70	Оральный SCC	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	50	1200-1800	785
71	Рак полости рта	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	515	900-1750	785
72	Оральный SCC	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	57	800-1800	785
73	Рак гортани	Рамановский зонд	<i>ex vivo</i>	47	950-1650	785
74	Рак гортани	Микроспектрометр	<i>ex vivo</i>	19	400-1800	830
75	Рак носоглотки	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	79	800-3600	785
76	Рак щитовидной железы	Микроспектрометр	клеточные линии	116	600-1800	783

Продолжение табл. 2

1	2	3	4	5	6	7
77	Рак щитовидной железы	Микроспектрометр	клеточные линии		400-1800	532
78	Рак щитовидной железы	Микроспектрометр	<i>ex vivo</i>	38	200-3400	532
79	Рак мозга	Игольчатый рамановский зонд	<i>in vivo</i> (биопсия)	19	2600-3800	671
80	Рак мозга	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	6	400-1800	785
81	Рак мозга	Рамановский зонд	<i>in vivo</i> (биопсия)	10	400-1800	785
82	Рак мозга	Зонд Раман +BS+AFS	<i>in vivo</i> (биопсия)	15		785
83	Кожа (меланома)	Микроспектрометр	<i>ex vivo</i> (ткань)	19	800-1800	1064
84	Кожа (ММ, БКК, ПКР)	Микроспектрометр	<i>в естественных условиях</i>	190	800-1800	830
85	Кожа (ММ, ВСС, SCC, DN, АК)	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	65	800-1800	830
86	Кожа (ММ, ВСС, SCC, PL, АК)	Зонд Раман + LIFS	<i>в естественных условиях</i>	76	400-1800	830
87	Кожа (ММ, ОЦК)	Рамановский зонд	<i>ex vivo</i> (ткань)	47	400-1800	830
88	Кожа	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	645	500-1800	785
89	Кожа	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	30	500-1800	830

1	2	3	4	5	6	7
90	Кожа (ММ, БЦК, СК, ПЛ, АК)	Микроспектрометр	<i>ex vivo</i>	134	800-1800; 2500-3500	1064
91	Рак кожи	Рамановский зонд	<i>ex vivo</i>	23	800-1800	785
92	Рак кожи	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	453	500-1800	785
93	Рак кожи	Зонд Раман + автофлуоресценция	<i>ex vivo</i>	79	800-1800	785
94	Рак кожи	Зонд Раман + автофлуоресценция	<i>в естественных условиях</i>	56	800-1800	785
95	Рак кожи	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	104	300-1750	785
96	Рак кожи	Рамановский зонд	<i>в естественных условиях</i>	289	600-1800	785

Анализ тканей. Для оценки применимости рамановской спектроскопии для клинической диагностики рака были проведены многочисленные исследования с извлеченными тканями, которые были заморожены (с жидким азотом или сухим льдом) во время сбора и разморожены для изучения или зафиксированы в формалине для предотвращения ухудшения. Процесс фиксации химически изменяет ткань, в первую очередь сшивая коллагеновые белки, и, таким образом, влияет на спектральную сигнатуру рамановского спектра ткани. Хотя некоторые различия наблюдаются в рамановских спек-

трах свежих и фиксированных тканей, вариация, по-видимому, невелика и не оказывает принципиального влияния на потенциальную диагностическую способность спектра [95].

Линг и др. [141] исследовали зафиксированные формалином парафиновые образцы доброкачественных новообразований (фиброзно-кистозная ткань, фиброаденома, внутрипротоковая папиллома) и рака (инвазивная протоковая карцинома и дольковая карцинома) с целью помочь в гистопатологической диагностике рака молочной железы. Было обнаружено, что несколько режимов вибрации существенно различаются между доброкачественными и злокачественными тканями. Полоса при 1662 см^{-1} относится к режиму амида I, происходящему в основном от белков и нуклеиновых кислот. Две слабые полосы при 1610 и 1585 см^{-1} , наблюдаемые в ткани молочной железы, обусловлены режимами $\nu(\text{C}=\text{C})$ ароматических аминокислот (фенилаланина, тирозина и триптофана). Полоса при 1448 см^{-1} отнесена к модам $\nu(\text{CH}_2/\text{CH}_3)$ из комбинации липопротеинов клеточной мембраны, жировой ткани и нуклеиновых кислот. Полосы амида III наблюдаются в области $1295\text{--}1200\text{ см}^{-1}$, которые отнесены к комбинации мод $\nu(\text{CN})$ и $\nu(\text{NH})$ пептидной связи $\nu(-\text{CONH})$. Полосы при 936 и 856 см^{-1} отнесены к модам $\nu(\text{CC})$ пролина и валина и модам $\nu(\text{C}-\text{CH})$ пролина и тирозина соответственно. Спектр демонстрирует три основные характерные полосы в этой области, включая те, которые обусловлены: модой $\nu(\text{C}=\text{C})$ при 1515 см^{-1} , модой $\nu(\text{CC})$ при 1156 см^{-1} и кольцевой дыхательной модой при 1004 см^{-1} . Производительность различных алгоритмов (PCA-LDA, PCA-QDA, PLS-DA, Linear c-SVC, Linear nu-SVC, RBF c-SVC и RBF nu-SVC) была оценена с использованием чувствительности и специфичности, рассчитанных на основе результатов данных рамановского рассеяния и гистопатологии в качестве золотого стандарта. Модели PCA-LDA, PCA-QDA и PLS-DA достигли аналогич-

ной чувствительности и специфичности 80%. Модели SVM достигли чувствительности и специфичности, превышающей 90%, но потребовали больше времени обработки, чем другие модели.

Клеточные линии. Сложность структуры ткани и окружающей среды затрудняет интерпретацию рамановских спектров тканей. Понимание молекулярного, микроскопического и макроскопического происхождения наблюдаемых рамановских сигналов тканей может быть достигнуто путем *in vitro* изучения рамановских спектров биологически важных молекул в растворе, в отдельных живых клетках, в клеточных культурах, полученных из хирургически удаленных человеческих тканей [142] или созданных с использованием линий раковых клеток [114]. Клеточные линии широко используются во многих аспектах лабораторных исследований и, в частности, в качестве моделей *in vitro* в исследованиях рака. Они имеют ряд преимуществ; например, с ними легко обращаться, и они представляют собой неограниченный самовоспроизводящийся источник, который можно выращивать практически в бесконечных количествах. Кроме того, они демонстрируют относительно высокую степень однородности и простоты обращения [143]. Рамановские спектры не только выявляют различия в биологическом составе между линиями клеток, но и представляют собой комбинированный эффект этих параметров для изучения различных аспектов элементарных биологических процессов, таких как клеточный цикл, клеточная дифференцировка и апоптоз.

Большинство исследователей в первую очередь были сосредоточены на спектральных различиях в диапазоне отпечатков пальцев 600-1800 см^{-1} , поскольку он включает пики, которые могут быть отнесены к различным биохимическим соединениям, таким как липиды, белки или нуклеиновые кислоты. Содержание липидов и химическую структуру этих соединений, например, можно оценить с помощью частот пиков 1754 см^{-1} (C=O), 1656 см^{-1} (C=C), 1440 см^{-1}

(изгиб CH_2) и 1300 см^{-1} (изгиб CH_2). Спецификацию содержания белка в биологических образцах можно также понять из 1656 см^{-1} (амид I), 1450 см^{-1} (изгиб CH_2), $1100\text{--}1375\text{ см}^{-1}$ (амид III) и 1004 см^{-1} (фенилаланин) [99, 115, 127, 142-149].

Ошима и др. [150] продемонстрировали различия между культурами нормальных и раковых линий клеток легких, а именно аденокарциномы и плоскоклеточной карциномы с низкой, средней и высокой злокачественностью. Рамановские спектры отдельных клеток были получены с использованием длины волны возбуждения 532 нм . Сильные полосы при 747 , 1127 и 1583 см^{-1} были назначены цитохрому *c* (cyt-c), указывающему на резонанс около 550 нм с возбуждающим светом. Пики при 1449 , 1257 , 1003 и 936 см^{-1} были назначены на CH_2 деформация, амид III, симметричные кольцевые дыхательные полосы фенилаланина белка и растяжение $\text{C}\text{--}\text{C}$, соответственно. Полосы при 720 , 785 , 830 , 1086 , 1340 , 1421 и 1577 см^{-1} были назначены нуклеиновым кислотам (ДНК и РНК). Перекрывающиеся моды полосы амида I белка и связи $\text{C}=\text{C}$ полоса растяжения липидов образует сильный рамановский пик при 1659 см^{-1} . PCA был успешно применен, и была достигнута точность 80% при различении четырех линий раковых клеток.

Guo et al. [151] сообщили, что рамановская спектроскопия может использоваться для дифференциации злокачественных гепатоцитов от нормальных клеток печени. Было показано, что сильные полосы при 1447 и 1656 см^{-1} могут быть отнесены к режиму деформации CH_2 и режиму растяжения $\text{C}=\text{C}$ липидов и белков соответственно. Полоса, возникающая при 786 см^{-1} можно отнести к режиму растяжения $\text{O}\text{--}\text{P}\text{--}\text{O}$ ДНК. Полосы, появляющиеся при 1004 и 1032 см^{-1} можно отнести к симметричному режиму дыхания кольца и режиму изгиба $\text{C}\text{--}\text{H}$ в плоскости фенилаланина соответственно. Статистические методы, такие как *t*-тест, PCA и LDA, использовались для анализа рамановских спектров обеих линий клеток. Ре-

зультаты *t*-теста подтвердили, что интенсивности этих полос значительно различаются между двумя линиями клеток, за исключением полос 1585 и 1625–1720 см^{-1} .

Кроу и др. [128] изучили различные линии клеток аденокарциномы простаты и обнаружили, что основные компоненты позволяют идентифицировать молекулярные виды по их рамановским пикам и обеспечивают понимание происхождения статистических вариаций. PC1 представляет повышенные концентрации нуклеиновых кислот (721, 783, 1305, 1450 и 1577 см^{-1}), остова ДНК (О–Р–О) (827 и 1096 см^{-1}) и неупорядоченных белков (1250 и 1658 см^{-1}). PC2 представляет пониженную концентрацию α -спиральных белков (935, 1263 и 1657 см^{-1}) и фосфолипидов (719, 1094, 1125 и 1317 см^{-1}). PC3 представляет собой пониженные концентрации липидов (1090, 1302 и 1373 см^{-1}), гликогена (484 см^{-1}) и нуклеиновых кислот (786, 1381 и 1576 см^{-1}). Алгоритм PCA/LDA достиг почти идеальной идентификации каждой клеточной линии с чувствительностью от 96 до 100% и специфичностью 99% или выше.

Кришна и др. [152] использовали микрорамановскую спектроскопию для исследования случайно смешанных популяций раковых клеток, включая человеческий промиелоцитарный лейкоз, рак молочной железы и саркому матки, а также их соответствующие чистые клеточные линии. Согласно результатам, клетки разного происхождения могут демонстрировать различия в своих спектральных сигнатурах, и этот метод можно использовать для идентификации типа клеток в смешанной популяции клеток с помощью его спектральных сигнатур.

В последнее время внимание было направлено на использование диапазона высоких волновых чисел (2800–3600 см^{-1}), поскольку спектральный диапазон НВ демонстрирует более сильные рамановские сигналы ткани с меньшими помехами автофлуоресценции. В этой спектральной области большинство спектраль-

ных характеристик, полученных от ткани, представляют собой перекрывающиеся симметричные и асимметричные растяжения колебаний CH_2 и CH_3 фосфолипидов и белков с четырьмя основными пиками, расположенными при 2850 см^{-1} , 2880 см^{-1} , 2920 см^{-1} и 2960 см^{-1} [144, 147, 148]. Также имеются незначительные пики SH-валентных колебаний $2500\text{--}2600\text{ см}^{-1}$ [115, 145] и широкая полоса OH-валентных колебаний (в основном из-за воды) в спектральном интервале $3100\text{--}3500\text{ см}^{-1}$ [145–147]. Колебания СН-валентных колебаний чувствительны к своему окружению посредством прямой связи и через резонансы Ферми с изгибными модами C–H около 1500 см^{-1} . Вместе эти влияния могут вносить значительные сдвиги и уширение пиков СН-валентных колебаний [99, 127].

Например, Телари и др. [114] изучали рамановские спектры нормальных (MCF-10A) и двух линий клеток рака молочной железы с различной концентрацией нуклеиновой кислоты (MDA-MB-436 и MCF-7) в диапазонах «отпечатков пальцев» и HW, используя неинвазивную дисперсионную микрорамановскую систему, оснащенную 532 нм лазером. Пиковые интенсивности показали четкие различия между тремя линиями клеток в диапазонах липидов (2934 см^{-1}), амида I (1658 см^{-1}) и амида III (1244 см^{-1}). PCA со всем спектральным диапазоном показал хорошее общее разделение между тремя линиями клеток, но он не сформировал отдельные кластеры, представляющие классы «нормальный» и «раковый/больной» [114]. Это предполагает очень большую биохимическую вариацию даже между двумя линиями клеток рака молочной железы. Клеточная линия MCF-7, по-видимому, содержит гораздо больше липидов по сравнению с MDA-MB 436 и MCF 10A; и PCA хорошо работает, чтобы выделить эту клеточную линию ввиду области с высоким волновым числом, которая включает основные пики симметричных и асимметричных растягивающих колебаний CH_2 липидов при 2882 см^{-1} , симметричных колебаний C–H, CH_2 в липидах и белках (2940 см^{-1} , 2921 см^{-1} и 2948 см^{-1}). Хотя MCF-7 и MDA-

MB-436 являются подтипами рака молочной железы, MDA-MB-436, по-видимому, не содержит липидов в концентрации, значительно отличающейся от той, которая обнаружена в нормальной клеточной линии MCF-10A. Вместо этого разница заключается скорее в относительных концентрациях белка и аминокислот, которые можно идентифицировать в области отпечатков пальцев для аденина и гуанина (1337 см^{-1}), деформации CH_2 липидов, аденина и цитозина (1258 , 1299 и 1304 см^{-1}) и крутильных колебаний метиленовой группы (1294 см^{-1}) и различных конформаций в растяжении $\text{C}=\text{O}$ белков (1687 см^{-1}), антипараллельных β -слоях амида I (1670 см^{-1}), триптофана или β -слоя белка (1621 см^{-1}), $\text{C}=\text{C}$ колебания кольца фенилаланина, тирозина (1607 см^{-1}) и триптофана (1548 см^{-1}).

Гала де Пабло и др. [153] изучили различие рамановских спектров Рамана (рисунок 5) между первичными (SW480) и вторичными (SW620) опухолевыми клетками, полученными из первичной аденокарциномы стадии В по Дьюку и вторичной опухоли в лимфатическом узле того же пациента. Вклад растяжения CH_2 и CH_3 в области $2800\text{--}3200\text{ см}^{-1}$ показал более высокую общую интенсивность для первичных опухолевых клеток и большее соотношение $\text{CH}_2:\text{CH}_3$ для вторичных клеток, что указывает на различия в липидном составе между двумя клеточными линиями с более высоким содержанием липидов для большего размера первичных клеток.

При нормализации по полосе Амида I вторичные опухолевые клетки (SW620) показывают больший вклад α -спиральных белков, сахаридов, нуклеиновых кислот и полос, связанных с двойными связями, тогда как первичные опухолевые клетки (SW480) показывают больший вклад липидов, β -слоистых и неупорядоченных структурных белков. Анализ главных компонентов с линейным дискриминантным анализом дает наилучшую классификацию

между клеточными линиями SW620/SW480 с точностью $98,7 \pm 0,3\%$ (стандартная ошибка).

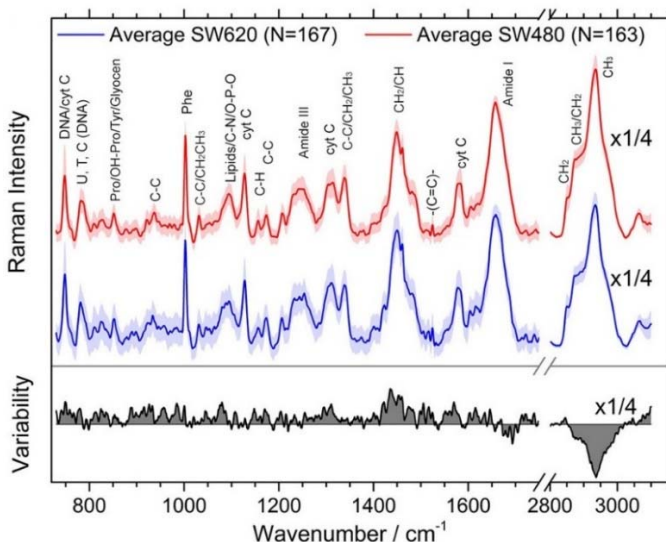


Рисунок 5 – Средние спектры отдельных клеток и спектр изменчивости для первичных (SW480) и вторичных (SW620) опухолевых клеток, нормализованные по пику Амиды I. Ошибка вокруг среднего значения показывает одно стандартное отклонение. Область около 2900 см^{-1} показана уменьшенной в 4 раза для улучшения деталей в области отпечатка пальца [153]

Диагностика отдельных клеток, захваченных лазером. Сочетание лазерного пинцета и обнаружения рамановского сигнала является очень привлекательным применением для идентификации злокачественных клеток в системах цитологической диагностики. Чен и др. [142] использовали РСА-анализ рамановских спектров, полученных в результате лазерного захвата отдельных клеток коло ректального эпителиального раствора, для дифференциации раковых и нормальных эпителиальных клеток.

Более высокие концентрации ядерных кислот и белков в раковых клетках отражаются в основных изменениях и увеличении интенсивности Рамана при 788 см^{-1} (растяжение O–P–O остова ДНК), 853 см^{-1} (кольцевая дыхательная мода тирозина и растяжение C–C пропионового кольца), 938 см^{-1} (растяжение C–C остова α -спирали белка), 1004 см^{-1} (симметричное кольцевое дыхание фенилаланина), 1095 см^{-1} (симметричное растяжение ДНК PO_2), 1257 см^{-1} (β -слой Амида III), 1304 см^{-1} (скручивание липидов CH_2), 1446 см^{-1} (деформация CH_2 всех компонентов в клетке) и 1657 см^{-1} (растяжение C=O α -спирали Амида I). Оценки PCA были введены в алгоритм логистической регрессии для определения уравнения параметров, которое наилучшим образом отличает раковые клетки от нормальных, получив общую чувствительность 82,5% и специфичность 92,5%.

Обширные исследования *ex vivo* помогли сформировать надежную и подробную базу данных точных определений пиков Рамана и дали знания о различиях в спектральных характеристиках нормальных, доброкачественных и злокачественных тканей (см. ссылки в таблице 1). Однако реальную пользу метода можно изучить только с помощью приложений *in vivo*, что стало возможным благодаря преимуществам в технологии детекторов и прогрессу в разработке миниатюрных волоконно-оптических зондов Рамана. Таким образом, в последние годы произошел значительный переход от исследований *ex vivo* к исследованиям *in vivo*. Частичный список различных клинических приложений Рамана для диагностики рака можно найти в таблицах 2 и 3. Были предприняты значительные усилия по переносу статистических моделей и классификаторов тканей *ex vivo* в *in vivo* клиническая ситуация. Например, Молчовски и др. [154] обнаружили, что классификатор *ex vivo* не показал хороших результатов; и действительно, анализы PCA тканей *ex vivo* и *in vivo* различаются. Поэтому разработан

ные модели необходимо адаптировать к приложениям *in vivo*. Исследования *in vivo* сосредоточены на трех основных клинических целях: ранняя диагностика рака, руководство по биопсии и руководство по онкологической хирургии.

Таблица 3 – Результаты исследований рака методом рамановской спектроскопии, указанных в таблице 2

№	Метод анализа данных	Чувствительность, %	Специфичность, %	Год	Ссылка
1	2	3	4	5	6
1	соотношение 1444/1655	94	92	2003	[129]
2	ПК-ГДА; ПЛС-ДА, ЛООКВ	90	65	2016	[156]
3	PCA-LDA, LOOCV	90	90	2008	[155]
4	LDA, QDA	91	79	2015	[111]
5	ПКА; ЛДА	100	91	2015	[114]
6	LRA-маркер, PCA	83	77	2011	[157]
7	LRA-маркер, PCA	83	77	2012	[158]
8	PhyM	94	96	2005	[122]
9	PhyM	?	?	2002	[98]
10	PhyM	83	93	2009	[117]
11	PhyM; LR, LOOCV	84	86	2011	[116]
12	CBM, ЛООСВ	64.3	100	2013	[159]
13	СПС	88	93	2002	[160]

Продолжение табл. 3

1	2	3	4	5	6
14	PCA-PLS	72	83	2008	[161]
15	CBM, ABKX	94,9	93,8	2014	[162]
16	CBM	92.3	94.2	2014	[163]
17	ЭБК	81.38	92.69	2017	[164]
18	PCA– LDA; SVM; PLS	100	98	208	[153]
19	PCA-LDA	91 (аденоматоз- ные полипы)	95	2003	[154]
20	PCA-LDA;	72.8	85,9	2016	[165]
21	PLS-DA	77,7	91		
22	CBM, ЛОПОКВ	79	74	2017	[166]
23	PhyM; PLS-DA, LOOCV	90,9	93,9	2011	[167]
24	PLS-DA	90	73.3	2012	[168]
25	PLS-DA	81.3	88.3	2014	[169]
		94	93,4	2010	[169]
26	PCA-LDA	89.3 (ФП+ХВ)	92.2 (ФП+ХВ)	2016	[170]
		89.3(ФП)	84,4(ФП)		
		75(III)	82(III)		

Продолжение табл. 3

1	2	3	4	5	6
27	PLS-DA, LOPCV	90,9	95,9	2016	[171]
28	PLS-LDA, LOOCV	81	94	2015	[173]
29	соотношение 1600/1300	91.7	97.7	2019	[173]
30	PLS-DA, LOPCV; PhysM	92,5	93.1	2015	[174]
31	PLS-DA, LOPCV	92.7	93,6	2015	[175]
32	ACO-LDA, LOOCV	89.3	97,8	2010	[176]
33	PLS-DA	83,33 (дисплазия)	95,8 (дисплазия)	2013	[177]
		84,91 (аденокар- цинома)	95,57 (аде- нокар- цинома)		
34	PCA-LDA	97.9	91,5	2011	[178]
35	PLS-DA, LOOCV	90,8 (слизистая оболочка)	93,8 (слизистая оболочка)	2010	[179]
		84,7 (доброка- чественные язвы)	94,5 (доброка- чественные язвы)		
		82.1 (злокаче- ственные язвы)	95,3 (злокаче- ственные язвы)		
36	PLS-DA	87	84,7	2014	[180]

Продолжение табл. 3

1	2	3	4	5	6
37	КОРЗИНА	88.9	92.9	2008	[181]
38	PCA-LDA	94.4	96.3	2010	[182]
39	PCA=MLR	78 (аденокар- цинома кишечника)	95 (аденокар- цинома кишечника)	2010	[183]
		75 (диффузная аденокарци- нома)	96 (диффузная аденокар- цинома)		
40	PCA-LDA, LOOCV	95.2	90,9	2008	[184]
41	СПС	86	88	2014	[185]
42	PCA;SVM	100	98	2014	[186]
43	SMLR, LOOCV	100	89	2015	[132]
44	PCA-LDA	89 (доброкаче- ственный против нор- мального)	79 (доброкаче- ственные против нор- мальных)	2005	[187]
		79 (злокаче- ственные против нор- мальных)	89 (злокаче- ственные против нор- мальных)		
45	PCA, кНН	80 (ОКТ)	60 (ОКТ)	2018	[188]
		99 (RS-OCT)	87 (RS-OCT)		
46	PCA-LDA	78,5	78.9	2009	[189]
47	PCA-LDA	85	79	2010	[190]

Продолжение табл. 3

1	2	3	4	5	6
48	PCA; ИНС	90,3 (низкая степень)	98 (низкий класс)	2018	[191]
		97,5 (высший сорт)	96,4 (высший сорт)		
49	CBM, ЛООСВ	85	89	2018	[192]
50	PCA, LDA	98	99	2005	[128]
51	PCA-LDA	87 (доброкаче- ственное по сравнению с нормой)	84 (доброкаче- ственное или норма)	2005	[187]
		84 (злокаче- ственные против нор- мальных)	87 (злокаче- ственный против нормы)		
52	HNA, ЛООСВ	87	86	2018	[193]
53	PCA; SVM, LOOCV	85,7	88,9	2013	[194]
54	CBM	89	98	2018	[195]
55	СПС	89	98	2010	[196]
56	ПК-LDA, LOOCV	100	93	2014	[197]
57	PLS-DA, dCV	72,5	89,2	2011	[198]
58	ПК-ЛДА	81	87,1	2013	[199]
59	PLS-DA	85	81,7	2012	[200]
60	PCA-LDA	93,5	97,8	2009	[201]

Продолжение табл. 3

1	2	3	4	5	6
61	СМРЛ	96,5 (дисплазия)	97,8	2011	[202]
62	СМРЛ	96,2	90,7	2009	[203]
63	ЛР	89 (высший сорт)	81 (доброкаче- ственный)	2007	[204]
64	PCA-LDA	74,9	89,9	2018	[205]
	PLS-DA	95,5	92,7		
65	PCA-LDA, LOOCV	81,3	83,8	2017	[206]
66	СПС	87,5	83,8	2008	[207]
67	ПКА, ЛДА	86,1	94,4	2014	[104]
68	PCA-LDA, LOOCV	93,6 (ФП+ХВ)	92,6 (ФП+ХВ)	2017	[208]
		89,2 (ФП)	89,9 (ФП)		
		89,7 (ТВ)	89 (БП)		
69	МСР-БАС	92	100	2016	[209]
70	PCA-LDA	96	83	2012	[210]
71	СМРЛ	96 (SCC против нормы)	99 (SCC против нормы)	2014	[211]
		99 (субмукоз- ный фиброз против нормы)	98 (субмукоз- ный фиброз против нормы)		

Продолжение табл. 3

1	2	3	4	5	6
72	ПК-LDA, LOOCV	80	29.7	2017	[212]
73	СПС	69	94	2005	[213]
74	PCA-DA	76 (дисплазия)	91 (дисплазия)	2000	[124]
		92 (карцинома)	90 (карцинома)		
75	PLS-DA	91	95	2017	[214]
76	ННА	95	92	2009	[215]
77	ПК-ЛДА	94 (ФТС против доброкачественного)	92 (ФТК)	2018	[216]
		63 (РТС против бенинга)	91 (ПТС)		
		79 (УТС против доброкачественного)	96 (УТС)		
		100 (МРЦЖ против доброкачественной опухоли)	96 (МТС)		
78	PCA-LDA, LOOCV	93	100	2016	[217]
79	SVM, LOOCv	80	90	2018	[218]
80	АНС	93	91	2015	[219]
81	БТ, ЛООСВ	84	89	2015	[220]
82	СВМ, ЛОПКВ	100 (РС+ИФС)	9 (РС+ИФС)3	2017	[221]
		92 (РС)	90 (РС)		

Продолжение табл. 3

1	2	3	4	5	6
83	ЛДА	93	99	2010	[120]
84	Биомодель	??	???	2017	[222]
85	PhyM	95	71 (ММ про- тив нормы)	2018	[121]
			18 (BCC/SCC против нормы)		
	PCA-LDA, LOOCV	95	64 (ММ про- тив нормы)		
			10 (BCC/SCC против нормы)		
86	СПС	90 (BCC/SCC против нормы)	85 (BCC/SCC против нормы)	2014	[223]
		100 (ММ против ПЛ)	100 (ММ против ПЛ)		
87	PhyM; LLS	98.2	93.3	2012	[224]
88	ПК-LDA; PLS95, LOOCV		54	2015	[225]
89	ФизМ	90	92	2019	[226]
90	ННА	85	99	2004	[125]

Продолжение табл. 3

1	2	3	4	5	6
91	LDA, QDA	89 (ММ против не-ММ)	88 (PC), 93 (PC-ОКТ)	2015	[111]
		78 (BCC против не-BCC, RS)	85 (PC)		
		89 (BCC против не-BCC, RS-ОКТ)	96 (PC-ОКТ)		
92	ПК-LDA; PLS, LOOCV	90 (рак против доброка- чественной опухоли)	64	2012	[227]
		95 (ММ против доброка- чественной)	38		
93	PCA-DA	89,7 (PC)	67 (PC)	2017	[228]
		94,6 (RS+NIR АФ)	92,5 (RA+NIR АФ)		
		100 (RS + NIR + UV AF)	96,3 (RS + NIR + UV AF)		
94	PLS-DA	100 (ММ против доброка- чественной)	100 (ММ против доб- рока- чественной)	2018	[140]
		73,7 (ММ против других)	97,4 (ММ против других)		
		94,7 (BCC против других)	89,2 (BCC против других)		

1	2	3	4	5	6
95	PCA; ПЛС-ДА	87 (ММ против ПП)	94 (ММ против ПП)	2015	[229]
		63 (ВСС против нормы)	83 (ВСС про- тив нормы)		
		80 (SCC против нормы)	89 (ВСС про- тив нормы)		
96	PLS-DA	91 (рак против доброка- чественной опухоли)	75 (рак против доброка- чественной опухоли)	2008	[230]
		97 (ММ против доброка- чественных)	78(ММ против доброка- чественной опухоли)		

Как можно видеть в таблице 2, средняя чувствительность и специфичность, полученные с помощью спектроскопии Рамана для различных типов рака, варьируются от 83 до 96% и от 77 до 94% соответственно. Интересно отметить, что мультимодальные подходы, объединяющие различные модальности (ОСТ, флуоресценцию и рамановскую спектроскопию), повышают чувствительность системы диагностики *in vivo* на 5–8% и позволяют более точно диагностировать предраковые поражения. Реализация биофизических моделей совместно с алгоритмами перекрестной проверки позволяет получить статистический предиктор для диагностики рака с биохимическим количественным обоснованием.

В таблицах 2 и 3 приняты следующие сокращения: GI – желудочно-кишечный; BCC – базальноклеточная карцинома; SCC – плоскоклеточная карцинома; MM – злокачественная меланома; АК – актинический кератоз; PL – меланомное пигментное поражение; PN – пигментные невусы; SK – себорейный кератоз; DN – диспластические невусы; FTC – фолликулярная карцинома щитовидной железы; PTC – папиллярная карцинома щитовидной железы; UTC – недифференцированная карцинома щитовидной железы; MTC – медулярная карцинома щитовидной железы; PhyM – физиологическая (биохимическая) модель; BS – спектроскопия диффузного обратнорассеянного отражения; AFS – автофлуоресцентная спектроскопия; LIFS – лазерно-индуцированная флуоресцентная спектроскопия; PCA – анализ главных компонент; LDA – линейный дискриминантный анализ; SVM – машина опорных векторов; LRA – маркер, структура и относительное содержание липидов; ACO – оптимизация муравьиной колонии; MCR – многомерный анализ разрешения кривой; EWHK – энтропийный вес локальной гиперплоскости k-ближайшего соседа; LLS – линейная подгонка по наименьшим квадратам; PLS-DA – частичный дискриминантный анализ; LOOCV – перекрестная проверка с исключением одного; LOPOCV – перекрестная проверка с исключением одного пациента; PC-LDA, главные компоненты – логистический регрессионный анализ; MLR – полиномиальная логистическая регрессия; q SMLR – разреженная полиномиальная логистическая регрессия; LP-ratio – соотношение липидов к белку (1444/1665); NNA – анализ нейронных сетей; dCV – двойная перекрестная проверка; PC-GDA – главные компоненты с обобщенным дискриминантным анализом; LDA – линейный дискриминантный анализ; QDA – квадратичный дискриминантный анализ; LR – логистический регрессионный анализ; AWKH – адаптивный весовой k-локальный гиперплоскостной алгоритм.

1.5 Список использованной литературы по главе 1

1. Tuchin VV, Popp J & Zakharov V (eds.) (2020) Multimodal optical diagnostics of cancer. Springer Nature.
2. Bashkatov A.N., Genina E.A., Tuchin V.V. (2011), Tissue Optical Properties. In Boas DA. Pitris C. Ramanujam N (eds) Handbook of Biomedical Optics. Taylor & Francis Group. LLC. CRC Press Inc, p. 67–100.
3. Cheong WF, Prahl SA, Welch AJ (1990) A review of the optical properties of biological tissue. IEEE J Quantum Electron 26(12):2166-2185
4. Vo-Dinh T (ed) (2019) Biomedical Photonics Handbook: Biomedical Diagnostics. 2nd edn.
5. Tuchin VV (2015) Tissue optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis, 3rd edn. PM254, SPIE Press, Washington, Bellingham.
6. Welch AJ, van Gemert MJC (eds) (2011) Optical-thermal response of laser-irradiated tissue. 2nd edn. Springer.
7. Mishchenko MI, Travis LD, Lacis AA (2002) Scattering, Absorption, and Emission of Light by Small Particles. Cambridge University Press.
8. Henyey LG, Greenstein JL (1941) Diffuse radiation in the Galaxy. Astrophysical J 93:70-83
9. Ishimaru A (2017) Electromagnetic Wave Propagation, Radiation, and Scattering. From Fundamentals to Applications, 2nd edn, John Wiley & Sons Inc., Hoboken, New Jersey.
10. Borovoi AG, Naats EI, Oppel UG (1998) Scattering of light by a red blood cell. J Biomed Opt 3(3):364-372
11. Turcu I (2004) Effective phase function for light scattered by disperse systems – the small-angle approximation. J Opt A: Pure Appl Opt 6:537–543
12. Bohren CF, Huffman DR (1983) Absorption and scattering of light by small particles. John Willey & Sons Inc, New York.

13. Canpolat M, Mourant JR (2000) High-angle scattering events strongly affect light collection in clinically relevant measurement geometries for light transport through tissue. *Phys Med Biol* 45:1127-1140. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/45/5/304>
14. Vaudelle F, L'Huillier JP, Askoura ML (2017) Light source distribution and scattering phase function influence light transport in diffuse multi-layered media. *Opt Comm* 392:268-281
15. Yaroslavsky AN, Yaroslavsky IV, Goldbach T, et al (1999) Influence of the scattering phase function approximation on the optical properties of blood determined from the integrating sphere measurements. *J Biomed Opt* 4(1):47-53
16. Chai C, Chen Y, Li P et al (2007) Improved steady-state diffusion approximation with an anisotropic point source and the δ -Eddington phase function. *Appl Opt* 46(21):4843-4851
17. Cong W, Shen H, Cong AX, et al (2008) Integral equations of the photon fluence rate and flux based on a generalized Delta-Eddington phase function. *J Biomed Opt* 13(2):024016
18. Reynolds LO, McCormick NJ (1980) Approximate two-parameter phase function for light scattering. *J Opt Soc Am* 70(10):1206-1212.
19. Friebe M, Roggan A, Muller G et al (2006) Determination of optical properties of human blood in the spectral range 250 to 1100 nm using Monte Carlo simulations with hematocrit-dependent effective scattering phase functions. *J Biomed Opt* 11(3):034021
20. Kienle A, Patterson MS, Ott L et al (1996) Determination of the scattering coefficient and the anisotropy factor from laser Doppler spectra of liquids including blood. *Appl Opt* 35(19):3404-3412
21. Hammer M, Yaroslavsky AN, Schweitzer D (2001) A scattering phase function for blood with physiological haematocrit. *Phys Med Biol* 46:N65-N69
22. Sharma SK, Banerjee S (2003) Role of approximate phase functions in Monte Carlo simulation of light propagation in tissues. *J Opt A: Pure Appl Opt* 5:294-302

23. Chamot S, Migacheva E, Seydoux O et al (2010) Physical interpretation of the phase function related parameter γ studied with a fractal distribution of spherical scatterers. *Opt Exp* 18(23):23664-23675
24. Calabro KW, Bigio IJ (2014) Influence of the phase function in generalized diffuse reflectance models: review of current formalisms and novel observations. *J Biomed Opt* 19(7):075005
25. Kortun C, Hijazi YR, Arifler D (2008) Combined Monte Carlo and finite-difference time-domain modeling for biophotonic analysis: implications on reflectance-based diagnosis of epithelial precancer. *J Biomed Opt* 13(3):034014
26. Clare JF (1998) Comparison of four analytic methods for the calculation of irradiance in integrating spheres. *J Opt Soc Am A* 15(12):3086-3096
27. Hanssen L (2001) Integrating-sphere system and method for absolute measurement of transmittance, reflectance, and absorbance of specular samples. *Appl Opt* 40(19):3196-3204
28. Hisdal B (1968) Correction of directional reflectance measured in the integrating sphere. *Optica Acta* 15(2):139-151
29. Jacquez JA, Kuppenheim HF (1955) Theory of the integrating sphere. *J Opt Soc Am* 45(6):460-470
30. Jernshoj KD, Hassing S (2009) Analysis of reflectance and transmittance measurements on absorbing and scattering small samples using a modified integrating sphere setup. *Appl Spectrosc* 63(8):879-888
31. Pickering JW, Moes CJM, Sterenborg HJCM, et al (1992) Two integrating spheres with an intervening scattering sample. *J Opt Soc Am A* 9(4):621-631
32. Pickering JW, Prahl SA, van Wieringen N et al (1993) Double-integrating-sphere system for measuring the optical properties of tissue. *Appl Opt* 32(4):399-410
33. Yaroslavsky IV, Yaroslavsky AN, Goldbach T et al (1996) Inverse hybrid technique for determining the optical properties of turbid media from integrating-sphere measurements. *Appl Opt* 35(34):6797-6809

34. Sassaroli A, Martelli F (2012) Equivalence of four Monte Carlo methods for photon migration in turbid media. *J Opt Soc Am A* 29(10):2110-2117
35. Jacques SL (2011) Monte Carlo Modeling of Light Transport in Tissue (Steady State and Time of Flight). In: Welch AJ, van Gemert MJC (eds) *Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue*, 2nd edn, Springer Science+Business Media B.V. p. 109–144.
36. Honda N, Ishii K, Terada T et al (2011) Determination of the tumor tissue optical properties during and after photodynamic therapy using inverse Monte Carlo method and double integrating sphere between 350 and 1000 nm. *J Biomed Opt* 16(5):058003
37. Bashkatov AN, Genina EA, Kochubey VI et al (2014) Optical properties of human colon tissues in the 350-2500 nm spectral range. *Quantum Electr* 44(8):779-784
38. Bashkatov AN, Genina EA, Kozintseva MD et al (2016) Optical properties of peritoneal biological tissues in the spectral range of 350-2500 nm. *Opt and Spectrosc* 120(1):1-8
39. Salomatina E, Jiang B, Novak J et al (2006) Optical properties of normal and cancerous human skin in the visible and near-infrared spectral range. *J Biomed Opt* 11(6):064026
40. Bashkatov AN, Genina EA, Tuchin VV (2011) Optical properties of skin, subcutaneous, and muscle tissues: a review. *J Innov Opt Health Sci* 4(1):9-38
41. Genina EA, Bashkatov AN, Tuchina DK et al (2019) Optical properties of brain tissues at the different stages of glioma development in rats: pilot study. *Biomed Opt Exp* 10(10):5182-5197
42. Prahl SA, van Gemert MJC, Welch AJ (1993) Determining the optical properties of turbid media by using the adding-doubling method. *Appl Opt* 32(4):559-568
43. Gebhart SC, Lin W-C, Mahadevan-Jansen A (2006) *In vitro* determination of normal and neoplastic human brain tissue optical properties using inverse adding-doubling. *Phys Med Biol* 51:2011-2027

44. Sardar DK, Yust BG, Barrera FJ et al (2009) Optical absorption and scattering of bovine cornea, lens and retina in the visible region. *Lasers Med Sci* 24(6):839-847
45. Zhang Y, Chen Y, Yu Y et al (2013) Visible and near-infrared spectroscopy for distinguishing malignant tumor tissue from benign tumor and normal breast tissues *in vitro*. *J Biomed Opt* 18(7):077003
46. Belikov AV, Zagorul'ko AM, Smirnov SN et al (2019) Optical properties of human eye cataractous lens *in vitro* in the visible and near-IR ranges of the spectrum. *Opt and Spectrosc* 126(5):574-579
47. Carneiro I, Carvalho S, Henrique R et al (2019) Measuring optical properties of human liver between 400 and 1000 nm. *Quantum Electr* 49(1):13-19
48. Genin VD, Genina EA, Bucharskaya AB et al (2018) Investigation of the change of tumor optical properties after laser-induced plasmon-resonant photothermal treatment of transplanted tumors in rats. *Proc SPIE* 10716:107160Z
49. Soleimanzad H, Gurden H, Pain F (2017) Optical properties of mice skull bone in the 455– to 705-nm range. *J Biomed Opt* 22(1):010503
50. Yust BG, Minum LC, Sardar DK (2012) Optical absorption and scattering of bovine cornea, lens, and retina in the near-infrared region. *Lasers Med Sci* 27(2): 413-422
51. Zamora-Rojas E, Aernouts B, Garrido-Varo A et al (2013) Optical properties of pig skin epidermis and dermis estimated with double integrating spheres measurements. *Innov Food Sci and Emerging Technol* 20:343-349
52. Prahl SA (1995) The diffusion approximation in three dimensions. In Welch AJ, van Gemert MJC (eds) *Optical-thermal response of laser-irradiated tissue*. N.Y., Plenum Press. p 207-231
53. Cilesiz IF, Welch AJ (1993) Light dosimetry: effects of dehydration and thermal damage on the optical properties of the human aorta. *Appl Opt* 32(4):477-487

54. Maitland DJ, Walsh JT Jr, Prystowsky JB (1993) Optical properties of human gallbladder tissue and bile. *Appl Opt* 32(4):586-591
55. Marchesini R, Clemente C, Pignoli E et al (1992) Optical properties of *in vitro* epidermis and their possible relationship with optical properties of *in vivo* skin. *J Photochem Photobiol B* 16(2):127-140
56. Marchesini R, Pignoli E, Tomatis S et al (1994) *Ex vivo* optical properties of human colon tissue. *Lasers Surg Med* 15:351-357
57. van de Hulst HC (1980) Multiple Light Scattering. Tables, Formulas and Applications. Academic Press
58. Prahl SA (1988) Light Transport in Tissue. Ph.D. Thesis. University of Texas. Austin.
59. Bashkatov AN, Genina EA, Kochubey VI et al (2007) Optical properties of human stomach mucosa in the spectral range from 400 to 2000 nm: Prognosis for gastroenterology. *Med Laser Appl* 22:95-104
60. Dam JS, Dalgaard T, Fabricius PE et al (2000) Multiple polynomial regression method for determination of biomedical optical properties from integrating sphere measurements. *Appl Opt* 39:1202-1209
61. Graaff R, Koelink MH, de Mul FFM et al (1993) Condensed Monte Carlo simulations for the description of light transport. *Appl Opt* 32:426-434
62. Wang L, Jacques SL, Zheng L (1995) MCML – Monte Carlo modeling of light transport in multi-layered tissues. *Comp Methods Progr Biomed* 47:131-146
63. Jacques SL, Wang L (1995) Monte Carlo modeling of light transport in tissue. In: Welch AJ, van Gemert MJC (eds) Optical-thermal response of laser-irradiated tissue. N.Y., Plenum Press, p. 73–100.
64. Ugryumova N, Matcher SL, Attenburrow DP (2004) Measurement of bone mineral density via light scattering. *Phys Med Biol* 49:469-483
65. Hammer M, Roggan A, Schweitzer D et al (1995) Optical properties of ocular fundus tissues – an *in vitro* study using the double-integrating-sphere technique and inverse Monte Carlo simulation. *Phys Med Biol* 40:963-978

66. Friebel M, Helfmann J, Netz U et al (2009) Influence of oxygen saturation on the optical scattering properties of human red blood cells in the spectral range 250 to 2000 nm. *J Biomed Opt* 14:034001
67. van Gemert MJC, Jacques SL, Sterenborg HJCM et al (1989) Skin optics. *IEEE Trans Biomed Eng* 36:1146-1154
68. Einstein G, Aruna PR, Ganesan S (2019) Monte Carlo based model for diffuse reflectance from turbid media for the diagnosis of epithelial dysplasia. *Optik* 181:828-835
69. Hennessy R, Lim SL, Markey MM et al (2013) Monte Carlo lookup table-based inverse model for extracting optical properties from tissue-simulating phantoms using diffuse reflectance spectroscopy. *J Biomed Opt* 18(3):0370033
70. Hourdakakis CJ, Perris A (1995) A Monte Carlo estimation of tissue optical properties for use in laser dosimetry. *Phys Med Biol* 40:351-364
71. Wang Q, Le D, Ramella-Roman J et al (2012) Broadband ultra-violet-visible optical property measurement in layered turbid media. *Biomed Opt Exp* 3(6):1226-1240
72. Palmer GM, Ramanujam N (2006) Monte Carlo-based inverse model for calculating tissue optical properties. Part I: Theory and validation on synthetic phantoms. *Appl Opt* 45(5):1062-1071
73. Palmer GM, Ramanujam N (2006) Monte Carlo-based inverse model for calculating tissue optical properties. Part II: Application to breast cancer diagnosis. *Appl Opt* 45(5):1072-1078
74. Amouroux M, Diaz-Ayil G, Blondel WCPM et al (2009) Classification of ultraviolet irradiated mouse skin histological stages by bimodal spectroscopy: multiple excitation autofluorescence and diffuse reflectance. *J Biomed Opt* 14(1):014011
75. Lu R, van Beers R, Sayes W et al (2020) Measurement of optical properties of fruits and vegetables: a review. *Postharvest Biol. and Technol.* 159:111003

76. Baltussen EJM, Snaebjornsson P, Konig SGB et al (2017) Diffuse reflectance spectroscopy as a tool for real-time tissue assessment during colorectal cancer surgery. *J Biomed Opt* 22(10):106014
77. Bevilacqua F, Piguët D, Marquet P et al (1999) *In vivo* local determination of tissue optical properties: applications to human brain. *Appl Opt* 38(22):4939-4950
78. Bigio IJ, Bown SG, Briggs G et al (2000) Diagnosis of breast cancer using elastic-scattering spectroscopy: preliminary clinical results. *J Biomed Opt* 5(2):221-228
79. Borisova E, Trojanova P, Avramov L (2005) Reflectance measurements of skin lesions – noninvasive method for diagnostic evaluation of pigmented neoplasia. *Proc SPIE-OSA* 5862:58620A
80. Borisova E, Genova-Hristova Ts, Troyanova P et al (2018) Optical UV-VIS-NIR spectroscopy of benign, dysplastic and malignant cutaneous lesions *ex vivo*. *Proc SPIE* 10685:106853T
81. Cugmas B, Plavec T, Bregar M et al (2015) Detection of canine skin and subcutaneous tumors by visible and near-infrared diffuse reflectance spectroscopy. *J Biomed Opt* 20(3):037003
82. Dhar S, Lo JY, Palmer GM et al (2012) A diffuse reflectance spectral imaging system for tumor margin assessment using custom annular photodiode arrays. *Biomed Opt Exp* 3(12):3211-3222
83. Hamblin MR, Avci P, Gupta GK (eds) (2016) *Imaging in Dermatology*. Elsevier Inc.
84. Boas DA, Pitris C, Ramanujan N (eds) (2011) *Handbook of Biomedical Optics*. CRC Press. Taylor & Francis Group
85. Tuchin VV (ed) (2016) *Handbook of Optical Biomedical Diagnostics*, 2nd edn, Bellingham, Washington, SPIE Press
86. Wang LV, Wu H (2007) *Biomedical Optics: Principles and Imaging*. John Wiley & Sons. Inc.
87. Zakharov VP, Timchenko PE, Timchenko EV et al (2015) Backscattering spectroscopy for assessing skin tumor. *J Biomed Photon & Eng* 1(2):164-168

88. Zonios G, Dimou A (2006) Modeling diffuse reflectance from semi-infinite turbid media: application to the study of skin optical properties. *Opt Exp* 14(19):8661-8674

89. Zonios G, Dimou A, Bassukas I et al (2008) Melanin absorption spectroscopy: new method for noninvasive skin investigation and melanoma detection. *J Biomed Opt* 13(1):014017

90. Zonios G, Dimou A, Carrara M et al (2010) *In vivo* optical properties of melanocytic skin lesions: common nevi, dysplastic and malignant melanoma. *Photochemistry and Photobiology* 86:236-240

91. Zonios G (2014) Investigation of reflectance sampling depth in biological tissues for various common illumination/collection configurations. *J Biomed Opt* 19(9):097001

92. Shchygolev SYu (1999) Inverse problems of spectroturbidimetry of biological disperse systems: an overview. *J Biomed Opt* 4(4):490-503

93. Press WH, Teukolsky SA, Vetterling WT et al (1992) Numerical recipes in C: the art of scientific computing. Cambridge: Cambridge University Press

94. Movasaghi Z, Rehman S, Rehman IU (2007) Raman spectroscopy of biological tissues. *Appl Spectrosc Rev* 42(5):493-541

95. Mahadevan-Jansen A, Richards-Kortum RR (1996) Raman spectroscopy for the detection of cancers and precancers. *J Biomed Opt* 1(1):31-70. <https://doi.org/10.1117/12.227815>

96. Pacia MZ, Mateuszuk L, Buczek E et al (2016) Rapid biochemical profiling of endothelial dysfunction in diabetes, hypertension and cancer metastasis by hierarchical cluster analysis of Raman spectra. *J Raman Spectrosc* 47:1310-1317. <https://doi.org/10.1002/jrs.4965>

97. Chan JW, Taylor DS, Zwerdling T et al (2005) Micro-Raman spectroscopy detects individual neoplastic and normal hematopoietic cells. *Biophysical J* 90(2):648-656

98. Shafer-Peltier KE, Haka AS, Fitzmaurice M et al (2002) Raman microspectroscopic model of human breast tissue: Implications for breast cancer diagnosis *in vivo*. *J Raman Spectrosc* 33(7):552-563

99. Cicerone MT, Camp CH (2017) Histological coherent Raman imaging: a prognostic review. *Analyst* 143(1):33-59. <https://doi.org/10.1039/c7an01266g>
100. Pence IJ, Mahadevan-Jansen A (2016) Clinical instrumentation and applications of Raman spectroscopy. *Chem Soc Rev* 45(7):1958–1979. <https://doi.org/10.1039/c5cs00581g>
101. Cordero E, Latka I, Matthäus C et al (2018) *In-vivo* Raman spectroscopy: from basics to applications. *J Biomed Opt* 23(7): 071210 <https://doi.org/10.1117/1.JBO.23.7.071210>
102. Krafft C, Schie IW, Meyer T et al (2016) Developments in spontaneous and coherent Raman scattering microscopic imaging for biomedical applications. *Chem Soc Rev* 45(7):1819–1849. <https://doi.org/10.1039/C5CS00564G>
103. Kendall C, Day J, Hutchings J et al (2010) Evaluation of Raman probe for oesophageal cancer diagnostics. *Analyst* 135(12):3038–3041. <https://doi.org/10.1039/c0an00536c>
104. Knipfer C, Motz J, Adler W et al (2014) Raman difference spectroscopy: a non-invasive method for identification of oral squamous cell carcinoma. *Biomed Opt Exp* 5(9):3252-3265. <https://doi.org/10.1364/BOE.5.003252>
105. Mosier-Boss PA, Lieberman SH, Newbery R (1995) Fluorescence rejection in Raman spectroscopy by shifted-spectra, edge detection, and fft filtering techniques. *Appl Spectrosc* 49:630-638
106. Cai TT, Zhang D, Ben-Amotz D (2001) Enhanced chemical classification of Raman images using multiresolution wavelet transformation. *Appl Spectrosc* 55:1124-1130
107. Lieber CA, Mahadevan-Jansen A (2003) Automated method for subtraction of fluorescence from biological Raman spectra. *Appl Spectrosc* 57:1363-1367
108. Zhao J, Lui H, McLean DI et al (2007) Automated autofluorescence background subtraction algorithm for biomedical Raman spectroscopy. *Appl Spectrosc* 61(11):1225–1232. <https://doi.org/10.1366/000370207782597003>

109. Utzinger U, Heintzelman DL, Mahadevan-Jansen A et al (2001) Near-infrared Raman spectroscopy for *in vivo* detection of cervical precancers. *Appl Spectrosc* 55:955-959
110. Edgell WF, Schmidlin E, Balk MW (1980) A computer-spectrometer interactive system for infrared spectroscopy. *Appl Spectrosc* 34(4):420–434. <https://doi.org/10.1366/0003702804731546>
111. Zakharov VP, Bratchenko IA, Artemyev DN et al (2015) Comparative analysis of combined spectral and optical tomography methods for detection of skin and lung cancers. *J Biomed Opt* 20(2):025003. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.20.2.025003>
112. Song L-M WK, Molckovsky A, Wang KK et al (2005) Diagnostic potential of Raman spectroscopy in Barrett's esophagus. *Proc SPIE* 5692:140-146
113. Devpura S, Thakur JS, Sethi S et al (2012) Diagnosis of head and neck squamous cell carcinoma using Raman spectroscopy: tongue tissues. *J Raman Spectrosc* 43:490-496. <https://doi.org/10.1002/jrs.3070>
114. Talari ACS, Evans CA, Holen I et al (2015) Raman spectroscopic analysis differentiates between breast cancer cell lines. *J Raman Spectrosc* 46:421–427. <https://doi.org/10.1002/jrs.4676>
115. Talari ACS, Movasaghi Z, Rehman S et al (2015) Raman spectroscopy of biological tissues. *Appl Spectrosc Rev* 50(1):46-111. <https://doi.org/10.1080/05704928.2014.923902>
116. Saha A, Barman I, Dingari NC et al (2011) Raman spectroscopy: a real-time tool for identifying microcalcifications during stereotactic breast core needle biopsies. *Biomed Opt Exp* 2:2792-2803
117. Haka AS, Volynskaya Z, Gardecki JA et al (2009) Diagnosing breast cancer using Raman spectroscopy: prospective analysis. *J Biomed Opt* 14(5):054023. <https://doi.org/10.1117/1.3247154>
118. Duraipandian S, Zheng W, Ng J et al (2012) Effect of hormonal variation on *in vivo* high wavenumber Raman spectra improves cervical precancer detection. *Proc SPIE* 8214:82140A. <https://doi.org/10.1117/12.906399>

119. Bergholt MS, Lin K, Wang J et al (2016) Simultaneous fingerprint and high-wavenumber fiber-optic Raman spectroscopy enhances real-time *in vivo* diagnosis of adenomatous polyps during colonoscopy. *J Biophotonics* 9:333-342. <https://doi.org/10.1002/jbio.201400141>
120. Oliveira AF, Santos IDAO, Cartaxo SB et al (2010) Differential diagnosis in primary and metastatic cutaneous melanoma by FT-Raman spectroscopy. *Acta Cir Bras* 25(5):434-439
121. Feng X, Moy AJ, Nguyen HTM et al (2018) Raman biophysical markers in skin cancer diagnosis. *J Biomed Opt* 23(5):057002. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.23.5.057002>
122. Haka AS, Shafer-Peltier KE, Fitzmaurice M et al (2005) Diagnosing breast cancer by using Raman spectroscopy. *Proc Nat Acad Sci* 102(35):12371-12376. <https://doi.org/10.1073/pnas.0501390102>
123. Stone N, Prieto MCH, Crow P et al (2007) The use of Raman spectroscopy to provide an estimation of the gross biochemistry associated with urological pathologies. *Anal Bioanal Chem* 387(5):1657–1668. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0937-9>
124. Stone N, Stavroulaki P, Kendall C et al (2000) Raman spectroscopy for early detection of laryngeal malignancy: preliminary results. *The Laryngoscope* 110:1756-1763. <https://doi.org/10.1097/00005537-200010000-00037>
125. Gniadecka M, Philipsen PA, Wessel S et al (2004) Melanoma diagnosis by Raman spectroscopy and neural networks: structure alterations in proteins and lipids in intact cancer tissue. *J Invest Dermatol* 122(2):443-449. <https://doi.org/10.1046/j.0022-202X.2004.22208.x>
126. Rehman S, Movasaghi Z, Tucker AT et al (2007) Raman spectroscopic analysis of breast cancer tissues: identifying differences between normal, invasive ductal carcinoma and ductal carcinoma *in situ* of the breast tissue. *J Raman Spectrosc* 38:1345-1351. <https://doi.org/10.1002/jrs.1774>

127. Nijssen A, Maquelin K, Santos LF et al (2007) Discriminating basal cell carcinoma from perilesional skin using high wave-number Raman spectroscopy. *J Biomed Opt* 12(3):034004. <https://doi.org/10.1117/1.2750287>
128. Crow P, Barrass B, Kendall C et al (2005) The use of Raman spectroscopy to differentiate between different prostatic adenocarcinoma cell lines. *Br J Cancer* 92(12):2166-2170. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6602638>
129. Huang Z, McWilliams A, Lui H et al (2003) Near-infrared Raman spectroscopy for optical diagnosis of lung cancer. *Int J Cancer* 107:1047-1052. <https://doi.org/10.1002/ijc.11500>
130. Kaminaka S, Ito T, Yamazaki H et al (2002) Near-infrared multichannel Raman spectroscopy toward real-time *in vivo* cancer diagnosis. *J Raman Spectrosc* 33:498-502. <https://doi.org/10.1002/jrs.903>
131. Koljenović S, Choo-Smith LP, Schut TCB et al (2002) Discriminating vital tumor from necrotic tissue in human glioblastoma tissue samples by Raman spectroscopy. *Lab Invest* 82:1265–1277
132. Pence IJ, Patil CA, Lieber CA et al (2015) Discrimination of liver malignancies with 1064 nm dispersive Raman spectroscopy. *Bio-med Opt Exp* 6(8):2724-2737. <https://doi.org/10.1364/BOE.6.002724>
133. Krishnapuram B, Carin L, Figueiredo MAT et al (2005) Sparse multinomial logistic regression: Fast algorithms and generalization bounds. *IEEE Trans Pattern Anal Mach Intell* 27(6):957–968
134. Farrés M, Platikanov S, Tsakovski S et al (2015) Comparison of the variable importance in projection (VIP) and of the selectivity ratio (SR) methods for variable selection and interpretation. *J Chemometrics* 29:528–536. <https://doi.org/10.1002/cem.2736>
135. Brereton RG, Lloyd GR (2010) Support vector machines for classification and regression. *Analyst* 135:230–267
136. González-Solís J (2019) Discrimination of different cancer types clustering Raman spectra by a super paramagnetic stochastic network approach. *PLoS ONE* 14(3): e0213621. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0213621>

137. Hess KR, Abbruzzese MC, Lenzi R et al (1999) Classification and regression tree analysis of 1000 consecutive patients with unknown primary carcinoma. *Clin Cancer Res* 5:3403–3410
138. Garzotto M, Beer TM, Hudson RG et al (2005) Improved detection of prostate cancer using classification and regression tree analysis. *J Clin Oncol* 23(19):4322–4329
139. Gromski PS, Muhamadali H, Ellis DI et al (2015) A tutorial review: Metabolomics and partial least squares-discriminant analysis – a marriage of convenience or a shotgun wedding. *Analytica Chimica Acta* 879:10–23. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.02.012>
140. Khristoforova YA, Bratchenko IA, Myakinin OO et al (2019) Portable spectroscopic system for *in vivo* skin neoplasms diagnostics by Raman and autofluorescence analysis. *J Biophotonics* 12(4):e201800400. <https://doi.org/10.1002/jbio.201800400>
141. Lyng FM, Traynor D, Nguyen TNQ et al (2019) Discrimination of breast cancer from benign tumours using Raman spectroscopy. *PLoS ONE* 14(2):e0212376. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212376>
142. Chen K, Qin Y, Zheng F et al (2006) Diagnosis of colorectal cancer using Raman spectroscopy of laser-trapped single living epithelial cells. *Opt Lett* 31:2015–2017
143. Burdall SE, Hanby AM, Lansdown MR et al (2003) Breast cancer cell lines: friend or foe?. *Breast Cancer Res* 5(2):89–95
144. Koljenović S, Schut TB, Vincent A et al (2005) Detection of meningioma in dura mater by Raman spectroscopy. *Anal Chemistry* 77(24):7958–7965. <https://doi.org/10.1021/ac0512599>
145. Gniadecka M, Nielsen OF, Christensen DH et al (1998) Structure of water, proteins, and lipids in intact human skin, hair, and nail. *J Invest Dermatol* 110(4):393–398. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1747.1998.00146.x>
146. Kline NJ, Treado PJ (1997) Raman chemical imaging of breast tissue. *J Raman Spectrosc* 28:119–124. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4555\(199702\)28:2<119::AID-JRS73>3.0.CO;2-3](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4555(199702)28:2<119::AID-JRS73>3.0.CO;2-3)

147. Sato H, Yamamoto YS, Maruyama A et al (2009) Raman study of brain functions in live mice and rats: A pilot study. *Vib Spectrosc* 50(1):125–130. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2008.09.012>
148. Short MA, Lam S, McWilliams A et al (2008) Development and preliminary results of an endoscopic Raman probe for potential *in vivo* diagnosis of lung cancers. *Opt Lett* 33:711–713. <https://doi.org/10.1364/OL.33.000711>
149. Cheng W, Liu M, Liu H et al (2005) Micro-Raman spectroscopy used to identify and grade human skin pilomatrixoma. *Microsc Res Tech* 68:75–79. <https://doi.org/10.1002/jemt.20229>
150. Oshima Y, Shinzawa H, Takenaka T et al (2010) Discrimination analysis of human lung cancer cells associated with histological type and malignancy using Raman spectroscopy. *J Biomed Opt* 15(1):017009. <https://doi.org/10.1117/1.3316296>
151. Guo J, Du B, Qian M et al (2009) Raman spectroscopic identification of normal and malignant hepatocytes. *Chin Opt Lett* 7:60–63
152. Krishna CM, Sockalingum GD, Kegelaer G et al (2005) Micro-Raman spectroscopy of mixed cancer cell populations. *Vib Spectrosc* 38:95–100
153. Gala de Pablo J, Armistead FJ, Peyman SA et al (2018) Biochemical fingerprint of colorectal cancer cell lines using label-free live single-cell Raman spectroscopy. *J Raman Spectrosc* 49:1323–1332. <https://doi.org/10.1002/jrs.5389>
154. Molckovsky A, Song LM, Shim MG et al (2003) Diagnostic potential of near-infrared Raman spectroscopy in the colon: Differentiating adenomatous from hyperplastic polyps. *Gastrointest Endosc* 57(3):396–402. <https://doi.org/10.1067/mge.2003.105>
155. Short MA, Lam S, McWilliams AM et al (2011) Using laser Raman spectroscopy to reduce false positives of autofluorescence bronchoscopies: a pilot study. *J Thorac Oncol* 6(7):1206–1214. <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e3182178ef7>

156. McGregor HC, Short MA, McWilliams A et al (2016) Real-time endoscopic Raman spectroscopy for *in vivo* early lung cancer detection. J Biophotonics 10: 98-110. <https://doi.org/10.1002/jbio.201500204>
157. Abramczyk H, Brozek-Pluska B, Surmacki J et al (2011) The label-free Raman imaging of human breast cancer. J Mol Liq 164(1-2):123-131
158. Abramczyk H, Brozek-Pluska B, Surmacki J et al (2012) Raman “optical biopsy” of human breast cancer. Progr Biophys Mol Biol. 108(1-2):74-81
159. Barman I, Dingari NC, Saha A et al (2013) Application of Raman spectroscopy to identify microcalcifications and underlying breast lesions at stereotactic core needle biopsy. Cancer Res 73:3206-3215. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-2313>
160. Haka AS, Shafer-Peltier KE, Fitzmaurice M et al (2002) Identifying microcalcifications in benign and malignant breast lesions by probing differences in their chemical composition using Raman spectroscopy. Cancer Res 62:5375-5380
161. Brożek-Pluska B, Placek I, Kurczewski K et al (2008) Breast cancer diagnostics by Raman spectroscopy. J Mol Liq 141(3):145-148. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2008.02.015>
162. Li Q, Gao Q, Zhang G (2014) Classification for breast cancer diagnosis with Raman spectroscopy. Biomed Opt Exp 5(7):2435-2445. <https://doi.org/10.1364/BOE.5.002435>
163. Li S, Chen G, Zhang Y et al (2014) Identification and characterization of colorectal cancer using Raman spectroscopy and feature selection techniques. Opt Exp 22:25895-25908. <https://doi.org/10.1364/OE.22.025895>
164. Li Q, Hao C, Kang X et al (2017) Colorectal cancer and colitis diagnosis using Fourier transform infrared spectroscopy and an improved K-nearest-neighbour classifier. Sensors (Basel, Switzerland). 17(12):2739. <https://doi.org/10.3390/s17122739>

165. Liu W, Sun Z, Chen J et al (2016) Raman spectroscopy in colorectal cancer diagnostics: comparison of PCA-LDA and PLS-DA models. *J Spectrosc* 2016:1603609. <https://doi.org/10.1155/2016/1603609>
166. Petersen D, Naveed P, Ragheb A et al (2017) Raman fiber-optical method for colon cancer detection: Cross-validation and outlier identification approach. *Spectrochimica Acta Part A: Mol and Biomol Spectroscopy* 181:270-275. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.03.054>
167. Bergholt MS, Zheng W, Lin K et al (2011) Characterizing variability in *in vivo* Raman spectra of different anatomical locations in the upper gastrointestinal tract toward cancer detection. *J Biomed Opt* 16(3):037003. <https://doi.org/10.1117/1.3556723>
168. Duraipandian S, Bergholt MS, Zheng W et al (2012) Real-time Raman spectroscopy for *in vivo*, online gastric cancer diagnosis during clinical endoscopic examination. *J Biomed Opt* 17(8):081418. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.17.8.081418>
169. Huang Z, Teh SK, Zheng W et al (2010) *In vivo* detection of epithelial neoplasia in the stomach using image-guided Raman endoscopy. *Biosensors and Bioelectronics* 26(2):383-389. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2010.07.125>
170. Lin K, Wang J, Zheng W et al (2016) Rapid fiber-optic Raman spectroscopy for real-time *in vivo* detection of gastric intestinal metaplasia during clinical gastroscopy. *Cancer Prev Res* 9(6):476-483. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-15-0213>
171. Wang J, Lin K, Zheng W et al (2016) Fiber-optic Raman spectroscopy for *in vivo* diagnosis of gastric dysplasia. *Faraday Discuss* 187:377–392. <https://doi.org/10.1039/C5FD00151J>
172. Ishigaki M, Maeda Y, Taketani A et al (2016) Diagnosis of early-stage esophageal cancer by Raman spectroscopy and chemometric techniques. *Analyst* 141:1027-1033. <https://doi.org/10.1039/C5AN01323B>
173. Lijian Y, Yunjiang R, Jianhua D et al (2019) A feasibility study of using fiber-optic Raman spectrum system for fast diagnosis of gastric

cancer. Opto-Electronic Eng 46(4):180645. <https://doi.org/10.12086/oee.2019.180645>

174. Wang J, Lin K, Zheng W et al (2015) Comparative study of the endoscope-based bevelled and volume fiber-optic Raman probes for optical diagnosis of gastric dysplasia *in vivo* at endoscopy. Anal Bioanal Chem 407:8303–8310. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8727-x>

175. Wang J, Lin K, Zheng W et al (2015) Simultaneous fingerprint and high-wavenumber fiberoptic Raman spectroscopy improves *in vivo* diagnosis of esophageal squamous cell carcinoma at endoscopy. Sci Rep 5(1):12957. <https://doi.org/10.1038/srep12957>

176. Bergholt MS, Zheng W, Lin K et al (2011) *In vivo* diagnosis of gastric cancer using Raman endoscopy and ant colony optimization techniques. Int J Cancer 128:2673–2680. <https://doi.org/10.1002/ijc.25618>

177. Bergholt MS, Zheng W, Ho KY et al (2013) Fiber-optic Raman spectroscopy probes gastric carcinogenesis *in vivo* at endoscopy. J Biophotonics 6:49–59. <https://doi.org/10.1002/jbio.201200138>

178. Bergholt MS, Zheng W, Lin K et al (2011) Combining near-infrared-excited autofluorescence and Raman spectroscopy improves *in vivo* diagnosis of gastric cancer. Biosensors and Bioelectronics 26(10):4104–4110. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2011.04.005>

179. Bergholt MS, Zheng W, Lin K et al (2010) Raman endoscopy for *in vivo* differentiation between benign and malignant ulcers in the stomach. Analyst 135:3162–3168

180. Bergholt MS, Zheng W, Ho KY et al (2014) Fiber-optic confocal Raman spectroscopy for real-time *in vivo* diagnosis of dysplasia in Barrett's esophagus. Gastroenterology 146:27–32

181. Teh SK, Zheng W, Ho KY et al (2008) Diagnosis of gastric cancer using near-infrared Raman spectroscopy and classification and regression tree techniques. J Biomed Opt 13(3):034013. <https://doi.org/10.1117/1.2939406>

182. Huang Z, Bergholt MS, Zheng W et al (2010) *In vivo* early diagnosis of gastric dysplasia using narrow-band image-guided Raman

endoscopy. J Biomed Opt 15(3):037017. <https://doi.org/10.1117/1.3420115>

183. Teh SK, Zheng W, Ho KY et al (2010) Near-infrared Raman spectroscopy for early diagnosis and typing of adenocarcinoma in the stomach. Br J Surg 97:550-557. <https://doi.org/10.1002/bjs.6913>

184. Teh SK, Zheng W, Ho KY et al (2008) Diagnostic potential of near-infrared Raman spectroscopy in the stomach: differentiating dysplasia from normal tissue. Br J Cancer 98(2):457-465. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604176>

185. Almond LM, Hutchings J, Lloyd G et al (2014) Endoscopic Raman spectroscopy enables objective diagnosis of dysplasia in Barrett's esophagus. Gastrointest Endosc 79(1):37-45. <https://doi.org/10.1016/j.gie.2013.05.028>

186. Tolstik T, Marquardt C, Matthäus C et al (2014) Discrimination and classification of liver cancer cells and proliferation states by Raman spectroscopic imaging. Analyst 139:6036-6043. <https://doi.org/10.1039/C4AN00211C>

187. Crow P, Molckovsky A, Stone N et al (2005) Assessment of fiberoptic near-infrared Raman spectroscopy for diagnosis of bladder and prostate cancer. Urology 65(6):1126-1130. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2004.12.058>

188. Bovenkamp D, Sentosa R, Rank E et al (2018) Combination of high-resolution optical coherence tomography and Raman spectroscopy for improved staging and grading in bladder cancer. Appl Sci 8:2371. <https://doi.org/10.3390/app8122371>

189. Grimbergen MCM, van Swol CFP, Draga ROP et al (2009) Bladder cancer diagnosis during cystoscopy using Raman spectroscopy. Proc SPIE 7161:716114. <https://doi.org/10.1117/12.807811>

190. Draga ROP, Grimbergen MCM, Vijverberg PLM et al (2010) *In vivo* bladder cancer diagnosis by high-volume Raman spectroscopy. Analytical Chemistry 82(14):5993-5999. <https://doi.org/10.1021/ac100448p>

191. Chen H, Li X, Broderick N et al (2018) Identification and characterization of bladder cancer by low-resolution fiber-optic Raman spectroscopy. *J Biophotonics* 11:e201800016. <https://doi.org/10.1002/jbio.201800016>
192. Aubertin K, Desroches J, Jermyn M et al (2018) Combining high wavenumber and fingerprint Raman spectroscopy for the detection of prostate cancer during radical prostatectomy. *Biomed Opt Exp* 9(9):4294–4305. <https://doi.org/10.1364/BOE.9.004294>
193. Aubertin K, Trinh VQ, Jermyn M et al (2018) Mesoscopic characterization of prostate cancer using Raman spectroscopy: potential for diagnostics and therapeutics. *BJU Int* 122(2):326-336. <https://doi.org/10.1111/bju.14199>
194. Wang L, He D, Zeng J et al (2013) Raman spectroscopy, a potential tool in diagnosis and prognosis of castration-resistant prostate cancer. *J Biomed Opt* 18(8):087001. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.18.8.087001>
195. Magalhães FL, Machado AMC, Paulino E et al (2018) Raman spectroscopy with a 1064-nm wavelength laser as a potential molecular tool for prostate cancer diagnosis: a pilot study. *J Biomed Opt* 23(12):121613. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.23.12.121613>
196. Devpura S, Thakur JS, Sarkar FH et al (2010). Detection of benign epithelia, prostatic intraepithelial neoplasia, and cancer regions in radical prostatectomy tissues using Raman spectroscopy. *Vib Spectrosc* 53(2):227–232. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2010.03.009>.
197. Shaikh RS, Dora TK, Chopra S et al (2014) *In vivo* Raman spectroscopy of human uterine cervix: exploring the utility of vagina as an internal control. *J Biomed Opt* 19(8):087001. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.19.8.087001>
198. Duraipandian S, Zheng W, Ng J et al (2011) *In vivo* diagnosis of cervical precancer using Raman spectroscopy and genetic algorithm techniques. *Analyst (Lond)* 136(20):4328–4336. <https://doi.org/10.1039/c1an15296c>

199. Duraipandian S, Zheng W, Ng J et al (2013) Near-infrared-excited confocal Raman spectroscopy advances *in vivo* diagnosis of cervical precancer. J Biomed Opt 18(6):067007. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.18.6.067007>
200. Duraipandian S, Zheng W, Ng J et al (2012) Simultaneous fingerprint and high-wavenumber confocal Raman spectroscopy enhances early detection of cervical precancer *in vivo*. Analytical Chemistry 84(14):5913-5919. <https://doi.org/10.1021/ac300394f>
201. Mo J, Zheng W, Low JH et al (2009) High wavenumber Raman spectroscopy for *in vivo* detection of cervical dysplasia. Analytical Chemistry 81(21):8908-8915. <https://doi.org/10.1021/ac9015159>
202. Vargis E, Kanter EM, Majumder SK et al (2011) Effect of normal variations on disease classification of Raman spectra from cervical tissue. Analyst 136:2981–2987. <https://doi.org/10.1039/C0AN01020K>
203. Kanter EM, Vargis E, Majumder S et al (2009) Application of Raman spectroscopy for cervical dysplasia diagnosis. J Biophotonics 2:81–90. <https://doi.org/10.1002/jbio.200910001>
204. Robichaux-Viehoever A, Kanter EM, Shappell H et al (2007) Characterization of Raman spectra measured *in vivo* for the detection of cervical dysplasia. Appl Spectrosc 61:986–993
205. Duraipandian S, Traynor D, Kearney P et al (2018) Raman spectroscopic detection of high-grade cervical cytology: using morphologically normal appearing cells. Sci Rep 8:15048. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-33417-8>
206. Moradi H, Ahmad A, Shepherdson D et al (2017) Raman micro-spectroscopy applied to treatment resistant and sensitive human ovarian cancer cells. J Biophotonics 10:1327-1334. <https://doi.org/10.1002/jbio.201600211>
207. Maheedhar K, Brat RA, Malini R et al (2008) Diagnosis of ovarian cancer by Raman spectroscopy: a pilot study. Photomed and Laser Surg 26(2):83–90. <https://doi.org/10.1089/pho.2007.2128>

208. Lin K, Zheng W, Lim CM et al (2017) Real-time *in vivo* diagnosis of nasopharyngeal carcinoma using rapid fiber-optic Raman spectroscopy. *Theranostics* 7(14):3517–3526. <https://doi.org/10.7150/thno.16359>
209. Chen PH, Shimada R, Yabumoto S et al (2016) Automatic and objective oral cancer diagnosis by Raman spectroscopic detection of keratin with multivariate curve resolution analysis. *Sci Rep* 6:20097. <https://doi.org/10.1038/srep20097>
210. Singh SP, Deshmukh A, Chaturvedi P et al (2012) *In vivo* Raman spectroscopy for oral cancers diagnosis. *Proc SPIE* 8219:82190K. <https://doi.org/10.1117/12.905453>
211. Krishna H, Majumder SK, Chaturvedi P et al (2014) *In vivo* Raman spectroscopy for detection of oral neoplasia: A pilot clinical study. *J Biophotonics* 7:690-702. <https://doi.org/10.1002/jbio.201300030>
212. Malik A, Sahu A, Singh SP et al (2017) *In vivo* Raman spectroscopy–assisted early identification of potential second primary/recurrences in oral cancers: An exploratory study. *Head & Neck* 39:2216–2223. <https://doi.org/10.1002/hed.24884>
213. Lau DP, Huang Z, Lui H et al (2005) Raman spectroscopy for optical diagnosis in the larynx: Preliminary findings. *Lasers Surg Med* 37:192-200. <https://doi.org/10.1002/lsm.20226>
214. Ming LC, Gangodu NR, Loh T et al (2017) Real time near-infrared Raman spectroscopy for the diagnosis of nasopharyngeal cancer. *Oncotarget* 8(30):49443–49450. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.17703>
215. Harris AT, Garg M, Yang XB et al (2009) Raman spectroscopy and advanced mathematical modelling in the discrimination of human thyroid cell lines. *Head Neck Oncol* 1:38. <https://doi.org/10.1186/1758-3284-1-38>

216. O'Dea D, Bongiovanni M, Sykietis GP et al (2019) Raman spectroscopy for the preoperative diagnosis of thyroid cancer and its subtypes: An *in vitro* proof-of-concept study. *Cytopathology* 30:51– 60. <https://doi.org/10.1111/cyt.12636>
217. Rau JV, Graziani V, Fosca M et al (2016) Raman spectroscopy imaging improves the diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Sci Rep* 6:35117. <https://doi.org/10.1038/srep35117>
218. Desroches J, Jermyn M, Pinto M et al (2018) A new method using Raman spectroscopy for *in vivo* targeted brain cancer tissue biopsy. *Sci Rep* 8:1792. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20233-3>
219. Jermyn M, Mok K, Mercier J et al (2015) Intraoperative brain cancer detection with Raman spectroscopy in humans. *Sci Translat Med* 7(274):274ra19. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaa2384>
220. Desroches J, Jermyn M, Mok K et al (2015) Characterization of a Raman spectroscopy probe system for intraoperative brain tissue classification. *Biomed Opt Exp* 6:2380-2397
221. Jermyn M, Mercier J, Aubertin K et al (2017) Highly accurate detection of cancer *in situ* with intraoperative, label-free, multimodal optical spectroscopy. *Cancer Res* 77(14):3942-3950. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-17-0668>
222. Feng X, Moy AJ, Nguyen H et al (2017) Raman active components of skin cancer. *Biomed Opt Exp* 8(6):2835-2850. <https://doi.org/10.1364/BOE.8.002835>
223. Lim L, Nichols BS, Migden MR et al (2014) Clinical study of noninvasive *in vivo* melanoma and nonmelanoma skin cancers using multimodal spectral diagnosis. *J Biomed Opt* 19(11):117003. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.19.11.117003>
224. Silveira L, Silveira FL, Zângaro RA et al (2012) Discriminating model for diagnosis of basal cell carcinoma and melanoma *in vitro* based on the Raman spectra of selected biochemicals. *J Biomed Opt* 17(7):077003. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.17.7.077003>

225. Zhao J, Lui H, Kalia S et al (2015) Real-time Raman spectroscopy for automatic *in vivo* skin cancer detection: an independent validation. Anal Bioanal Chem 407:8373. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8914-9>

226. Feng X, Fox MC, Reichenberg JS et al (2019) Biophysical basis of skin cancer margin assessment using Raman spectroscopy. Biomed Opt Exp 10:104-118.

227. Lui H, Zhao J, McLean D et al (2012) Real-time Raman spectroscopy for *in vivo* skin cancer diagnosis. Cancer Res 72(10):2491-2500. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-4061>

228. Bratchenko IA, Artemyev DN, Myakinin OO et al (2017) Combined Raman and autofluorescence *ex vivo* diagnostics of skin cancer in near-infrared and visible regions. J Biomed Opt 22(2):027005. <https://doi.org/10.1117/1.jbo.22.2.027005>

229. Schleusener J, Gluszczyńska P, Reble C et al (2015) *In vivo* study for the discrimination of cancerous and normal skin using fibre probe-based Raman spectroscopy. Exp Dermatol 24:767-772. <https://doi.org/10.1111/exd.12768>

230. Zhao J, Lui H, McLean DI et al (2008) Real-time Raman spectroscopy for non-invasive skin cancer detection – preliminary results. Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc 2008:3107–3109. <https://doi.org/10.1109/IEMBS.2008.4649861>

231. Li B, Xie S (2005) Autofluorescence excitation-emission matrices for diagnosis of colonic cancer. World J Gastroenterol, 11:3931–3934. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4504899/>

232. Bobone S, van de Weert M, Stella L (2014) A reassessment of synchronous fluorescence in the separation of trp and tyr contributions in protein emission and in the determination of conformational changes. Journal of Molecular Structure, 1077:68 – 76. <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022286014000210>

233. Zeng Z, Cohen A, Guillem J (1999) Loss of basement membrane type IV collagen is associated with increased expression of metalloproteinases 2 and 9 (MMP-2 and MMP-9) during human colorectal tumorigenesis. *Carcinogenesis*, 20(5):749–755. <https://academic.oup.com/carcin/article/20/5/749/2529731>

234. Alexandrova A (2008) Evolution of cell interactions with extracellular matrix during carcinogenesis. *Biochemistry (Moscow)*, 73(7):733–741. <http://protein.bio.msu.ru/biokhimiya/contents/v73/full/73070915.html>

235. Liu Z, Pouli D, Alonzo C et al (2018) Mapping metabolic changes by noninvasive, multiparametric, high-resolution imaging using endogenous contrast. *Sci. Adv.* 4: eaap9302. <https://advances.sciencemag.org/content/4/3/eaap9302>

236. Kolenc OI, Quinn KP (2019) Evaluating cell metabolism through autofluorescence imaging of NAD (P)H and FAD. *Antioxid Redox Signal* 30(6): 875–889. https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/ars.2017.7451?rfr_dat=cr_pub%3Dpubmed&url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&journalCode=ars

237. Yang S, Park Y, Cho J et al (2017) Regulation of hypoxia responses by flavin adenine dinucleotide-dependent modulation of hif-1 α protein stability. *The EMBO Journal*, 36:1011–1028. <https://www.embopress.org/doi/full/10.15252/embj.201694408>

238. Richards-Kortum R, Rava R, Petras R et al (1991) Spectroscopic diagnosis of colonic dysplasia. *Photochemistry and Photobiology*, 53(6):777–786. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1751-1097.1991.tb09892.x?sid=nlm%3Apubmed>

239. DaCosta R, Kost J, Lothar L (1997) Confocal fluorescence microscopy/macroscopy and microspectrofluorimetry analysis of human colorectal tissues. *J Analyt Morphol: Cell Vision*, 4:24–29.

240. DaCosta P, Wilson B, Marcon H (2003) Photodiagnostic techniques for the endoscopic detection of premalignant gastrointestinal lesions. *Digestive Endoscopy*, 15(3):153–173.

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1443-1661.2003.00239.x>

241. Genova Ts, Borisova E, Zhelyazkova A et al (2016) Colorectal cancer stage evaluation using synchronous fluorescence spectroscopy technique. *Opt Quant Electronics* 48(8):378. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11082-016-0634-7>

242. Tuchin V. V., Popp J., Zakharov V. (ed.). Multimodal optical diagnostics of cancer. – Springer Nature, 2020.

2 ОПТИЧЕСКИЕ И ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ ТКАНЕЙ

2.1 Рак легких

У обоих полов рак легких является наиболее часто диагностируемым видом рака (11,6% от общего числа случаев) и основной причиной смерти от рака (18,4% от общего числа случаев смерти от рака) [1]. Причинами высокого уровня смертности являются тот факт, что у пациентов, как правило, диагностируется заболевание на поздней стадии, и отсутствие эффективного лечения. Частью диагностического процесса является бронхоскопия в белом свете или флуоресцентная бронхоскопия в сочетании с биопсией ткани для окончательной патологии. Проблема с этим методом заключается в том, что он страдает либо от низкой чувствительности, либо от специфичности, и трудно гарантировать репрезентативность и качество биопсий во время процедуры [2].

В раннем исследовании Хуан и др. [3] продемонстрировали потенциал рамановской спектроскопии для точной дифференциации нормальных образцов бронхиальной ткани, плоскоклеточного рака и аденокарциномы. Рамановские спектры злокачественной опухолевой ткани характеризовались более интенсивными полосами, соответствующими нуклеиновым кислотам (PO_2 асимметричное растяжение 1223 см^{-1} и CH_3CH_2 виляние 1335 см^{-1}), триптофану (752 , 1208 , 1552 и 1618 см^{-1}) и фенилаланину (1004 , 1582 и 1602 см^{-1}) и более низкими сигналами для фосфолипидов (CH_2CH_3 изгибные моды 1302 и 1445 см^{-1}) и пролина (855 см^{-1}), по сравнению с нормальной тканью. Пик при 1078 см^{-1} в нормальной ткани из-за моды растяжения C–C или C–O фосфолипидов был смещен до 1088 см^{-1} в опухолевой ткани и имел более низкие нормализованные процент-

ные сигналы, отражая сниженную колебательную стабильность липидных цепей в опухолях. Авторы обнаружили, что отношение интенсивности полосы рамановского рассеяния при 1445 см^{-1} (CH_2 режим ножниц) и 1655 см^{-1} (C=O растяжение коллагена и эластина) имело высокую дискриминационную способность между нормальными и опухолевыми тканями с чувствительностью и специфичностью 94% и 92% соответственно. Захаров и др. [4, 5] использовали три соотношения максимальных интенсивностей рассеяния в полосах $1300\text{--}1340\text{ см}^{-1}$, в полосах $1640\text{--}1680\text{ см}^{-1}$ и в полосах $1440\text{--}1460\text{ см}^{-1}$ для отделения опухоли легкого от здоровой ткани с последующей дифференциацией аденокарциномы и плоскоклеточного рака по соотношениям контраста с окружающей нормальной тканью. Была достигнута чувствительность и специфичность 91 и 79% соответственно. Однако диагностически полезная информация, содержащаяся не только в нескольких пиках, вся спектральная информация может быть важна для точности классификации тканей и обнаружения рака.

Похожие спектральные характеристики были получены Маги и др. [6] с использованием смещенной вычитаемой рамановской спектроскопии для снижения флуоресценции от легочной ткани и главного компонента с анализом по одному для точной классификации тканей. Первое исследование *in vivo* было проведено в 2008 году Шортом и др. [7]. Авторам не удалось получить точные рамановские спектры в диапазоне отпечатков пальцев из-за высокого фона флуоресценции, который объяснялся высоким уровнем гемоглобина вблизи поверхности ткани. Четкие рамановские пики были зарегистрированы только в диапазоне NW , где отношение интенсивности извлеченных рамановских пиков к флуоресценции было в 6 раз больше для самых интенсивных рамановских пиков по сравнению с пиками в диапазоне отпечатков пальцев. Предварительные исследования на 26 пациентах продемонстрировали, что сочетание

рамановской спектроскопии с бронхоскопией в белом свете и аутофлуоресцентной бронхоскопией может сократить количество ненужных биопсий и достичь чувствительности и специфичности выше 90% для обнаружения рака легких и дисплазий высокой степени [8].

Недавно Мак Грегор и др. [9] использовали бронхоскопическую рамановскую спектроскопию *in vivo* у 80 пациентов. Авторы получили рамановские спектры из области высоких волновых чисел (от 2775 до 3040 см^{-1}) со временем получения 1 с. Основные рамановские пики наблюдались для симметричных мод растяжения CH_2 жирных кислот и липидов при 2850 см^{-1} ; симметричных мод растяжения CH_3 при 2885 см^{-1} ; перекрывающихся колебаний CH в белках и асимметричных мод растяжения CH_3 липидов и нуклеиновых кислот при 2940 см^{-1} ; асимметричного растяжения CH_3 в плоскости и вне плоскости в молекуле липида и жирной кислоты при 2965 см^{-1} и 2990 см^{-1} . Было обнаружено, что спектры со злокачественными поражениями представляли отчетливую потерю липидов при 2850 см^{-1} . Интенсивность группы воспаления была относительно выше, чем у всех других категорий между 2850 см^{-1} и 2900 см^{-1} . Для извлечения более надежной корреляции спектров с патологией для спектральной классификации использовались главные компоненты с обобщенным дискриминантным анализом и PLS-DA с перекрестной проверкой с исключением по одному (LOOCV). Выявление дисплазии высокой степени и злокачественных поражений легких привело к зарегистрированной чувствительности 90% при специфичности 65%. В 2018 году та же группа разработала новый миниатюрный рамановский зонд (1,35 мм в диаметре), способный перемещаться по периферической архитектуре легких [10]. Собранные *in vivo* спектры показали липидные, белковые и дезоксигемоглобиниевые сигнатуры в диапазонах отпечатков пальцев (1350–1800 см^{-1}) и HW (2300–2800 см^{-1}), которые могут быть полезны для классификации патологии.

Известно, что повторное воздействие канцерогенов, в частности сигаретного дыма, приводит к дисплазии эпителия легких. Кроме того, это приводит к генетическим мутациям и влияет на синтез белка и может нарушить клеточный цикл и способствовать канцерогенезу. Наиболее распространенными генетическими мутациями, ответственными за развитие рака легких, являются MYC, BCL2 и p53 для мелкоклеточного рака легких (SCLC) и EGFR, KRAS и p16 для немелкоклеточного рака легких (NSCLC) [11–13]. Широкие подразделения мелкоклеточного рака легких (SCLC) и немелкоклеточного рака легких (NSCLC) составляют более 95% всех случаев рака легких.

Мелкоклеточный рак легких. Гистологически SCLC характеризуется мелкими клетками со скудной цитоплазмой и без четких ядершек. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) классифицирует SCLC на три подтипа клеток: овсяноклеточный, промежуточноклеточный и комбинированный клеточный (SCLC с компонентом NSCLC, плоскоклеточный или аденокарцинома). SCLC почти всегда связан с курением. Он имеет более высокое время удвоения и рано метастазирует; поэтому при диагностике он всегда считается системным заболеванием. Центральная нервная система, печень и кости являются наиболее распространенными местами. Некоторые опухолевые маркеры помогают дифференцировать SCLC от NSCLC. Наиболее часто тестируемыми опухолевыми маркерами являются тиреоидный фактор транскрипции-1, CD56, синаптофизин и хромогранин. Характерно, что NSCLC связан с паранеопластическим синдромом, который может быть проявлением заболевания.

Немелкоклеточный рак легких. Различают пять типов NSCLC: плоскоклеточный рак, аденокарцинома, аденоплоскоклеточный рак, крупноклеточный рак и карциноидные опухоли. Плоскоклеточный рак характеризуется наличием межклеточных мостиков и ороговением. Эти NSCLC связаны с курением и встречаются преимущественно у мужчин. Плоскоклеточный рак может проявляться как

опухоль Панкоста и гиперкальциемия. Опухоль Панкоста – это опухоль в верхней борозде легкого. Мозг является наиболее частым местом рецидива после операции в случаях опухоли Панкоста.

Аденокарцинома является наиболее распространенным гистологическим подтипом NSCLC. Это также наиболее распространенный рак у женщин и некурящих. Классические гистохимические маркеры включают Напсин А, Цитокератин-7 и тиреоидный фактор транскрипции-1. Аденокарцинома легких далее подразделяется на ацинарный, папиллярный и смешанный подтипы.

Аденосквамозная карцинома составляет от 0,4% до 4% диагностированных NSCLC. Она определяется как имеющая более 10% смешанных железистых и плоскоклеточных компонентов. Она имеет худший прогноз, чем плоскоклеточная и аденокарцинома. Молекулярное тестирование рекомендуется для этих видов рака.

Крупноклеточная карцинома не имеет дифференциации мелко-клеточных и железистых или плоскоклеточных клеток [14].

Оптические и физиологические свойства ткани опухоли легкого были исследованы в работах [15, 16-18]. Ранее Ку и др. [16] исследовали оптические свойства 10 образцов опухоли легкого человека (без указания типа опухолей) с использованием техники интегрирующей сферы и метода IAD в спектральном диапазоне от 400 до 700 нм. Результат измерений представлен в таблице 4. Фишкин и др. [17] измерили оптические свойства первичной крупноклеточной карциномы легкого человека с использованием многоволнового прибора миграции фотонов в частотной области и обнаружили значительные различия в поглощении между нормальной и опухолевой тканью на всех длинах волн. Изменения рассеяния были менее значительными, но демонстрировали последовательное поведение, зависящее от длины волны. Более низкие параметры рассеяния опухоли (по сравнению с нормальной тканью) могут быть связаны с потерей клеточности и повышенным содержанием воды в Некротические зоны [19].

Таблица 4 – Оптические свойства тканей опухоли легкого, измеренные *in vitro* и *in vivo* [16, 17, 19]

Биоткань	λ , нм	μ_a , см^{-1}	μ_s , см^{-1}	τ	μ'_s , см^{-1}
<i>in vitro</i> (n = 10)	400	20,56	299,2	0,918	24,42
	450	6,27	286,2	0,9266	21,02
	500	2,97	271,4	0,934	17,79
	550	2,18	257,9	0,942	14,89
	600	1,38	245,3	0,947	12,97
	650	1,13	238,5	0,952	11,39
	700	1,02	236,2	0,958	10,01
<i>in vitro</i> карцинома легких Льюиса (n = 2), мышь	350	7,598	-	-	14,58
	400	8,883	-	-	12,63
	450	8,294	-	-	10,81
	500	4,289	-	-	9,55
	550	7,274	-	-	8,32
	600	3,716	-	-	7,40
	650	1,787	-	-	6,57
	700	1,495	-	-	5,88
	750	1,344	-	-	5,34
	800	1,155	-	-	4,88
	850	1,071	-	-	4,49
	900	1,077	-	-	4,21
	950	1,158	-	-	3,91
	1000	1,158	-	-	3,69
<i>in vivo</i> нормальная ткань/первичная крупно- клеточная карцинома легких человека (n = 1)	674	0,0883 $\pm$ 0,0061/ 0,174 $\pm$ 0,022	-	-	10,7 $\pm$ 0,4/ 10,4 $\pm$ 0,9
	811	0,0892 $\pm$ 0,0050/ 0,177 $\pm$ 0,013	-	-	9,99 $\pm$ 0,27/ 9,23 $\pm$ 0,5
	849	0,0915 $\pm$ 0,0030/ 0,190 $\pm$ 0,010	-	-	9,65 $\pm$ 0,15/ 9,20 $\pm$ 0,3
	956	0,127 $\pm$ 0,0305/ 0,186 $\pm$ 0,058	-	-	6,3 $\pm$ 0,95/ 4,7 $\pm$ 2,65

Авторы показали, что общее содержание гемоглобина варьировалось от 29,2 $\pm$ 2,4 до 42,9 $\pm$ 2,9 μM для нормальной ткани и от 85,1 $\pm$ 8,2 до 102 $\pm$ 10 μM для опухолевой ткани. Содержание дезокси-гемоглобина варьировалось от 6,22 $\pm$ 0,64 до 9,68 $\pm$ 1,04 μM для нормальной ткани и от 15,9 $\pm$ 3,2 до 20,2 $\pm$ 5,2 μM для опухолевой ткани.

Содержание оксигемоглобина варьировалось от $23,0 \pm 2,1$ до $33,2 \pm 2,7$ μM для нормальной ткани и от $66,0 \pm 7,4$ до $86,0 \pm 9,6$ μM для опухолевой ткани. В свою очередь, степень оксигенации варьировалась от $77,4 \pm 8,2$ до $82,2 \pm 8,3$ (%) для нормальной ткани и от 77 ± 18 до 84 ± 13 (%) для опухолевой ткани. Содержание воды варьировалось от $3,95 \pm 1,94$ до $5,87 \pm 1,31$ М для нормальной ткани и $20,1 \pm 10,8$ М для опухолевой ткани [17]. Аналогичные результаты были получены Фаузи и соавторами [18]. В исследовании автор измерил *in vivo* 100 спектров отражения нормальной ткани, доброкачественных и злокачественных новообразований (мелкоклеточный рак легкого, комбинированный плоскоклеточный рак и немелкоклеточный рак легкого, немелкоклеточный рак легкого и аденокарцинома) у 22 пациентов. Как следует из их анализа, среднее значение доли объема крови было выше для злокачественных новообразований ($0,065 \pm 0,03$) по сравнению с доброкачественными ($0,032 \pm 0,02$). Среднее значение параметра насыщения кислородом было снижено с $0,90 \pm 0,11$ для доброкачественных новообразований до $0,78 \pm 0,13$ для злокачественных новообразований [18]. Значительное увеличение доли объема крови в злокачественной ткани связано с разрастанием микрососудов и, соответственно, с увеличением содержания крови [20]. Значительное снижение оксигенации крови в злокачественных новообразованиях согласуется с изменениями, связанными с гипоксией во время развития рака [21], что может быть связано с повышением метаболизма тканей и высокой скоростью пролиферации раковых клеток [18].

2.2 Рак молочной железы

Второй по значимости причиной смерти от рака у женщин во всем мире является рак молочной железы с общемировым уровнем заболеваемости более 2 088 849 (11,6% от общего числа случаев) и уровнем смертности 522 000 (6,6% от общего числа случаев

смерти от рака) [1]. Низкодозная рентгеновская маммография является наиболее распространенным методом, используемым для скрининга микрокальцификатов при раке молочной железы. Маммография неэффективна при плотной женской груди и не позволяет различить, является ли поражение доброкачественным или злокачественным. Поэтому за ней всегда следует либо хирургическая эксцизионная биопсия, либо игольчатая биопсия, и только 36,5% обнаруженных микрокальцификатов идентифицируются как злокачественная опухоль [22]. Интрахирургическая оценка краев опухоли часто является довольно сложной и требует объективного и быстрого руководства для исключения риска дополнительных резекций, частота которых колеблется от 7 до 73%, как сообщают различные учреждения [23].

Франк и др. [24] продемонстрировали в 1995 году возможность рамановской биопсии с помощью волоконно-оптического взятия проб через иглу для подкожных инъекций. Было дистанционно показано, что различия между доброкачественным поражением (фиброзно-кистозной) и инфильтрирующей протоковой карциномой были меньше, чем между нормальными и злокачественными образцами. Рехман и др. [25] сообщили о спектральных различиях между ядерными градациями протоковой карциномы *in situ* и инвазивной протоковой карциномы молочной железы. Было подтверждено увеличение содержания белка и относительное уменьшение содержания липидов/ацилглицеридов в раковых тканях. Интенсивность при 1662 см^{-1} (амид I группы белков) варьировалась в зависимости от степени ненасыщенности жирных кислот и зависела в основном от соотношения липидов и белков. Нормальная ткань показала более слабую интенсивность при 1442 см^{-1} , что представляло собой ножницы CH_2 и изгиб CH_3 в липидах и белках, и увеличивалось с увеличением ядерных градаций. Та же тенденция наблюдалась для пиков OH-NH-CN в области $2700\text{--}3500\text{ см}^{-1}$, что указывает на различные

концентрации жирных ацильных цепей, фосфолипидов, холестерина, креатина, белков и нуклеиновых кислот.

Хака и др. [26] показали, что типы микрокальцификаций можно легко различить на основе наличия или отсутствия вибрационных полос, характерных для дигидрата оксалата кальция при 912 см^{-1} и 1477 см^{-1} и гидроксиапатита кальция при 960 см^{-1} , и что их относительное содержание коррелирует со злокачественными новообразованиями при раке молочной железы [27]. Далее Саха и др. [28] представили исследования *ex vivo* для идентификации микрокальцификаций в реальном времени в образцах стереотаксической толстоигольной биопсии молочной железы, собранных из свежевывезанной ткани у 33 пациенток. Авторы использовали обычную подгонку по методу наименьших квадратов для аппроксимации полученных спектров с помощью модели молочной железы, включая коэффициенты подгонки для общего кальция, коллагена и жира. Далее та же группа продемонстрировала полезность спектроскопии Рамана в качестве инструмента руководства для процедур мастэктомии [8]. Модифицированная модель классификации использовала алгоритм SVM для диагностики поражений независимо от статуса микрокальцификации, за которым следовал алгоритм логистической регрессии для обнаружения микрокальцификаций. Точность, полученная для дифференциации между нормой, фиброзно-кистозными изменениями, фиброаденомой и раком молочной железы, составила 82,2% [8]. Хака и др. [29] сообщили о возможности использования спектроскопии Рамана для диагностики *in vivo* в операционной во время операции. С помощью своей модели классификации они достигли общей точности 93% (28 из 30) [30]. Самая высокая чувствительность и специфичность (94,9% и 93,8% соответственно) были достигнуты Ли и др. [31] с предложенным алгоритмом адаптивного веса k -локальной гиперплоскости (AWKH), который расширил алгоритм K -локальной гиперплоскости расстояния ближайшего соседа классификации рака молочной железы.

Брожек-Плуска и др. [32] показали четкие различия в составе каротиноидов и жирных кислот, а также продуктах их метаболизма между раковой тканью и окружающей нераковой тканью. Наиболее выраженные различия наблюдались в области полос при 1158 и 1518 см^{-1} , отнесенных к модам растяжения C–C и C=C каротиноидов, симметричным и асимметричным колебаниям C–H липидов при 2850 и 2940 см^{-1} и области моды растяжения ОН воды около 3300 см^{-1} . Интенсивность рамановских пиков липидов была значительно меньше в раковой ткани, чем в нераковой ткани, как в области отпечатков пальцев (854, 1444, 1660, 1750 см^{-1}), так и в спектральном диапазоне НВ (2888, 2926 см^{-1}). Сообщалось об эффективной диагностике рака молочной железы на ранней стадии с чувствительностью 72% для злокачественной ткани и 62% для доброкачественной ткани и специфичностью для нормальной ткани 83% [32]. Это также наблюдали Абрамчик и др. [5, 33] после тестирования той же рамановской системы на 150 пациентах. Группа обнаружила, что жирнокислотный состав и продукты их метаболизма в раковой ткани молочной железы имели повышенное содержание 20-углеродной незаменимой жирной кислоты, тогда как окружающая нераковая ткань была почти идентична моновенасыщенной олеиновой кислоте. Это исследование показало, что каротиноиды и липиды могут быть использованы в качестве рамановских биомаркеров в патологии рака молочной железы.

Оптические свойства опухолей молочной железы исследовались в работах [34, 35–40], данные частично обобщены в [41] и представлены в таблице 2. Чжан и др. [42] сравнили оптические свойства нормальной ткани молочной железы, доброкачественного и злокачественного новообразования с использованием техники интегрирующей сферы и метода обратного сложения-удвоения (IAD) в спектральном диапазоне от 400 до 2200 нм. Авторы наблюдали увеличение концентрации воды и уменьшение содер-

жания липидов в злокачественной ткани по сравнению с нормальной тканью. Более того, как видно из таблицы 5, спектральное поведение рассеивающих свойств опухолевой ткани в большей степени определяется в первую очередь относительно малыми (так называемыми рэлеевскими) рассеивателями по сравнению с нормальной тканью. Ранее аналогичные результаты были получены в работах [35, 39, 40] для экспериментов *in vitro* и *ex vivo* в видимом и ближнем инфракрасном спектральном диапазоне. Исследования *in vivo* нормальных и злокачественных тканей молочной железы были выполнены Фантини и др. [36], Grosenick et al. [37] и Cerussi et al. [38] с использованием частотных и временных методов. Авторы наблюдали увеличение как коэффициентов поглощения, так и коэффициентов рассеяния для опухолевой ткани по сравнению с нормальной тканью. Более того, авторы обнаружили значительное увеличение общей концентрации гемоглобина: с $17,3 \pm 6,2$ $\mu\text{моль/л}$ для нормальной ткани до 53 ± 32 $\mu\text{моль/л}$ для опухолевой ткани [37] или с $17,5 \pm 7,5$ $\mu\text{М}$ (нормальная ткань) до $24,7 \pm 9,8$ $\mu\text{М}$ (опухолевая ткань) [38].

Таблица 5 – Оптические свойства тканей опухоли молочной железы, измеренные *in vitro* и *in vivo* [34, 35-40]

Биоткань	λ , нм	μ_a , см^{-1}	μ_s , см^{-1}	ρ	μ_e' , см^{-1}
1	2	3	4	5	6
Нормальная ткань молочной железы (n = 16)/ доброкачественная опухолевая ткань (n = 5)/ злокачественная опухоль (n = 11)	400	$9,57 \pm 5,61/$ $5,54 \pm 1,91/$ $9,29 \pm 5,57$	-	-	$20,4 \pm 8,8/$ $40,9 \pm 4,0/$ $40,9 \pm 4,0$
	500	$3,23 \pm 1,78/$ $1,79 \pm 0,28/$ $3,16 \pm 1,69$	-	-	$16,2 \pm 6,0/$ $30,3 \pm 4,4/$ $30,3 \pm 4,4$
	600	$1,61 \pm 0,96/$ $0,86 \pm 0,01/$ $1,69 \pm 0,91$	-	-	$13,9 \pm 4,6/$ $22,6 \pm 3,3/$ $22,6 \pm 3,3$

Продолжение табл. 5

1	2	3	4	5	6
	700	1,16 ±0,45/ 0,65 ±0,01/ 0,79 ±0,24	-	-	12,2 ±4,0/ 18,0 ±2,7/ 18,0 ±2,7
	800	1,13 ±0,49/ 0,63 ±0,03/ 0,75 ±0,19	-	-	11,3 ±3,9/ 15,2 ±2,8/ 15,2 ±2,8
	900	1,13 ±0,48/ 0,65 ±0,28/ 0,65 ±0,01	-	-	10,8 ±3,7/ 13,0 ±2,9/ 13,0 ±2,9
	1000	0,99 ±0,25/ 0,71 ±0,12/ 0,84 ±0,03	-	-	10,4 ±3,6/ 11,4 ±2,9/ 11,4 ±2,9
	1100	1,20 ±0,46/ 0,68 ±0,05/ 1,01 ±0,15	-	-	10,0 ±3,6/ 10,2 ±2,6/ 10,2 ±2,6
	1200	2,56 ±0,22/ 1,90 ±0,17/ 1,85 ±0,11	-	-	9,6 ±3,6/ 9,0 ±2,7/ 9,0 ±2,7
	1300	1,55 ±0,06/ 1,56 ±0,16/ 1,79 ±0,24	-	-	9,6 ±3,9/ 8,3 ±2,3/ 8,3 ±2,3
	1400	4,92 ±0,64/ 9,78 ±0,51/ 12,30 ±3,01	-	-	9,5 ±3,7/ 8,6 ±2,0/ 8,6 ±2,0
	1500	4,65 ±1,02/ 10,05 ±1,19/ 13,23 ±4,08	-	-	9,4 ±3,5/ 9,0 ±1,7/ 9,0 ±1,7
	1600	2,58 ±0,06/ 4,81 ±0,61/ 6,21 ±1,46	-	-	9,1 ±3,9/ 7,7 ±1,7/ 7,7 ±1,7
	1700	6,63 ±0,22/ 5,43 ±1,21/ 5,39 ±1,23	-	-	9,1 ±3,8/ 7,1 ±1,9/ 7,1 ±1,9
	1800	5,46 ±0,51/ 6,77 ±0,74/ 7,45 ±1,82	-	-	9,3 ±4,0/ 7,0 ±1,8/ 7,0 ±1,8

Продолжение табл. 5

1	2	3	4	5	6
	1900	14,29 ±3,02/ 31,60 ±4,99/ 36,19 ±8,98	-	-	9,5 ±4,6/ 8,5 ±2,1/ 8,5 ±2,1
	2000	12,48 ±4,80/ 33,31 ±8,72/ 42,20 ±14,94	-	-	9,3 ±4,4/ 8,8 ±2,3/ 8,8 ±2,3
	2100	8,02 ±2,76/ 18,94 ±3,57/ 22,88 ±7,46	-	-	9,2 ±4,2/ 8,0 ±2,0/ 8,0 ±2,0
	2200	7,10 ±2,30/ 13,71 ±2,17/ 16,19 ±4,93	-	-	9,6 ±4,5/ 7,5 ±1,4/ 7,5 ±1,4
Человеческая грудь (нормальная железистая ткань) (n = 3)/ человече- ская грудь (нор- мальная жировая ткань) (n = 7)/ че- ловеческая грудь (фиброзно-кистоз- ная ткань) (n = 8)/ человеческая грудь (фиброаде- нома) (n = 6)/ чело- веческая грудь (протоковая кар- цинома) (n = 9)	500	3,42/ 2,73/ 2,28/ 4,02/ 2,60	461,8/ 313,8/ 879,2/ 447,7/ 426,4	0,947/ 0,971 0,980/ 0,970/ 0,954	24,3/ 9,1/ 18,0/ 13,4/ 19,4
		0,92/ 0,99/ 0,47/ 1,76/ 1,61	431,5/ 294,1/ 623,5/ 492,6/ 337,5	0,959/ 0,972/ 0,977/ 0,979/ 0,958	17,6/ 8,1/ 14,6/ 10,3/ 14,3
		0,48/ 0,81/ 0,24/ 0,53/ 0,44	409,1/ 306,3/ 568,0/ 438,4/ 277,4	0,965/ 0,975/ 0,978/ 0,982/ 0,961	14,1/ 7,7/ 12,3/ 7,9/ 10,9
		0,55/ 0,82/ 0,28/ 0,34/ 0,34	332,7/ 313,8/ 548,8/ 384,0/ 233,0	0,965/ 0,976/ 0,981/ 0,983/ 0,962	11,7/ 7,4/ 10,5/ 6,5/ 8,9
	900	0,67/ 0,84/ 0,39/ 0,79/ 0,45	275,1/ 306,1/ 536,5/ 327,3/ 181,2	0,965/ 0,976 0,981/ 0,983/ 0,957	9,7/ 7,4/ 9,8/ 5,5/ 7,8

Продолжение табл. 5

1	2	3	4	5	6
	1000	0,90/	213,7/	0,957/	9,1/
		0,90/	306,2/	0,976/	7,4/
		0,63/	485,6/	0,982/	8,8/
		1,57/	269,1/	0,982/	5,0/
		0,64	143,7	0,950	7,2
	1100	0,82/	200,2/	0,961/	7,8/
		1,14/	332,2/	0,977/	7,8/
		0,84/	465,9/	0,983/	7,8/
		1,48/	209,2/	0,979/	4,4
		0,52	123,0	0,946	6,7
Папиллярный рак человека in vivo (n = 1)	690	0,084 ± 0,014	-	-	15,0 ± 0,3
	825	0,085 ± 0,017	-	-	12,7 ± 0,3
Здоровая ткань молочной железы человека/карциномы (n = 87)	670	0,036 ± 0,008/ 0,110 ± 0,066	-	-	10,5 ± 1,3/ 13,5 ± 4,7
	785	0,039 ± 0,011/ 0,100 ± 0,060	-	-	9,5 ± 1,4/ 11,6 ± 3,9
	843	0,036 ± 0,005/ 0,118 ± 0,096	-	-	8,4 ± 0,4/ 12,2 ± 1,7
	884	0,059 ± 0,016/ 0,124 ± 0,089	-	-	8,0 ± 1,0/ 9,1 ± 1,9
Человеческая аденокарцинома (n = 1)	650	0,069	-	-	8,44
	700	0,044	-	-	8,06
	750	0,053	-	-	7,70
	800	0,044	-	-	7,39
	850	0,055	-	-	7,10
	900	0,093	-	-	6,84
	950	0,125	-	-	6,60
	1000	0,131	-	-	6,40
Нормальная жировая ткань (n = 39) / инвазивная протоковая карцинома (n = 28)	400	16,191/ 9,049	-	-	13,7/ 23,9
	450	21,796/ 2,293	-	-	12,9/ 21,8
	500	5,556/ 0,590	-	-	11,6/ 21,3
	550	1,209/ 1,209	-	-	11,1/ 20,5
	600	0,155/ 0,144	-	-	11,0/ 18,7

1	2	3	4	5	6
Нормальная жировая ткань (n = 38) / фиброзная/доброкачественная ткань (n = 8) / злокачественная ткань (инвазивная протоковая карцинома) (n = 37)	350	2,80/ 4,45/ 5,78	-	-	14,2/ 28,3/ 33,5
	400	7,49/ 9,33/ 8,50	-	-	12,9/ 25,9/ 30,5
	450	8,76/ 6,90/ 5,30	-	-	12,6/ 25,2/ 29,9
	500	3,25/ 2,95/ 2,12	-	-	11,7/ 23,1/ 27,5
	550	0,97/ 1,64/ 1,62			10,7 /20,9/ 24,6
	600	0,74/ 1,37/ 1,38			10,1/ 19,5/ 22,4

2.3 Рак кожи

Злокачественная меланома (ММ) – самая агрессивная форма рака кожи, заболеваемость которой во всем мире составляет 287 723 (1,6% от общего числа случаев), а уровень смертности достиг 60 712 (0,6% от общего числа случаев смерти от рака) [1]. Хотя немеланомные раки кожи (НМРК), такие как базальноклеточная карцинома (БКК) и плоскоклеточная карцинома (ПКК), связаны с низким уровнем смертности, они особенно распространены среди светлокожих популяций европейского происхождения (5,8% от общего числа случаев), с высокими показателями заболеваемости, обнаруженными в Австралии/Новой Зеландии, Северной Америке и Северной Европе [1, 46]. Стандартным типом лечения рака кожи является полное удаление поражения с высоким уровнем излечения без сни-

жения продолжительности жизни (5-летняя относительная выживаемость при меланоме составляет приблизительно 92% [46]). Поэтому исследования рамановской спектроскопии для рака кожи в первую очередь были сосредоточены на раннем выявлении и различении типов опухолей кожи.

В ранних исследованиях *ex vivo* Гнядеца и др. [47, 48] выявили четкие изменения в тканях опухолей кожи, позволяющие дифференцировать ММ от нормальной кожи, себорейного кератоза и базальноклеточной карциномы. Основное изменение спектра было обнаружено в области $1200\text{--}1750\text{ см}^{-1}$. Для пигментированных опухолей наблюдалось увеличение интенсивности полос комбинационного рассеяния в области $2500\text{--}3500\text{ см}^{-1}$. Для демонстрации спектральных изменений для белков были рассчитаны соотношение между полосой амида I и $\delta(\text{CH}_2)(\text{CH}_3)$ в белках и липидах (I_{1650}/I_{1450}) и соотношение между амидом III и липидами около 1320 см^{-1} (I_{1270}/I_{1320}). Нейросетевой анализ рамановских спектров в диапазоне $200\text{--}3500\text{ см}^{-1}$ достиг диагностической чувствительности 85% и специфичности 99% для диагностики ММ.

В 2008 году Чжао и др. [49] сообщили об 289 *in vivo* измерениях спектров Рамана 9 различных типов поражений. Авторы заявили о чувствительности 91% и специфичности 75% при дифференциации злокачественных поражений от доброкачественных. Кроме того, та же группа использовала зонд Рамана для изучения ММ, ВСС, SCC, актинического кератоза, атипичных невусов, меланоцитарных невусов, голубых невусов и себорейного кератоза у 453 пациентов в 2012 году [50] и у 645 пациентов в 2015 году [51]. Собранные одноточечные спектры были получены за 1 с и подвергнуты главному компоненту с обобщенным дискриминантным анализом (PC-GDA) и PLS для статистической оценки данных. Чувствительность для дифференциации рака кожи от доброкачественных поражений варьировалась от 95 до 99% с соответствующей специфичностью 15–

54%. Аналогичные результаты были получены Силвейрой и соавторами [52] для набора из 145 спектров из фрагментов биопсии нормальной ($n = 30$), ВСС ($n = 96$) и ММ ($n = 19$) кожных тканей. Авторы применили наиболее подходящую модель к спектрам биохимических веществ и подтвердили, что актин, коллаген, эластин и триолеин были наиболее важными биохимическими веществами, представляющими спектральные особенности кожных тканей.

Типичные спектры комбинационного рассеяния *in vivo* для нормальной кожной ткани, меланомы и базальноклеточной карциномы показаны на рисунке 6. В целом все кожные поражения, по видимому, имеют схожие основные пики и полосы комбинационного рассеяния в области отпечатков пальцев. Нет никаких отличительных пиков или полос комбинационного рассеяния, которые можно было бы однозначно отнести к определенным видам рака кожи только путем визуального осмотра. Самый сильный пик комбинационного рассеяния расположен около 1445 см^{-1} , а другие основные полосы комбинационного рассеяния сосредоточены на 855 , 936 , 1002 , 1271 , 1302 , 1655 и 1745 см^{-1} . Развитие злокачественного заболевания кожи увеличивает содержание продуктов метаболизма в патологических областях кожи, изменяет концентрацию белков и липидов. Белки вносят преимущественный вклад в появление полос в спектральном диапазоне $1240\text{--}1270$, 1340 , $1440\text{--}1460$ и 1665 см^{-1} , спектральные особенности, обусловленные вкладом липидов, преимущественно триолеина, наблюдаются в полосах $1271\text{--}1301$, 1440 , $1650\text{--}1660\text{ см}^{-1}$ [52]. Одним из существенных отличий злокачественных образований от доброкачественных является процесс метаболизма и разрушения коллагена. Клетки злокачественных опухолей образуют быстрорастущие, малодифференцированные структуры, а развитие таких структур сопровождается повышением активности коллагеназы [53]. Коллагеназа разрушает молекулярные

связи коллагеновых волокон, а изменения в спектрах комбинационного рассеяния кожной ткани можно наблюдать в полосах 1248, 1454 и 1665 cm^{-1} , связанных с пиками коллагена [54].

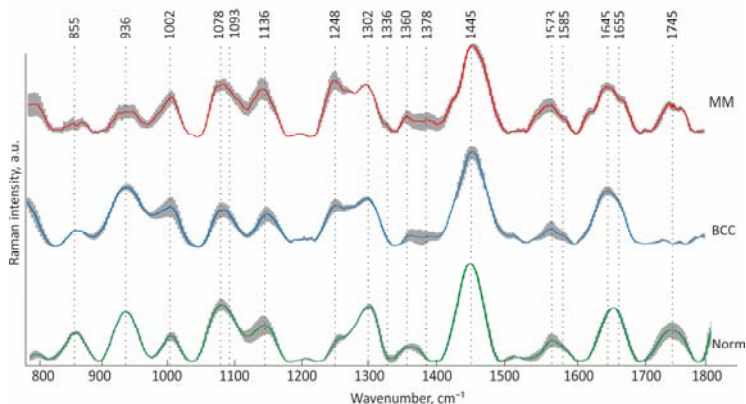


Рисунок 6 – Средние спектры комбинационного рассеяния и стандартное отклонение меланомы (ММ), базальноклеточной карциномы (ВСС) и нормальной кожи (Norm). Каждый спектр был получен с помощью установки комбинационного рассеяния [60] и предварительно обработан с удалением базовой линии, сглаживанием методом Савицкого-Голея, нормализацией и центрированием данных [60]

Шлейзенер и др. [55] провели измерения *in vivo* на 104 субъектах с поражениями, используя многоволоконный рамановский зонд, который был оптимизирован для сбора рассеянного света из глубины эпидермального слоя до базальной мембраны, где развивались ранние стадии рака кожи. НМПК были отделены от нормальной кожи со сбалансированной точностью 73% (ВСС) и 85% (SCC) с использованием дискриминантного анализа с использованием частичных наименьших квадратов (PLS-DA). Дискриминация ММ и пигментных невусов (PN) привела к сбалансированной точности 91%.

Лим и др. [56] использовали оптоволоконный зонд Рамана в сочетании с методами флуоресценции и диффузного обратного рассеяния для улучшения результатов диагностики. Спектры Рамана, флуоресценции и отражения были получены из 137 поражений у 76 пациентов. Рамановская спектроскопия сама по себе продемонстрировала достижение 100% чувствительности и специфичности для различения меланомы от доброкачественных пигментированных поражений, но только 68% чувствительности и 55% специфичности для различения НМРК от нормальных тканей. Однако для мульти-модального подхода НМРК были классифицированы с чувствительностью 95% и специфичностью 71%. Для поддержки анализа данных группа также проанализировала спектральные вклады отдельных компонентов кожи, таких как коллаген, эластин, триолеин, ядра, кератин, керамид, меланин и вода, путем подгонки спектров, полученных *in vitro* с помощью Рамановской микроскопии [57]. Было продемонстрировано, что биофизическая модель имела последовательную диагностическую способность, аналогичную статистической модели PCA-LDA с перекрестной проверкой «исключить одно поражение». Что еще более важно, биофизическая модель охватывала соответствующие биофизические изменения, учитывающие диагноз. В частности, авторы обнаружили, что коллаген и триолеин были наиболее важными биомаркерами в различении ММ от доброкачественных пигментных поражений, а ВСС имела значительно отличающуюся концентрацию ядра, кератина, коллагена, триолеина и керамидов по сравнению с окружающей здоровая кожа. Недавно группа продемонстрировала возможность использования разработанной биофизической модели для оценки края рака кожи при резекции базальноклеточной карциномы [58].

В 2017 году Братченко и др. [59] протестировали комбинированную рамановскую и автофлуоресцентную диагностику *ex vivo* ММ ($n = 39$) и ВСС ($n = 40$) в ближнем инфракрасном и видимом

диапазонах. Авторы заявили о точности 97,3% для различения каждого из видов рака кожи при мультимодальном подходе, тогда как определенная точность для каждой модальности в отдельности составила 79%. Далее, та же группа провела измерения *in vivo* на 17 ММ, 18 ВСС и 19 различных типах доброкачественных новообразований с помощью портативной рамановской системы и подтвердила более высокую точность мультимодального подхода [60]. Диагностическая эффективность портативной системы была определена с помощью анализа полных спектров методом PLS-DA, принимая во внимание каждую особенность спектров в диапазоне от 300 до 1800 см⁻¹, включая интенсивности максимумов и точную оценку положения полос. Для комбинированной диагностики с использованием рамановской спектроскопии и аутофлуоресценции авторы сообщили о точности 89,5% и 91,1% для классификации ММ по сравнению с другими новообразованиями и базальноклеточной карциномы по сравнению с другими новообразованиями соответственно.

Другой мультимодальный подход включает комбинацию оптической когерентной томографии (ОКТ) и рамановской спектроскопии (РС) для неинвазивной характеристики поражений кожи на основе морфологических или биохимических признаков заболевания [37]. Хотя ОКТ четко не определяет признаки, связанные со злокачественностью, она обеспечивает морфологический контекст для руководства размещением осей получения РС для специфического биохимического анализа ткани. В 2015 году Захаров и др. [4] сообщили об увеличении средней точности диагностики *in vivo* опухолей кожи (9 ММ, 9 ВСС и различных доброкачественных опухолей) с помощью мультимодальной системы RS-BS-ОКТ. Было показано, что эти методы являются взаимодополняющими и повышают диагностическую специфич-

ность для различных типов опухолей на 5-11%. В 2018 году Варкентин и др. [38] представили тримодальный RS-OA-OCT с опто-акустической (OA) модальностью, которая обеспечивала точное определение глубины опухоли благодаря потенциально более глубокому проникновению по сравнению с OCT. Рамановский сигнал собирался с помощью сканирующей линзы OCT для максимизации отношения сигнал/шум измеренного сигнала при сохранении уровней радиации ниже максимально допустимых пределов воздействия. Предварительные результаты первых клинических испытаний RS-OA-OCT показали хорошее соответствие с результатами гистологии и отчетливые различия в данных рамановского рассеяния между нормальной кожей и различными областями меланоцитарных поражений.

Оптические свойства ткани опухоли кожи представлены в таблице 3, которая демонстрирует качественно схожее поведение для всех исследованных немеланомных типов опухолей кожи [39, 61]. Коэффициент рассеяния постепенно уменьшается с увеличением длины волны. Количественно инфильтративный BCC характеризуется более высоким коэффициентом рассеяния по сравнению с рассеянием нодулярного BCC и SCC. Более высокий коэффициент рассеяния инфильтративного BCC может быть объяснен его структурными особенностями. Обычно эти опухоли имеют тонкие тяжи или шнуры опухолевых клеток, простирающиеся в окружающую сильно рассеивающую дерму. Значение μ'_s для SCC последовательно ниже, чем для обоих типов BCC во всем диапазоне длин волн [62]. Аналогичный результат был получен Гарсиа-Урибе и др. [61] (см. таблицу 6). Более высокое светорассеяние в раковой ткани можно объяснить большим средним эффективным размером рассеивающих центров. SCC *in situ* еще не проник через базальную мембрану дермоэпидермального соединения. SCC обычно выглядят как чешуйчатые бляшки с резко

106

выраженным красным цветом. Гистологически все эпидермальные слои могут содержать атипичные кератиноциты. Большое количество атипичных кератиноцитов в SCC может увеличить светорассеяние в этом типе поражения кожи и значительно повлиять на его вклад в диффузно отраженный свет на поверхности. SCC могут проникать через базальную мембрану, становясь инвазивными [61].

Таблица 6 – Оптические свойства тканей опухоли кожи, измеренные *in vitro* и *in vivo* [61, 62]

Биоткань	λ , нм	μ_a , см ⁻¹	μ_s , см ⁻¹
1	2	3	4
Инфильтративная базальноклеточная карцинома (n = 6)/ Узловая базальноклеточная карцинома (n = 5)/ Плоскоклеточная карцинома (n = 8)	370	5.19/	67.0/
		7.19/	47.7/
		7.70	43,9
	400	5.20/	65.7/
		7.04/	46.2/
		8.68	43,5
	450	3.99/	57.2/
		4.72/	42.7/
		7.54	38.9
	500	2.06/	46.5/
		2.52/	35.9/
		2.46	30.4
	550	1.56/	37.7/
		1.67/	30.2/
		2.43	25.5
	600	1.20/	31.9/
		1.11/	26.2/
		1.47	21.4
	650	0,94/	27.9/
		0,75/	22.6/
		0,83	18.1
	700	0,87/	25.3/
		0,55/	19.8/
		0,65	16.1
	750	0,77/	22.8/
		0,37.	17.9/
		0,52	14.2

Продолжение табл. 6

1	2	3	4
	800	0,64/ 0,19/ 0,37	20.5/ 15.8/ 12.9
	850	0,52/ 0,09/ 0,28	19.0/ 14.7/ 12.0
	950	0,44/ 0,05/ 0,24	15.9/ 12.9/ 10.5
	1000	0,49/ 0,03/ 0,25	14.4/ 12.3/ 9.8
	1050	0,48/ 0,01/ 0,27	12.9/ 11.8/ 8.9
	1100	0,53/ 0,01/ 0,26	12.2/ 11.3/ 8.6
	1150	0,89/ 0,05/ 0,54	11.6/ 10.8/ 8.4
	1200	1.14/ 0.11/ 0,79	11.1/ 10.4/ 8.2
	1250	1.15/ 0,08/ 0,73	10.7/ 10.2/ 7.9
	1300	1.53/ 0.23/ 1.00	10.4/ 9.9/ 7.6
	1350	3.70/ 1.81/ 2.47	10.6/ 10.0/ 8.1
	1400	13.79/ 11.19/ 10.68	13.1/ 13.1/ 11.3
	1450	24.06/ 17.01/ 21.21	17.1/ 16.3/ 14.6

1	2	3	4
	1500	17.98/ 10.45/ 13.81	14.7/ 14.3/ 12.7
	1550	10.38/ 5.71/ 8.63	11.5/ 11.5/ 9.8
	1600	5.95/ 3.43/ 5.33	11.6/ 10.3/ 8.9
	455	0,60/0,74/0,83/ 1.20/1.40/1.78/ 0,79/0,96/1,17/ 1.28	12.8/13.5/14.1/ 15.4/19.8/22.2/ 22,9/20,7/27,0/ 22.4
	500	0,46/0,57/0,63/ 1.08/1.24/1.59/ 0,70/0,85/0,97/ 1.05	12.2/12.7/13.4/ 15.0/18.7/20.9/ 21.8/19.2/24.8/ 21.2
	550	0,55/0,63/0,68/ 1.12/1.29/1.67/ 0,78/0,96/1,01/ 1.15	11.6/12.1/12.8/ 14.6/17.9/20.1/ 20.9/18.1/23.2/ 20.4
Тип кожи I/ Тип кожи II/ Тип кожи III/ Обычные невусы/ Диспластические невусы/ Меланома/ Актинический кератоз/ Себорейный кератоз/ Плоскоклеточный рак/ Базальноклеточный рак	600	0,29/0,36/0,37/ 0,68/0,76/0,97/ 0,42/0,52/0,55/ 0,63	11.1/11.5/12.2/ 14.2/17.3/19.5/ 20.0/17.0/21.9/ 19.6
	650	0,21/0,28/0,31/ 0,50/0,57/0,72/ 0,33/0,39/0,42/ 0,48	10.8/11.1/11.8/ 13.8/16.8/19.2/ 19,5/16,2/21,0/ 19.1
	700	0,19/0,24/0,27/ 0,39/0,44/0,55/ 0,28/0,30/0,33/ 0,40	10.6/10.8/11.5/ 13.5/16.4/19.1/ 18.9/15.7/20.3/ 18.7
	750	0,16/0,21/0,24/ 0,30/0,33/0,43/ 0,25/0,27/0,27/0,36	10.4/10.5/11.3/ 13.4/16.1/19.0/ 18.5/15.1/19.7/18.4
	765	0,18/0,21/0,24/ 0,30/0,34/0,42/ 0,24/0,26/0,26/0,37	10.4/10.5/11.2/ 13.3/16.0/19.1/ 18.4/15.0/19.6/18.4

Актинический кератоз может выглядеть грубым и шелушащимся и может развиваться в SCC. Гистологически актинический кератоз распознается по наличию атипичных кератиноцитов в более глубоких частях эпидермиса. Дефектное созревание поверхностных эпидермальных слоев приводит к паракератозу, чередующемуся с гиперкератозом [40, 41]. Количество атипичных кератиноцитов и коллагена является факторами, связанными с количеством рассеивания света в очаге поражения [61].

ВСС происходят из базального слоя кератиноцитов, самого глубокого слоя клеток эпидермиса. ВСС могут представлять собой узелковые агрегаты базальных клеток в дерме и демонстрировать периферические артефакты палисадинга и ретракции.

Меланин также может присутствовать в опухоли и в окружающей строме, как это наблюдается в пигментированных ВСС. Агрегация базальных клеток может увеличивать рассеивание света в этих типах злокачественных поражений. Прогрессирование себорейного кератоза в ВСС и SCC встречается редко [63, 64]. Себорейный кератоз, состоящий из базалоидных клеток, смешанных с некоторыми плоскоклеточными клетками, может быть пигментированным, когда некоторые клетки содержат меланин, перенесенный из соседних меланоцитов [61].

Кугмас и др. [65] исследовали оптические свойства кожи собак *ex vivo* и подкожных опухолей *ex vivo* и *in vivo* и обнаружили, что средняя объемная доля воды в образцах кожи составляла 81,4%. Темнопигментированная кожа содержала почти в 10 раз больше меланина (2,22 ммоль/л), чем слабопигментированная кожа (0,26 ммоль/л). Авторы оценили концентрацию меланина в 115,0 и 443,5 мг/л для светло- и темнопигментированной кожи человека соответственно.

Средняя массовая концентрация гемоглобина составляла 1,07 г/л, а насыщение – 46%. Для опухолей объемная доля воды составляла около 82%, насыщение было немного выше 50%. Однако

доброкачественные опухоли содержали 0,62 г/л гемоглобина, а злокачественные опухоли – 7,93 г/л гемоглобина [65].

2.4 Колоректальный рак

По оценкам, в год происходит более 1,8 миллиона новых случаев колоректального рака и около 881 000 смертей [1]. В целом, колоректальный рак занимает третье место по заболеваемости, но второе по смертности. Хирургия является единственным методом лечения локализованного рака толстой кишки. Колоноскопия является наиболее чувствительным инструментом для скрининга и обнаружения ранних стадий злокачественных новообразований и предраковых полипов (аденом). Однако частота ошибок при колоноскопии составляет около 20% для аденом [64].

Ли и др. [66] выявили различия между нормальными и раковыми тканями толстой кишки в пяти спектральных полосах в областях около 815–830, 935–945, 1131–1141, 1447–1457 и 1665–1675 см^{-1} . Самые сильные сигналы наблюдались при 1004 см^{-1} (СС растяжение кольца дыхания фенилаланина), 1323 см^{-1} (CH_3CH_2 скручивание белков и нуклеиновых кислот), 1450 см^{-1} ($\delta(\text{CH}_2)$ фосфолипидов и коллагена) и 1665 см^{-1} ($\text{C}=\text{O}$ растяжение моды амида I и липидов). Было показано, что нормализованные интенсивности рамановских полос в диапазонах 800–860 и 1580–1660 см^{-1} были больше в нормальной ткани, чем в раковой ткани, в то время как сигналы рамановского рассеяния в диапазоне 1210–1400 см^{-1} увеличивались в раковой ткани, что коррелировало с прогрессированием дисплазии. Рамановские пики 1323 см^{-1} стали шире и интенсивнее в раковой ткани, чем в нормальной колоректальной ткани, что свидетельствует об увеличении содержания нуклеиновых кислот в опухолевых клетках. Рамановские полосы 1665–1675 см^{-1} , которые приписываются полосам амида I белка в конформации α -спирали, были увеличены в злокачественной ткани, что позволяет

предположить, что злокачественность может быть связана с увеличением относительного количества белка в β -складчатом слое или случайной конформации спирали. Авторы заявили об увеличении интенсивности полосы амида I $1665\text{--}1675\text{ см}^{-1}$ в злокачественной ткани, связанном с увеличением относительного количества белка в β -складчатом слое, и значительном снижении интенсивности полосы $1131\text{--}1141\text{ см}^{-1}$ (CN растяжение моды белков, липидов), что указывает на относительное снижение содержания липидов в раковой ткани в соответствии с ранними микрорамановскими исследованиями [45]. Диагностическая статистическая модель была построена с помощью оптимизации муравьиной колонии; метод опорных векторов обеспечил диагностическую точность 93,2% для выявления колоректального рака в нормальной ткани.

В похожем исследовании Виджая и др. [67] исследовали *ex vivo* 105 образцов тканей толстой кишки от 59 пациентов (41 нормальный, 18 гиперпластических полипов и 46 аденокарцином) с использованием диагностического алгоритма PCS-SVM, который использовал весь рамановский спектр от $800\text{ до }1800\text{ см}^{-1}$. Было доказано, что алгоритм SVM ядра является лучшим классификатором, обеспечивающим наивысшую диагностическую специфичность 98,1%-99,7% и 100% чувствительность для многоклассовой классификации. Вуд и др. [68] измерили рамановские спектры в общей сложности из 356 биопсий толстой кишки (81 нормальной слизистой оболочки толстой кишки, 79 гиперпластических полипов, 92 аденоматозных полипов, 64 аденокарциномы и 40 язвенного колита) от 177 пациентов. Точность спектральной классификации при сравнении пар патологий варьировалась от 72,1 до 95,9% для 10-секундных приобретений и от 61,5 до 95,1% для 1-секундных приобретений, что отражает улучшенное отношение сигнал/шум при более длительном времени спектрального приобретения.

Шорт и др. [64] и Ли и др. [69] проанализировали отдельно образцы рамановских спектров в областях от 1000 до 1800 см^{-1} и от 2800 до 3800 см^{-1} из *ex vivo* образцов, собранных во время эндоскопической биопсии. Было показано, что пиковая интенсивность полос валентных колебаний СН, относящихся к липидам (около 2958 см^{-1} , 2924 см^{-1} и 2858 см^{-1}), уменьшалась и даже исчезала в спектрах злокачественных тканей из-за существенного потребления жира при развитии карциномы. Классификатор энтропийного веса локальной гиперплоскости k -ближайших соседей обеспечил чувствительность 81,38% и специфичность 92,69% для дифференциации рака от образцов колита. Петерсен и др. [70] выполнили рамановские волоконно-оптические измерения 242 образцов биопсии толстой кишки. Авторы заявили, что более высокая точность достигается для перекрестной проверки с исключением одного пациента по сравнению со схемами перекрестной проверки с исключением одного спектра из-за минимизации систематических ошибок. Рак был дифференцирован от нормальной ткани с чувствительностью 79%, специфичностью 83% и точностью 81%. Модели дискриминации PCA-LDA и PLS-DA сравнивались на одном и том же наборе данных рамановских спектров, полученных в нормальных ($n = 78$) и раковых ($n = 81$) колоректальных тканях, что привело к предпочтительности алгоритма PLS-DA с LOOCV [71]. Моделирование PLS-DA дало диагностическую точность 84,3% для обнаружения колоректального рака, в то время как точность классификации PCA-LDA составила 79,2%.

Бергхольт и др. [72] продемонстрировали, что одновременная рамановская эндоскопия в отпечатках пальцев и областях с высоким волновым числом обеспечивает диагностическую чувствительность 90,9% и специфичность 83,3% для дифференциации колоректальной аденомы от гиперпластических полипов, что превосходит рассмотрение любой из этих областей по отдельности. Было обнаружено, что аденомы были связаны со значительным

снижением интенсивности рамановских пиков при 1078 см^{-1} (растяжение $\text{C}=\text{C}$), 1425 см^{-1} (разрезание $\delta(\text{CH}_2)$), 2850 и 2885 см^{-1} (симметричное и асимметричное растяжение CH_2) и 3009 см^{-1} по сравнению с гиперпластическими полипами, что указывает на относительное снижение содержания липидов. Повышенное содержание белка в значительной степени указывалось биомаркерами при 1004 см^{-1} (симметричное растяжение $\text{C}-\text{C}$, кольцевое дыхание фенилаланина) и уширением полосы 1655 см^{-1} (амидная мода растяжения $\text{C}=\text{O}$ белков). Пиковое соотношение асимметричного и симметричного растяжения OH (определяемое как среднее отношение интенсивности I_{3250}/I_{3400}) показало значительные различия, что представляло собой свидетельство перестроек в водородно-связанных сетях в эпителиальных клетках, вызванных локальными взаимодействиями с макромолекулами, такими как белки [73]. Диапазон отпечатков пальцев содержит высокоспецифичную информацию о белках, липидах и конформациях ДНК. С другой стороны, метод NW содержит информацию, связанную с растяжением CH_2/CH_3 липидов/белков, а также интенсивные полосы воды, отражающие локальную конформацию воды, которая не содержится в диапазоне FP . Взаимодополняющие свойства спектральных модальностей FP и NW рамановского рассеяния для улучшения диагностики тканей можно частично объяснить путем обратного отслеживания неправильно классифицированных спектров каждой модальности рамановского рассеяния.

Физиологические различия между нормальными и опухолевыми тканями были исследованы в работах [74, 75], а оптические свойства опухолей толстой кишки были исследованы в работах [76, 77]. В исследованиях *in vivo* Зониос и др. [74] показали, что нормальная слизистая оболочка толстой кишки имела общую концентрацию гемоглобина $13,6 \pm 8,8$ мг/дл, тогда как соответствующее значение для аденоматозного полипа составляло приблизи-

тельно $72,0 \pm 29,2$ мг/дл. Насыщение гемоглобина кислородом составило $0,59 \pm 0,08$ и $0,63 \pm 0,1$ соответственно. Эффективный размер рассеяния составил $0,94 \pm 0,44$ мкм для полипов и $0,56 \pm 0,18$ мкм для нормальной слизистой оболочки. Было обнаружено, что значения плотности рассеивания составляют $(9,2 \pm 7,5) \times 10^8$ мм⁻³ и $(3,5 \pm 4,0) \times 10^8$ мм⁻³ для нормальной слизистой оболочки и аденоматозного полипа соответственно. Среднее насыщение кислородом было определено Кнофелем и соавторами [75] как 37 ± 19 , 46 ± 13 , 45 ± 10 и $49 \pm 15\%$ для аденокарцином, аденоматозных полипов, гиперпластических полипов и нормальной слизистой оболочки соответственно. Свойства ткани толстой кишки представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Оптические свойства тканей опухоли толстой кишки, измеренные *in vitro* [76, 77]

Салфетка	λ , нм	μ_a , см ⁻¹	μ_s , см ⁻¹	τ	μ_s' , см ⁻¹
Здоровая ткань толстой кишки (n = 30)/рак толстой кишки (n = 30)	850	$0,8 \pm 0,1 /$ $0,4 \pm 0,1$	$93,9 \pm 22,5 /$ $71,4 \pm 12,2$	$0,93 \pm 0,01 /$ $0,92 \pm 0,01$	-
	980	$0,7 \pm 0,1 /$ $0,5 \pm 0,1$	$86,4 \pm 21,1 /$ $63,3 \pm 12,0$	$0,92 \pm 0,01 /$ $0,92 \pm 0,01$	-
	1060	$0,3 \pm 0,1 /$ $0,2 \pm 0,1$	$82,1 \pm 20,7 /$ $59,7 \pm 12,5$	$0,92 \pm 0,01 /$ $0,92 \pm 0,02$	-
Аденокарцинома толстой кишки СС 531 (n = 14)	632.8	$1,4 \pm 0,2$	280 ± 20	$0,946 \pm 0,004$	$15,0 \pm 2,0$
	1064	$2,5 \pm 0,5$	180 ± 10	$0,952 \pm 0,005$	$9,0 \pm 1,0$

2.5 Рак шейки матки

По оценкам, 570 000 случаев и 311 000 смертей в 2018 году во всем мире, это заболевание занимает четвертое место среди наиболее часто диагностируемых видов рака и четвертую по значимости

причину смерти от рака у женщин [1]. Рак шейки матки занимает второе место по заболеваемости и смертности после рака молочной железы; однако это наиболее часто диагностируемый вид рака в 28 странах и основная причина смерти от рака в 42 странах, подавляющее большинство из которых находятся в странах Африки к югу от Сахары и Юго-Восточной Азии [1]. В 2001 году Утцингер и др. [78] впервые продемонстрировали *in vivo* обнаружение плоскоклеточной дисплазии, предшественника рака шейки матки, с помощью рамановского волоконно-оптического зонда в 24 измерениях у 13 пациентов. Был введен простой алгоритм классификации, включающий два соотношения интенсивности I_{1454}/I_{1556} и I_{1330}/I_{1454} , которые были соответственно больше и меньше для образцов с плоскоклеточной дисплазией, чем для всех других типов тканей. Интеграция аналитических алгоритмов со сбором данных позволила достичь диагностической точности до 88% [79]. Наблюдаемые сильные пики при 1660 (амид I), 1450 (деформация $\delta(\text{CH}_2)$) и 1340 см^{-1} (ДНК) спектров Рамана были характерны для опухоли шейки матки, что указывало на увеличение ДНК и белка, в то время как сниженные пики при 1280 и 1240 см^{-1} указывали на коллагеновые белки [80]. Принимая во внимание изменения в спектрах Рамана нормальной шейки матки из-за гормонального или менопаузального статуса женщин, диагностическая точность была улучшена с 88 до 94% [81, 82]. Для дальнейшего повышения диагностической точности авторы также включили спектральные изменения, связанные с сопутствующими факторами, такими как возраст, раса, курение, индекс массы тела и менопаузальный статус в спектрах Рамана шейки матки [83].

Дураипандян и др. [84] сообщили об исследовании *in vivo* по выявлению предраковых заболеваний шейки матки, основанном на измерении 105 спектров комбинационного рассеяния в ближней инфракрасной области из 57 участков *in vivo* у 29 пациентов. Авторы

использовали генетический алгоритм дискриминантного анализа с использованием частичного метода наименьших квадратов (GA-PLS-DA-dCV) для идентификации семи значимых полос, связанных с липидами, белками и нуклеиновыми кислотами в ткани: 925–935 см^{-1} (режим деформации C–CH гликогена, режим растяжения C–C белка и коллагена), 979–999 см^{-1} (фосфолипиды), 1080–1090 см^{-1} (режим симметричного растяжения PO_2 нуклеиновых кислот и режим растяжения C–C фосфолипидов), 1240–1260 см^{-1} (амид III), 1320–1340 см^{-1} (колебание CH_3CH_2 нуклеиновых кислот и белков), 1400–1420 см^{-1} (изгибное колебание CH_3 белков) и 1625–1645 см^{-1} (режим растяжения C=O амида I, α -спираль). Была достигнута диагностическая точность 82,9% для дифференциации предраковых поражений низкой и высокой степени. Потенциал рамановской спектроскопии с высоким волновым числом (2800–3700 см^{-1}) для обнаружения предрака шейки матки *in vivo* был исследован Мо и соавторами [85]. Значительные различия в растяжении CH_2 полосы липидов при 2850 и 2885 см^{-1} , полосы растяжения CH_3 белков при 2940 см^{-1} и широкая рамановская полоса воды при 3400 см^{-1} наблюдались в нормальной и диспластической цервикальной ткани. Последующее исследование Duraipandian et al. [86] исследовали преимущества использования как низко-, так и высоковолновых областей для *in vivo* обнаружения предрака шейки матки, получив 473 рамановских спектра от 35 пациенток. Различия в рамановских спектрах между нормальной и диспластической тканью шейки матки наблюдались при 854, 937, 1001, 1095, 1253, 1313, 1445, 1654, 2946 и 3400 см^{-1} , в основном связанные с белками, липидами, гликогеном, нуклеиновыми кислотами и содержанием воды в ткани. PLS-DA вместе с LOPOCV дали диагностическую чувствительность 84,2%, 76,7% и 85,0% соответственно; специфичность 78,9%, 73,3% и 81,7% соответственно; и общая диагностическая точность 80,3%, 74,2% и 82,6% соответственно при использовании методов

FP, HW и интегрированной FP/HW рамановской спектроскопии для диагностики предрака шейки матки *in vivo*.

2.6 Рак предстательной железы

Рак предстательной железы является одним из наиболее распространенных видов рака у мужчин во всем мире, заболеваемость составляет 1 276 106 (7,1% от общего числа случаев) и смертность 358 989 (3,8% от общего числа смертей от рака) [1]. Диагноз рака простаты часто ставится с помощью трансректальной ультразвуковой биопсии простаты. Рекомендуются от десяти до двенадцати основных биопсий [87]. При постановке диагноза рака простаты классификация используется для описания гистологического вида опухолевых клеток. Рак простаты чаще всего классифицируется с использованием шкалы Глисона (GS), которая классифицирует степень раковой ткани по сравнению с нормальной тканью простаты.

Поскольку рамановские зонды подходят для использования во время эндоскопических, лапароскопических или открытых процедур, их можно использовать для скрининга, биопсии, оценки края и мониторинга эффективности лечения рака предстательной железы [88]. Патель и Мартин [89] использовали рамановскую спектроскопию для характеристики переходной, центральной и периферической зон нормальной простаты, выявляя более высокие концентрации ДНК и РНК в периферической зоне, а также различия в относительной концентрации липидов и белков между тремя зонами. Кроу и др. [90, 91] и Стоун и др. [92] продемонстрировали способность дифференцировать рак простаты на три категории ($GS < 7$, $GS = 7$ и $GS > 7$) и от доброкачественной гиперплазии простаты с точностью 89% на основе анализа замороженных биопсий *in vitro*. Они обнаружили, что соотношение ядро/цитоплазма (ак-

тин) увеличивалось при злокачественности, причем злокачественные рамановские спектры показывали повышенную концентрацию ДНК. Было показано, что увеличение относительной концентрации холина и холестерина связано со злокачественностью, потенциально представляя собой повышенный синтез клеточной мембраны из-за повышенной пролиферации и повышенного некроза соответственно.

Девпура и др. [93] обнаружили доброкачественный эпителий и аденокарциному, различая GS 6, 7 и 8 в депарафинированных объемных тканях. Интенсивность 782 см^{-1} , связанная с основаниями ДНК, увеличивалась при злокачественности, как и отношение I_{726}/I_{634} . Интенсивность 726 см^{-1} коррелировала с ДНК, а интенсивность 634 см^{-1} была постоянной во всех тканях, что снова продемонстрировало относительное увеличение содержания ДНК при злокачественности. Спектральная вариация по шкале Глисона наблюдалась в диапазонах $900\text{--}1000$ и $1292\text{--}1352\text{ см}^{-1}$. Аденокарцинома была идентифицирована с использованием PCA с чувствительностью 94% и специфичностью 82%, а оценки по шкале Глисона 6, 7 и 8 были различены с точностью 81%. PCA и SVM были использованы Ваном и др. [94] для классификации спектров 50 пациентов на две группы в соответствии с их GS (≤ 7 и > 7), достигнув 88% чувствительности, специфичности и точности. В экспериментах, проведенных с 1064 нм лазером, значимые различия были обнаружены преимущественно в диапазоне от 1000 до 1450 см^{-1} [95]. С помощью SVM образцы простаты были классифицированы на злокачественные и доброкачественные с 96% точностью и предсказанием их GS с 95% точностью. Специфичность метода была неизменно высокой, со средним значением 98%. Чувствительность варьировалась от 67% до 100%, со средним значением 89%.

В 2018 году Аубертин и др. [96] продемонстрировали возможность точной диагностики и классификации рака простаты с использованием ручного контактного волоконного рамановского зонда с возбуждающим лазером 785 нм. Было показано, что чувствительность и специфичность дифференциации доброкачественных и раковых тканей варьируются в зависимости от GS от 76 до 90% и от 73 до 89%, соответственно. Позднее та же группа повысила точность определения рака простаты до 91% с помощью возбуждения на двух длинах волн (785 нм и 671 нм) с одновременными измерениями рамановских спектров в областях «отпечатков пальцев» и высоких волновых чисел и модели классификации SVM с процедурой перекрестной проверки «оставить одного пациента».

Оптические свойства экспериментальных опухолей простаты *in vivo* были исследованы в работе [97]. Авторы измерили коэффициенты поглощения и приведенного рассеяния опухолей простаты R3327-AT и R3327-H при 630 и 789 нм и обнаружили, что коэффициент поглощения опухолей составил $0,9 \pm 0,4$ (630 нм) и $0,4 \pm 0,2$ (789 нм) для опухоли R3327-AT, и $0,9 \pm 0,4$ (630 нм) и $0,5 \pm 0,3$ (789 нм) для опухоли R3327-H. Приведенный коэффициент рассеяния опухолей составил $10,1 \pm 3,5$ (630 нм) и $5,3 \pm 1,4$ (789 нм) для опухоли R3327-AT, и $12,3 \pm 3,2$ (630 нм) и $6,7 \pm 1,7$ (789 нм) для опухоли R3327-H.

2.7 Рак мочевого пузыря

Опухоли мочеполовой системы составляют почти четверть злокачественных новообразований [98]. Рак мочевого пузыря является шестым по частоте раком у мужчин и 17-м по частоте раком у женщин. Было зарегистрировано почти 550 000 новых случаев в 2018 году, а смертность составила 199 922 (2,1% от общего числа случаев смерти от рака) [1].

По клиническому течению различают мышечно-неинвазивный (TIS, Ta, T1), мышечно-инвазивный (T2-T4) и метастатический рак мочевого пузыря. Поверхностные и мышечно-инвазивные опухоли мочевого пузыря в 90-95% представлены уротелиальной карциномой, но отличаются по молекулярно-генетическим, морфологическим и иммуногистохимическим характеристикам. Мышечно-инвазивный рак мочевого пузыря (МИРПМ) является потенциально фатальным заболеванием, так как без лечения больные умирают в течение 24 месяцев. У 50% больных с магнитно-резонансной томографией, прооперированных радикально, развивается рецидив, что связано с морфологической стадией развития первичной опухоли и состоянием регионарных лимфатических узлов. Наиболее частой локализацией метастазов уротелиального рака являются регионарные лимфатические узлы (78%), печень (38%), легкие (36%), кости (27%), надпочечники (21%) и кишечник (13%), реже (1–8%) метастазы развиваются в сердце, головном мозге, почках, селезенке, поджелудочной железе, мозговых оболочках, матке, яичниках, предстательной железе [99, 100].

Для снижения летальности больных МИРМП ведущее значение имеет раннее выявление рецидивов и метастазов в пред- и послеоперационном периодах. Метастазы у больных раком мочевого пузыря чаще всего поражают регионарные лимфатические узлы таза, зону бифуркации общих подвздошных артерий, отдаленные метастазы захватывают кости, печень, легкие [101].

После радикального лечения в первый год вероятность рецидива опухоли достигает 10–67%, прогрессирования в течение 5 лет – 0–55% [102].

Система классификации ВОЗ 1973 года, предложенная Мосстофи и соавторами [103], различает папиллярные уротелиальные поражения на три степени: G1, G2 и G3 [104]. Опухоли классифицируются в соответствии со степенью клеточной и архитектурной

атипии. Самая низкая степень (G1) показывает почти полное отсутствие атипии, тогда как самая высокая степень (G3) показывает значительную атипию с серьезными архитектурными нарушениями, такими как потеря полярности или псевдостратификация.

В 1997, на новом междисциплинарном консенсусном совещании было проведено пересмотр терминологии и предоставление обновленных рекомендаций ВОЗ по патологии уротелиальных карцином. Классификация ВОЗ и Международного общества урологической патологии (ISUP) 1998 года различает папиллому, папиллярную уротелиальную неоплазму низкого злокачественного потенциала (PUNLMP) и карциномы низкой степени злокачественности (LG) и высокой степени злокачественности (HG).

Система ВОЗ 2016 года основана на классификации ВОЗ/ISUP 1998 года и классификации ВОЗ 2004 года, которая уточнила критерии ВОЗ/ISUP 1998 года. Согласно системе ВОЗ 2016 года, опухоли pTa и pT1 классифицируются как LG и HG, и все инвазивные уротелиальные карциномы детрузорной мышцы считаются опухолями HG. Опухоли pTa не проникают в собственную пластинку (нет лимфоваскулярной инвазии и отдаленных метастазов). Однако опухоли pT1 растут под базальной мембраной в собственную пластинку, и в этих случаях можно увидеть лимфоваскулярную инвазию и метастазы. Во многих случаях патологи идентифицируют опухоли pT1 как опухоли HG, независимо от их атипии [105, 106].

Не существует надежных скрининговых тестов для выявления рака мочевого пузыря; поэтому диагноз обычно ставится на основании клинических признаков и симптомов. Микроскопическая или макроскопическая безболезненная гематурия является наиболее распространенным проявлением, а исследование гематурии у бессимптомного пациента выявляет новообразование мочевого пузыря примерно в 20% макроскопических и 5% микроскопических случаев [107, 108].

В настоящее время определение общепринятых критериев стадии рака мочевого пузыря, таких как глубина инвазии опухоли, степень дифференцировки клеток, поражение регионарных лимфатических узлов для прогноза, не всегда приводит к положительному результату лечения. Это подтверждается и анализом отдаленных результатов лечения больных с той же диагностированной стадией рака мочевого пузыря. У некоторых больных после органосохраняющей операции наступает благоприятный исход, а у других быстро развивается рецидив и прогрессирование опухоли [109].

Цистоскопия является необходимой процедурой для диагностики и лечения рака мочевого пузыря, обеспечивая прямой доступ к опухоли для биопсии, фульгурации и/или резекции. Низкозлокачественные (LG) папиллярные (Ta) опухоли могут быть надежно ликвидированы одним лечением, но более запущенное заболевание (высококачественное и/или T1) часто требует повторной резекции для полной ликвидации. После первоначальной диагностики HG Ta или T1 от 40% до 78% образцов повторной ТУР могут содержать остаточную болезнь, при этом мышечная инвазия представлена в 2% и 14% соответственно [110-113].

Карциному *in situ* (CIS) мочевого пузыря крайне сложно диагностировать. Симптомы крайне неспецифичны, а небольшие плоские поражения CIS можно легко пропустить, оставаясь, таким образом, незамеченными при стандартной цистоскопии в белом свете. Фотодинамическая диагностика (PDD) рекомендована Европейской ассоциацией урологов (EAU) в качестве диагностической процедуры при подозрении на CIS [114]. PDD представляет собой значительное улучшение урологической диагностики CIS мочевого пузыря и является превосходным методом по сравнению со стандартной цистоскопией в белом свете в случаях, когда подозревается CIS [115].

Стандартом диагностики является цистоскопия с биопсией подозрительных поражений и трансуретральной резекцией для подтверждения диагноза [106]. Ранние исследования *in vitro* и *ex vivo* продемонстрировали потенциал рамановской спектроскопии для обнаружения опухолей мочевого пузыря по увеличению содержания ДНК и холестерина и снижению содержания коллагена [92, 116]. В 2005 году Кроу и др. [117] были первой исследовательской группой, которая интегрировала волоконно-оптический зонд в рамановскую спектроскопию для дифференциации доброкачественной и злокачественной ткани мочевого пузыря *in vitro*. В 2009 году Гримберген и коллеги [118] также исследовали потенциал использования рамановской спектроскопии для диагностики ткани мочевого пузыря во время цистоскопии, изучив 107 биопсий ткани мочевого пузыря *ex vivo* с помощью эндоскопического зонда. Рамановские спектральные измерения были получены из свежих образцов ткани сразу после операции со временем интеграции 2 с. Разработанная модель PCA-LDA с перекрестной проверкой по одному исключает различия между нормальными и злокачественными тканями с чувствительностью и специфичностью 78,5% и 78,9% соответственно.

В 2010 году Драга и др. [119] были первой исследовательской группой, которая исследовала использование волоконно-оптического рамановского зонда [118] для диагностики рака мочевого пузыря *in vivo*. Рамановские спектры были получены во время трансуретральной резекции опухолей мочевого пузыря у 38 пациентов. Спектры измерялись с помощью ранее описанного высокообъемного рамановского зонда [120] с глубиной проникновения 2 мм для времени интегрирования 1-5 с. Авторы обнаружили значительный пик при 875 см^{-1} в спектрах нормальных тканей мочевого пузыря, которые можно было бы отнести к гидроксипролину, важному молекулярному компоненту коллагена. Кроме того, спектры рака

также показали значительные повышенные пики при волновых числах 1003, 1208, 1580 и 1601 см^{-1} и 1208, 1548 и 1617 см^{-1} , которые можно было бы отнести к аминокислотам фенилаланин и триптофан соответственно. Спектры рака мочевого пузыря были значительно выражены повышенной интенсивностью волновых чисел 680, 789, 1180, 1580 и 1610 см^{-1} , что, скорее всего, было обусловлено нуклеотидными цепями. Однако относительное увеличение содержания липидов в злокачественной слизистой оболочке *in vivo* не было установлено в противоречии с результатами [117, 121], что можно было бы объяснить влиянием спектров Рамана, собранных из более глубоких слоев из-за использования высокообъемного зонда Рамана. Для различения рака и нормальной ткани использовались PCA-LDA и перекрестная проверка с исключением одного, достигающая чувствительности 85% и специфичности 79%.

И совсем недавно, в 2012 году, Барман и др. [122] предложили использовать конфокальный волоконно-оптический рамановский зонд для повышения специфичности (с точки зрения дискриминации глубины ткани) для диагностики рака мочевого пузыря. Конфокальный зонд был разработан путем размещения отверстия в зонде большого объема для уменьшения глубины резкости до 280 мкм, тем самым подавляя спектральную информацию из окружающих областей и из более глубоких слоев ткани за пределами области интереса. Все спектры были предварительно обработаны, и диагностические алгоритмы были разработаны с использованием PCA и логистического регрессионного анализа вместе с перекрестной проверкой с исключением по одному. Зонд большого объема показал чувствительность 85,7% и специфичность 85,7%, тогда как конфокальный зонд имел чувствительность 85,7% и специфичность 100%. Значительное увеличение значений специфичности конфокального зонда по сравнению с зондом большого объема было связано с меньшими значениями глубины резкости, что дает этому конкрет-

ному устройству преимущество при применении рамановских зондов для диагностики патологии мочевого пузыря *in vivo* в режиме реального времени.

В 2018 году Чен и др. [123] внедрили систему рамановских датчиков с низким разрешением волоконной оптики для различения различных патологий мочевого пузыря. С помощью специально обученной и перекрестно проверенной модели классификации PCA-ANN была получена общая диагностическая точность 93,1% для определения нормальных, низкосортных и высокосортных тканей мочевого пузыря.

Бовенкамп и др. [124] продемонстрировали применимость RS-OCT для улучшенной диагностики, эффективного стадирования и классификации рака мочевого пузыря путем связывания дополнительной информации, предоставляемой любым из методов. OCT хорошо различает уротелий, собственную пластинку и мышечный слой, которые специфически идентифицируют патологическую дегенерацию ткани. Рамановская спектроскопия определяет молекулярные характеристики с помощью точечных измерений в подозрительных местах. Было показано, что OCT дифференцирует здоровые и злокачественные ткани с точностью 71% при стадировании опухолей, а рамановская спектроскопия дала точность 93% при различении низкосортных и высокосортных поражений.

2.8 Рак желудка и пищевода

Рак желудка (рак кардиальной и некардиальной части желудка в совокупности) остается серьезной формой рака во всем мире и является причиной более 1 000 000 новых случаев в 2018 году и приблизительно 783 000 смертей (что эквивалентно 1 каждой 12 смерти в мире), что делает его пятым по частоте диагностируемым видом

рака и третьей ведущей причиной смерти от рака. Рак пищевода является восьмым по частоте раком с мировым показателем заболеваемости более 572 034 (3,2% от общего числа случаев) и уровень смертности 508 585 (5,3% от общего числа случаев смерти от рака) [1]. Адаптировав конструкции волоконно-оптических рамановских зондов для эндоскопической совместимости, многие исследовательские группы смогли провести измерения *in situ* этих мишеней заболевания (таблица 3). В 2008 году Тех и др. [125, 126] изучили 73 образца ткани желудка от 53 пациентов и обнаружили, что пики Рамана при 875 и 1745 см^{-1} являются двумя наиболее значимыми признаками для различения рака желудка от нормальной ткани. Сообщалось о чувствительности 90% и специфичности 95% между раковой и здоровой тканью. В последующих исследованиях была продемонстрирована чувствительность 94% и специфичность 96,3% для различения диспластической ткани желудка с помощью узкополосной рамановской эндоскопии с визуальным контролем, связанной с моделью PCA-LDA [127]. Точность прогнозирования была оценена как 88, 92 и 94% для нормального желудка, а также для аденокарциномы желудка кишечного и диффузного типа соответственно [127]. Бергхольт с соавторами выполнили *in vivo* исследования для диагностики дисплазии желудка при пищеводе Барретта [128, 129], предраковых и злокачественных поражений в верхних отделах желудочно-кишечного тракта [130], язв в желудке [131], дисплазии и неоплазии желудка [132], кишечной метаплазии, инфекции *Helicobacter pylori* и аденокарциномы [133].

Рамановские спектры желудочной ткани содержат большой вклад триглицерида (основные пики при 1078, 1302, 1445, 1652 и 1745 см^{-1}), что отражает исследование подкожного жира в стенке желудка [131, 132]. Заметные изменения рамановских спектров наблюдаются в рамановских пиках 875, 936, 1004, 1078, 1265, 1302, 1335, 1445, 1618, 1652 и 1745 см^{-1} между различными патологиями

тканей из-за основных патологических особенностей, таких как повышение регуляции митотической и протеомной активности, увеличение содержания ДНК и относительное снижение липидов, а также начало ангиогенеза, приводящего к неоваскуляризации в ткани [134, 135]. Было показано, что диагностические возможности могут быть оптимизированы путем объединения ближней инфракрасной автофлуоресценции с рамановской спектроскопией [135]. Всего 1 098 образцов нормальной ткани и 140 образцов раковой ткани желудка от 81 пациента были измерены со спектральным временем получения 0,5 с. Дифференциация между раком желудка и нормальной тканью была достигнута с чувствительностью 97,9% и специфичностью 91,5%. Было предложено и протестировано несколько вероятностных моделей для диагностики *in vivo* в режиме реального времени и прогнозирования патологии: PLS-DA [136], PCA-LDA [126, 135], ACO-LDA [130], CART [125]. Моделирование PLS-DA обеспечило прогностическую точность 80,0% [136], что предполагает, что рамановская эндоскопия с интеграцией диагностической структуры в режиме реального времени может быть диагностическим скрининговым инструментом для идентификации рака желудка *in vivo* в режиме реального времени.

Это было продемонстрировано, что получение как отпечатков пальцев, так и областей с высоким волновым числом спектра Рамана значительно улучшило обнаружение неоплазии пищевода [137] и желудочно-кишечной метаплазии [130] *in vivo* в сравнении с каждым регионом в отдельности. Всего было включено 157 пациентов. Модель PCA-LDA с исключением одного участка ткани, перекрестной проверкой на спектрах Рамана *in vivo* тканей дала диагностическую чувствительность 89,3%, 89,3% и 75,0%; специфичность 92,2%, 84,4% и 82,0% соответственно, с использованием интегрированных методов Рамана FP/HW, FP и HW для идентификации кишечной метаплазии из нормальной желудочной ткани. Ван и др. [138] достигли диагностической точности 93,0% (чувствитель-

ности 92,5%; специфичности 93,1%) для дифференциации дисплазии желудка от нормальной ткани желудка с использованием скошенного волоконно-оптического рамановского зонда, что превзошло диагностические характеристики (точность 88,4%; чувствительность 85,8%; специфичность 88,6%) при использовании объемного рамановского зонда.

Оптические свойства желудка и пищевода, измеренные в спектральном диапазоне от 300 до 1140 нм в [113], представлены в таблице 8. Отчетливо видно, что поглощение света в здоровых тканях (как желудка, так и пищевода) преобладает над поглощением в опухолевых тканях (аденокарцинома и плоскоклеточный рак). При этом рассеивающие свойства этих тканей сопоставимы во всем диапазоне длин волн.

Таблица 8 – Оптические свойства тканей опухоли желудка/пищевода, измеренные *in vitro* [138]

Биоткань	λ , нм	μ_a , см ⁻¹	μ_s , см ⁻¹	τ	μ_s' , см ⁻¹
1	2	3	4	5	6
Желудок (здоровый)/ аденокарцинома (n = 21)	300	44,14/33,10	233,4/231,7	0,752/0,807	57,9/44,7
	350	40,26/14,90	196,1/213,8	0,825/0,857	34,3/30,5
	400	72,37/19,72	192,6/186,6	0,871/0,889	24,8/20,6
	450	39,56/14,40	152,1/163,8	0,900/0,910	15,2/14,7
	500	9,13/3,89	155,7/156,2	0,918/0,923	12,8/11,9
	550	17,60/4,35	139,3/142,9	0,929/0,932	9,9/9,7
	600	6,18/2,63	138,9/134,4	0,936/0,937	8,9/8,4
	650	3,10/1,50	139,5/126,0	0,941/0,941	8,2/7,5
	700	2,46/0,91	134,8/118,9	0,943/0,943	7,6/6,8
	750	1,52/0,21	122,7/107,6	0,945/0,944	6,7/5,9
	800	0,98/0,19	113,4/96,8	0,946/0,945	6,1/5,3
	850	0,49/0,18	104,2/88,9	0,947/0,946	5,5/4,8
	900	0,51/0,15	81,9/69,1	0,947/0,946	4,3/3,7
	950	0,37/0,17	84,6/69,2	0,948/0,947	4,4/3,7
	1000	0,27/0,10	82,3/66,0	0,948/0,947	4,3/3,5
	1050	0,22/0,20	80,1/62,8	0,948/0,947	4,2/3,3
	1100	0,19/0,27	76,8/60,3	0,948/0,947	4,0/3,2
	1140	0,15/0,21	75,3/89,2	0,948/0,947	3,9 /4,7

1	2	3	4	5	6
Пищевод (здоровый)/ плоскоклеточный рак (n = 15)	300	37,22/36,53	224,5/229,3	0,811/0,827	42,5/39,7
	350	28,35/15,67	192,5/189,3	0,870/0,875	25,0/23,6
	400	43,18/22,41	165,9/166,3	0,903/0,899	16,2/16,8
	450	34,27/16,38	151,6/137,6	0,921/0,910	12,0/12,3
	500	5,49/2,77	147,2/129,6	0,931/0,916	10,2/10,9
	550	11,61/5,80	131,1/109,7	0,936/0,918	8,4/8,9
	600	4,69/2,82	127,6/97,9	0,939/0,920	7,8/7,9
	650	2,05/1,41	122,0/89,4	0,941/0,920	7,2/7,1
	700	1,97/1,04	114,7/80,0	0,942/0,921	6,7/6,3
	750	0,93/1,04	103,8/73,3	0,942/0,921	6,0/5,8
	800	0,94/1,04	94,4/66,5	0,943/0,921	5,4/5,3
	850	1,14/0,85	86,4/60,5	0,943/0,921	4,9/4,8
	900	1,14/0,83	69,8/50,6	0,943/0,921	4,0/4,0
	950	1,14/1,03	68,7/48,5	0,943/0,921	3,9/3,8
	1000	0,86/1,04	66,1/46,6	0,943/0,921	3,8/3,7
	1050	0,93/0,83	63,6/43,2	0,943/0,921	3,6/3,4
	1100	1,14/1,04	60,5/40,4	0,943/0,921	3,4/3,2
	1140	1,15/0,83	58,9/40,2	0,943/0,921	3,4/3,2

2.9 Рак полости рта

Глобальный показатель заболеваемости раком полости рта составляет 354 864 (2,0% от общего числа случаев), смертность 177 384 (1,9% от общего числа случаев смерти от рака) [1]. Они в основном связаны с употреблением табака и алкоголя, которые влияют на всю слизистую оболочку верхних отделов пищеварительного тракта, что приводит к молекулярным изменениям, которые могут прогрессировать в дальнейшем в карциномы. Диагностика рака полости рта обычно проводится с использованием биопсии и гистопатологии ткани [139]. Первое исследование *in vivo* вариаций участков в полости рта человека было проведено Гузом и др. [140] в области высоких волновых чисел и Бергхолтом и др. [141] в области отпечатков пальцев. Было обнаружено,

что рамановский сигнал не зависит от пола или этнической принадлежности [140], однако межанатомическая изменчивость значительна и должна рассматриваться как важный параметр при интерпретации и визуализации диагностических алгоритмов для диагностики и характеристики тканей полости рта [141]. Сингх и др. [142, 143] сообщили о различении нормального контроля, предраковых и раковых участков с точностью прогнозирования от 75 до 98% в зависимости от локализации рака полости рта у курящей и некурящей популяции. Кришна и др. [58] исследовали классификацию между спектрами, полученными из нескольких нормальных участков 28 здоровых добровольцев и 171 пациента с поражениями полости рта. Используя основанный на вероятности многоклассовый диагностический алгоритм, каждый тип ткани полости рта (плоскоклеточная карцинома, подслизистый фиброз, лейкоплакия и нормальная слизистая оболочка) был правильно классифицирован в 89%, 85%, 82% и 85% случаев соответственно.

Саху и др. [144] исследовали влияние анатомических различий между подсайтами на здоровую и патологическую классификацию, изучая рамановские спектры, полученные от 85 пациентов с раком полости рта и 72 здоровых субъектов. Средние спектры показали преобладание липидов в здоровой слизистой оболочке щек, вклад как липидов, так и белков в губу, в то время как основное доминирование белка было обнаружено в спектрах языка. От здоровой к опухолевой наблюдались изменения во вторичной структуре белка, ДНК и связанных с гемом особенностях. PC-LDA с последующим LOOCV дали общую классификацию 98%, 54%, 29% и 67% для здоровых, контралатеральных нормальных, предраковых и злокачественных состояний.

Амелинк и др. [145] исследовали физиологические различия между нормальной и опухолевой (плоскоклеточный рак) слизистой оболочкой полости рта и установили, что насыщение кислородом составило $(95\pm5)\%$ для нормальной ткани и $(81\pm21)\%$ для плоскоклеточного рака; диаметр сосудов составил 24 ± 14 $\mu\text{м}$ для нормальной ткани и 25 ± 12 $\mu\text{м}$ для плоскоклеточного рака, а объемная доля крови была равна $(1,0\pm0,9)\%$ для нормальной ткани и $(2,2\pm2,3)\%$ для плоскоклеточного рака.

2.10 Рак печени

Глобальный показатель заболеваемости раком печени составляет 841 080 (4,7% от общего числа случаев), а смертность – 781 631 (8,2% от общего числа случаев смерти от рака) [1]. Хирургическое вмешательство часто показано как потенциальное лечение рака печени, выявленного на ранних стадиях. Высокоспециализированные ткани печени регулируют широкий спектр биохимических реакций большого объема и характеризуются сильной фоновой автофлуоресценцией, которая подавляет сигнал рамановского рассеяния в области отпечатков пальцев. Для рамановского возбуждающего лазера с длиной волны 785 нм возможность восстановления спектральной сигнатуры из объемных образцов печени с достаточным отношением сигнал/шум для интерпретации была достигнута только из областей с высоким волновым числом [146]. Поэтому большинство исследований злокачественных новообразований печени проводились на клеточных линиях и тонких срезах ткани, где использование конфокальной геометрии сбора снижало автофлуоресценцию [147, 148]. Например, Толстик и др. [147] сообщили о точном многомерном разделении PCA-SVM двух типов клеток гепатоцеллюлярной карциномы с помощью спектрального паттерна распознавания с пиковыми интенсивностями при 2900–2850, 1655,

1440, 1304, 1266 и 1060 см^{-1} . Результаты подтвердили, что множество молекулярных различий скрыто в липидах и связано с определенными волновыми числами ненасыщенных жирных кислот.

Пенс и др. [149] сообщили об использовании дисперсионной рамановской системы 1064 нм с использованием малолуминой матрицы индий-галлий-арсенида (InGaAs) для различения высокоавтофлуоресцентных объемных образцов ткани *ex vivo* от здоровой печени, аденокарциномы и гепатоцеллюлярной карциномы. Полученные спектры были объединены с многомерным алгоритмом дискриминации, разреженной мультиномиальной логистической регрессией (SMLR), для прогнозирования принадлежности к классу здоровых и больных тканей, и были извлечены спектральные полосы, выбранные для надежной классификации. Эти спектральные полосы включали ретинол, гем, биливердин или хиноны (1595 см^{-1}); молочную кислоту (838 см^{-1}); коллаген (873 см^{-1}); и нуклеиновые кислоты (1485 см^{-1}). Достигнута 100% чувствительность и 89% специфичность при классификации нормальных и опухолевых состояний.

Холангиокарцинома (ХК) – группа злокачественных опухолей, возникающих из эпителия желчных протоков. Согласно классификации ВОЗ [150], термин «холангиокарцинома» зарезервирован для карцином, возникающих во внутриспеченочных желчных протоках. Прогноз этой злокачественной опухоли неутешителен из-за ее бессимптомного клинического характера, трудностей ранней диагностики и ограниченных терапевтических подходов.

ХК является наиболее распространенной злокачественной опухолью желчных путей, обнаруживаемой в эпителиальных клетках желчных протоков, и второй по частоте первичной опухолью печени [151]. В зависимости от анатомической локализации ХК классифицируется как внутриспеченочная ХК или внепеченочная ХК, включая перихилирную ХК и дистальную ХК. Классификация Bismuth-Corlette обеспечивает предоперационную оценку местного распространения. Анатомическими границами для различения

внутри- и внепеченочных ХК являются желчные протоки второго порядка [152].

Японская группа по изучению рака печени предложила 2000-ановую классификацию, основанную на характеристиках роста (морфологических), которая определяется как тип формирования массы, перидуктально-инфильтрирующий и внутрипротоковый тип роста [153].

Внутрипеченочная ХК – это первичное злокачественное новообразование печени, возникающее из эпителиальных клеток дистальной ветви внутрипеченочного желчного протока [154]. Частота внутрипеченочной ХК имеет широкую географическую вариацию и обычно составляет от 5 до 30% первичных раков печени [155-157]. Примерно 67% ХК являются перихилиарными.

Дистальные ХК – это те, которые возникают в среднем или дистальном желчном протоке. Они потенциально поддаются панкреатодуоденэктомии.

Классификация злокачественных опухолей (TNM) Американского объединенного комитета по борьбе с раком и Международного союза по борьбе с раком применяется ко всем первичным карциномам печени, включая гепатоцеллюлярные карциномы, карциномы внутрипеченочных желчных протоков и смешанные опухоли [158].

Внутрипеченочный рак печени возникает из внепеченочных желчных протоков (правого и левого печеночных протоков в месте их соединения или вблизи него) и считается внепеченочной карциномой [159].

В большинстве периферических ХК в печени обнаруживаются твердые, компактные и серовато-белые массивные или узловые поражения. Они могут расти внутри расширенного просвета желчного протока или демонстрировать инфильтративный рост вдоль ножки воротной вены. Обычно опухоли невелики по сравнению со всей печенью. Кровоизлияния и некроз встречаются нечасто, а связь с

циррозом встречается лишь изредка. Опухоль, расположенная сразу под капсулой печени, показывает пупковидное вдавление, как при метастатическом раке печени.

В большинстве случаев гилярных ХК опухоль инфильтрирует и пролиферирует вдоль внепеченочного желчного протока, который в большинстве случаев утолщен. Массовое образование может быть минимальным, и может наблюдаться утолщение и расширение портальной области. Инфильтрация в печени имеет древовидный вид. В большинстве случаев также наблюдается обширная паренхиматозная инфильтрация [160].

В настоящее время хирургическая резекция остается наиболее эффективным методом лечения внутripеченочной ХК [161]. Прогноз для пациентов с этим заболеванием остается неутешительным, несмотря на достижения в оперативном и неоперативном лечении [162]. Положительный край резекции желчных протоков коррелирует с более высокой частотой местных рецидивов и плохим прогнозом, а его роль аналогична положительному лимфатическому узлу [163].

Однако из-за нечеткой симптоматики большинство пациентов к моменту постановки диагноза находятся на поздней стадии, и только около трети пациентов подходят для хирургической резекции [164]. В результате общий исход внутripеченочной ХК остается крайне неблагоприятным, при котором у пациентов, которые не могут быть подвергнуты хирургической резекции, выживаемость в течение 5 лет составляет менее 10%. Более того, сообщаемые результаты после резекции печени также не являются оптимистичными, с 5-летней выживаемостью от 30 до 35% [165].

Основной причиной неудовлетворительных результатов хирургического лечения является высокая частота послеоперационных внутripеченочных рецидивов рака печени, при которых более

чем у 60% пациентов впоследствии после резекции печени может развиваться рецидив рака.

Самое раннее описание ХК желчных протоков без пальпируемой поверхностной массы печени при лапаротомии было описано Сэнфордом в 1952 году [166]. Цушими и др. выдвинули гипотезу, что СС, возникающий внутри желчных протоков, был вызван эктопической тканью печени [167].

2.11 Рак щитовидной железы

Рак щитовидной железы является причиной 567 000 случаев во всем мире, занимая девятое место по заболеваемости. Глобальный показатель заболеваемости среди женщин составляет 10,2 на 100 000 в 3 раза выше, чем у мужчин; заболевание составляет 5,1% от общего предполагаемого женского бремени рака, или 1 из 20 диагнозов рака в 2018 году [1]. Диагноз обычно основывается на клинических восприятиях и тонкоигольной аспирации под контролем УЗИ, часто показывая неубедительные результаты, которые могут указывать на хирургическое вмешательство как на основное лечение в этих случаях. Поэтому необходимость биохимической характеристики щитовидной железы во время операции чрезвычайно важна. Рамановская спектроскопия может значительно ускорить диагностический процесс как до операции, так и в условиях операционной. Применимость рамановской спектроскопии для диагностики рака щитовидной железы была подтверждена в исследованиях клеточных линий [168, 169, 170]. В 2009 году Харрис и др. [168] сообщили о 95% точности идентификации раковых клеточных линий с использованием анализа нейронных сетей. О'Ди и др. [171] продемонстрировали возможность правильной классификации линий клеток, представляющих доброкачественные клетки щитовидной железы и различные подтипы рака щитовидной железы. Спектральные различия последовательно наблюдались между линиями

доброкачественных и раковых клеток, при этом самые сильные сигналы наблюдались при ~ 470 , ~ 780 , 855 , 941 , ~ 1230 , 1278 , 1343 , 1402 , 1436 , 1456 , 1571 , 1650 , 1690 и 1677 см^{-1} , что отражает значительные различия в молекулярном составе углеводов, нуклеиновых кислот, липидов, белковых структур и амидов. Для изучения возможности правильной классификации различных подтипов рака щитовидной железы была применена модель PC-LDA. Хорошо дифференцированные линии клеток папиллярной и фолликулярной карциномы щитовидной железы были обнаружены с чувствительностью $>90\%$ и специфичностью $>80\%$, хотя модель показала более низкие показатели эффективности для идентификации недифференцированных линий клеток карциномы щитовидной железы (чувствительность 77% и специфичность 73%). Рау и др. [172] продемонстрировали *ex vivo* значительное присутствие каротиноидов в папиллярной карциноме щитовидной железы по сравнению со здоровой тканью. Авторы заявили о чувствительности 93% и специфичности 100% при различении папиллярной и фолликулярной карциномы щитовидной железы с использованием комбинированных областей отпечатков пальцев и высоких волновых чисел спектров Рамана и статистической модели PC-LDA с перекрестной проверкой с исключением одного. В 2019 году Медейрос-Нето и др. [173] сравнили *in vivo* и *ex vivo* Спектры папиллярных карцином, подтверждающие эффективность метода в биохимической идентификации анализируемой ткани. Интенсивные пики, связанные с повышенным количеством ДНК, были зарегистрированы при 1017 , 991 , 829 и 810 см^{-1} (образцы *in vivo*) и при 1421 , 1324 , 828 , 810 см^{-1} (образцы *ex vivo*). Аминокислота тирозин, очень важный метаболит для правильного функционирования щитовидной железы, была подтверждена пиками при 1205 , 863 , 854 см^{-1} (*in vivo*) и при 1605 , 1206 , 863 , 853 и 828 см^{-1} (*ex vivo*). Фенилаланин, полученный в результате процесса гидроксирования и необходимый для щитовидной железы, наблюдался на

пике, расположенном на 1174 см^{-1} (*in vivo*), и на 1174 и 1103 см^{-1} (*ex vivo*), что доказывает увеличение концентрации белка в канцерогенных тканях. Другой важной наблюдаемой аминокислотой был триптофан, на 1366 и 877 см^{-1} (*in vivo*), и на 1556 , 1360 и 878 см^{-1} (*ex vivo*). Эта аминокислота важна, поскольку она участвует в выработке гормонов серотонина и мелатонина, а также фермента триптамина, которые являются веществами, ингибирующими рост опухоли.

2.12 Рак мозга

Глобальный показатель заболеваемости раком мозга составляет 296 851 (1,6% от общего числа случаев) и смертность 241 037 (2,5% от общего числа случаев смерти от рака) [1]. Рамановская спектроскопия является потенциальным методом, который может идентифицировать границы опухоли во время операции. Например, Калканис и др. [174, 175] продемонстрировали идентификацию нормального серого вещества и белого вещества из патологической глиобластомы и некроза в замороженных срезах мозговой ткани с помощью визуализации относительных концентраций 1004 , 1300 , 1344 и 1660 см^{-1} , которые в первую очередь соответствуют содержанию белков и липидов. Лесли и др. [176] исследуют применение рамановской спектроскопии для диагностики опухолей головного мозга у детей, получая рамановские спектры из свежих образцов тканей. Анализ опорных векторов использовался для классификации спектров с использованием диагностики патологии в качестве золотого стандарта. Нормальный мозг (321 спектр), глиома (246 спектров) и медуллобластома (82 спектра) были идентифицированы с точностью 96,9, 96,7 и 93,9% соответственно. Джермин и др. [177] продемонстрировали, что портативный рамановский зонд может обнаруживать раковые клетки во время операции, которые не могли быть обнаружены с помощью контрастно-усиленной и взвешенной по T1 МРТ. Глиомы были обнаружены с чувствительностью 93% и

специфичностью 91% с использованием контролируемого алгоритма классификации усиленных деревьев машинного обучения, который использовал все спектральные данные. Недавно та же исследовательская группа продемонстрировала увеличение точности обнаружения рака мозга с помощью мультимодальной оптической системы с 91% для автономного компьютера до 97% при сочетании с флуоресцентным анализом [140].

В работе [178] протестировали использование рамановской спектроскопии с высоким волновым числом в практическом волоконно-оптическом зонде, который удовлетворял строгим ограничениям миниатюризации, необходимым для прямой интеграции с коммерческой иглой для биопсии мозга. Как и ожидалось, по сравнению с серым веществом, спектр белого вещества продемонстрировал больший вклад липидов (2845 см^{-1}) и меньший вклад белков и нуклеиновых кислот (2930 см^{-1}) по сравнению с серым веществом. Эти данные продемонстрировали увеличение соотношения белок/липид для плотного рака по сравнению с нормальными образцами мозга, что согласуется с результатами [179] в образцах мозга *ex vivo*. Однако по сравнению с нормальным мозгом соотношение белок/липид в инфильтрованных образцах не показало существенных различий. Авторы показали, что спектроскопия Рамана NW может обнаруживать плотный рак человека с >60% раковых клеток *in situ* во время операции с чувствительностью и специфичностью 80% и 90%, соответственно.

Генина и соавторы [180] измерили поглощение, рассеяние, приведенные коэффициенты рассеяния и фактор анизотропии рассеяния мозговых тканей в широком спектральном диапазоне от 350 до 1800 нм (см. таблицу 6) для здоровых крыс и крыс с моделью глиобластомы C6. Мультиформная глиобластома (ГБМ) является наиболее распространенной и агрессивной формой среди всех опухолей головного мозга (степень IV по ВОЗ). Развитие глиобластомы

сопровождается следующими основными симптомами: головные боли, нарушение памяти и общей функции мозга, нарушение зрения, плохая речь, нарушение чувствительности и двигательной активности, патологические изменения поведения, потеря аппетита и т. д.

Геххарт и др. [181] исследовали оптические свойства глиомы человека, используя технику интегрирующей сферы и метод обратного сложения-удвоения в спектральном диапазоне 400-1300 нм. Астроцитому зрительного нерва и медуллобластома исследовали *in vivo* Бевилаква и др. [182] с использованием пространственно-разрешенного диффузного отражения. Поглощение и приведенные коэффициенты рассеяния различных опухолевых тканей человека (глиобластома, менингиома, олигодендроглиома и метастазы) исследовали Хонда и др. [183] с помощью двойной интегрирующей сферы и метода ИМС. Шварцмайер и др. [184] исследовали оптические свойства глиомы человека низкой (астроцитомы степени II по ВОЗ) и высокой (степень III по ВОЗ) степени с помощью техники интегрирующей сферы и метода ИМС. Оптические свойства глиомы исследовали Стеренбург и др. [185]. Ярославский и др. [186] изучали оптические свойства человеческой менингиомы и астроцитомы (степень II по классификации ВОЗ).

2.13 Рак почки

Глобальная заболеваемость раком почки ежегодно увеличивается, а причины многофакторны. Он занимает второе место среди наиболее распространенных новообразований мочевыделительной системы [187].

Почечно-клеточная карцинома (RCC) является наиболее распространенным солидным поражением в почках и составляет приблизительно 90% всех злокачественных новообразований почек и 2-3% всех видов рака, с самой высокой заболеваемостью в западных

странах [188]. Доля небольших и случайных опухолей почек значительно возросла из-за широкого использования абдоминальной визуализации. Следовательно, более 50% RCC в настоящее время обнаруживаются случайно [189]. Диагностика и подтипирование RCC обычно могут быть выполнены с помощью тщательного морфологического исследования резецированной опухоли, которое само по себе дает ценную прогностическую информацию [105]. Основными подтипами RCC являются светлоклеточный, папиллярный, хромофобный, собирательно-протоковой и неклассифицированный [190].

Наиболее частым гистологическим типом почечно-клеточного рака является светлоклеточный почечно-клеточный рак, он встречается в 75% всех первичных случаев рака почки. Папиллярный и хромофобный почечно-клеточный рак являются менее распространенными подтипами [191, 192].

Классическая светлоклеточная почечноклеточная карцинома имеет желто-коричневую поверхность среза и неоднородна из-за кровоизлияния и некроза. Макроскопически она относительно хорошо отделена от нормальной почечной ткани, но может быть риск образования микроскопических опухолевых спутников. Опухолевые клетки происходят из проксимального извитого канальца. Богатое содержание гликогена и жира в цитоплазме клеток обеспечивает четкий вид при обычном окрашивании. Но существуют также эозинофильные, саркоматоидные и смешанные образцы дифференциации.

Отличить светлоклеточный RCC от папиллярного почечноклеточного рака не так уж и сложно, но в некоторых случаях отличить RCC от других новообразований проблематично и требует дополнительных методов исследования, таких как иммуногистохимия. Иногда опухолевые клетки содержат зернистую или розовую эозинофильную цитоплазму и могут напоминать хромофобный RCC, который обычно содержит полигональные клетки с прозрачной или

сетчатой цитоплазмой, окруженной утолщенными клеточными мембранами [193].

Наиболее эффективным методом лечения почечно-клеточного рака остается хирургическая резекция опухолевой массы путем частичной или полной нефрэктомии [194]. Функциональные преимущества нефронсберегающих процедур привели к назначению частичной нефрэктомии, которая рекомендуется в качестве стандартного лечения у пациентов с опухолями T1a [195]. Не доказано, что адьювантная терапия после нефрэктомии продлевает выживаемость или имеет какую-либо существенную пользу для пациента [196].

Менее инвазивные подходы включают чрескожную радиочастотную абляцию и лапароскопически ассистированную криоабляцию. Показаниями для термической абляции обычно являются небольшие почечные массы у пожилых пациентов с сопутствующими заболеваниями, которые не могут перенести хирургическое вмешательство, а также у пациентов с двусторонними опухолями или единственной почкой [197].

Оптические свойства опухоли почки, трансплантированной крысе, были исследованы в работе [198].

2.14 Рак поджелудочной железы

Аденокарцинома поджелудочной железы (АС), 4-я по значимости причина смерти от рака в США с пятилетней выживаемостью менее 6%, часто обнаруживается на поздних стадиях развития, когда лечение неэффективно. Внутрипротоковая папиллярная муцинозная неоплазия (IPMN) является предшественником рака поджелудочной железы, характеризующимся внутрипротоковой пролиферацией неопластических клеток с продукцией муцина [199].

Ли и др. [199] измерили злокачественный предшественник поджелудочной железы человека с помощью методов отражательной и

флуоресцентной спектроскопии. Они обнаружили различия в морфологических свойствах между нормальной тканью, IPMN и AC (см. таблицу 9).

Таблица 9 – Морфологические свойства нормальной ткани, ИПМН и АК

Биоткань	Диаметр ядра	Показатель преломления	Плотность клеток, см ⁻¹	Плотность коллагена, см ⁻¹
Нормальный	8,89 ±0,13 мкм	1,372 ±0,002	(8,07 ±0,12) ×10 ⁷	(1,28 ±0,16) ×10 ⁶
ИПМН	11,50 ±0,88 мкм	1,394 ±0,004	(7,15 ±0,09) ×10 ⁷	(6,15 ±1,56) ×10 ⁶
АС	11,64 ±0,37 мкм	1,396 ±0,002	(7,21 ±0,09) ×10 ⁷	(8,58 ±0,62) ×10 ⁶

Оптические свойства нормальной и раковой поджелудочной железы были исследованы в работах [200, 201] (см. таблицу 10) с использованием метода интегрирующей сферы.

Таблица 10 – Оптические свойства тканей опухоли поджелудочной железы, измеренные *in vitro* [200, 201]

Биоткань	λ , нм	μ_a , см ⁻¹	μ_s , см ⁻¹	Γ	μ_s' , см ⁻¹
Нормальная ткань/ злокачественное новообразование поджелудочной железы (n = 8)	500	29,84/12,07	-	-	27,3/46,0
	550	11,38/6,25	-	-	27,0/20,6
	600	11,58/5,38	-	-	28,4/19,7
	650	22,17/18,1	-	-	17,1/28,3
Нейроэндокринная опухоль поджелу- дочной железы Замораживание/за- ливка в парафин	1064	0,9 ±0,1/56 ±3	130 ±1/539 ±4	0,82 ±0,01/ 0,96 ±0,01	-

2.15 Биохимическая модель рака

На сегодняшний день большинство исследований раковых тканей методом рамановской спектроскопии использовали многомерные статистические алгоритмы для описания спектральных различий спектральных данных, такие как PCA-LDA или PLS-DA. Однако основные компоненты и векторы нагрузки трудно связать с

биофизическим происхождением заболевания, таким как микроструктурная организация белков и липидов и функциональное состояние клеточного метаболизма, которые являются ключевыми характеристиками для диагностических решений патолога о соответствующем лечении рака. Поэтому несколько исследовательских групп предложили биохимические диагностические модели, извлекающие физиологически значимые маркеры из рамановских спектров тканей. Биохимическая модель выводит морфологический и биохимический состав моделируемой ткани из ее рамановского спектра. Строительными блоками модели являются рамановски активные компоненты, либо измеренные непосредственно из синтетических/очищенных химических веществ [52, 92, 116, 129, 132, 134, 202, 203-206], либо морфологически извлеченные из срезов тканей *in situ* [57, 207, 208]. В последнем случае рамановский спектрометр соединяется с микроскопом и сканируется по срезу ткани для получения рамановских изображений, которые затем можно сопоставить с последовательными срезами, окрашенными гематоксилином-эозином, для идентификации соответствующих морфологических компонентов и их рамановской сигнатуры. Компоненты *in situ* лучше представляют среду биологических тканей, которые не могут быть воспроизведены в синтетической среде. Например, коллаген может быть представлен в тканях человека во многих различных формах, каждая из которых имеет немного отличающийся рамановский спектр. Однако, если оба они включены в модель, это может привести к переобучению и нестабильным результатам [92, 205]. Кроме того, компоненты кожи, синтезированные в лаборатории или из коммерческих источников, не находятся в своем естественном состоянии. Тем не менее, преимущество использования синтетических/очищенных химикатов в качестве компонентов модели заключается в том, что их можно легко измерить с помощью

того же инструмента рамановской спектроскопии, который использовался для измерения биологического образца, что обеспечивает оценку более конкретных изменений молекулярных компонентов.

Построение биохимической модели ткани основывается на трех предположениях: во-первых, что рамановский спектр смеси равен взвешенной линейной сумме отдельных компонентов смеси; во-вторых, что биологические морфологические признаки, такие как клетки, имеют одинаковый рамановский спектр от одного пациента к другому; и, в-третьих, что базисные спектры, включенные в модель, достаточно различны, чтобы обеспечить их дифференциацию на основе их рамановского спектра [207].

При таком подходе подгонка векторных нормализованных компонентов к средним спектрам различных патологий может быть выполнена с помощью линейного анализа наименьших квадратов с неотрицательным ограничением для подгонки модели (NNLS) в соответствии со следующим уравнением:

$$X = cS + E, \quad (1)$$

где X – измеренные спектры ткани, c – матрица концентраций, которые необходимо предсказать, а S – матрица спектральных компонентов.

Это можно использовать для обеспечения линейного «наилучшего соответствия» спектральных компонентов с минимальными остатками. Здесь E дает ошибку или остаток, который в основном можно отнести к шуму в измеренном сигнале. Модель NNLS предполагает, что рамановские спектры, измеренные от ткани, представляют собой линейную комбинацию спектров ее биохимических компонентов, а интенсивность сигнала линейно масштабируется с относительной концентрацией биохимических компонентов в ткани. Биохимическая модель определяет относительные профили концентрации основных биохимических компонентов ткани, ответственных за выраженные спектральные характеристики

ткани и их изменения, связанные с прогрессированием заболевания. Если компоненты не включены, то смещение пропущенной переменной может внести некоторые ошибки в соответствие [210]. Наблюдение за остатком E позволяет наблюдать качество соответствия и включать любые оставшиеся характеристики спектров в следующую итерацию модели.

Одним из важных факторов, который может повлиять на производительность модели, является коллинеарность базисных спектров. Коллинеарность является распространенной проблемой в линейной регрессии, которая может привести к нестабильному результату [92]. Любая коллинеарность в выбранных компонентах исказит соответствие. Примером могут служить аминокислоты и содержащие их белки, используемые в одной и той же модели. Следовательно, необходимо рассчитать коэффициенты коллинеарности базисных компонентов:

$$R = \frac{x^T y}{(x^T x)(y^T y)}, \quad (2)$$

где x и y – любые два спектральных компонента, а T обозначает транспонирование соответствующих спектров. Матрица ортогональности представляет степень ортогональности между компонентами. Если значение ортогональности равно нулю, то два компонента ортогональны, а если значение ортогональности равно единице, то два компонента идентичны. Например, ДНК и РНК имеют значение ортогональности, близкое к 1. Как обычно, это уравнение используется для начальной оценки компонентов модели.

Выбор биохимических веществ, используемых в модели, в основном основан на их известном присутствии в соответствующей ткани и вкладе, который они могли бы дать в наблюдаемый спектр ткани. Например, Стоун и др. [92] диагностировали рак мочевого пузыря и простаты путем количественной оценки различий в активине, коллагене, холине, триолеине, олеиновой кислоте, холесте-

рине и ДНК, оценивая общие биохимические изменения при каждой патологии. Де Йонг и др. [116] продемонстрировали, что спектры нормальной ткани мочевого пузыря показали более высокое содержание коллагена, тогда как спектры опухолевой ткани характеризовались более высоким содержанием липидов, нуклеиновых кислот, белков и гликогена. Хака и др. [208] использовали биохимическую модель для корреляции изменений количества жира (адипоцитов), коллагена, холестерина и оксалата кальция в ядре клетки и цитоплазме с целью диагностики рака молочной железы *in vivo*.

Хуан и др. [134] разработали биохимическую модель для эффективной диагностики рака желудка, включающую восемь референтных компонентов ткани (актин, альбумин, коллаген типа I, ДНК, гистоны, триолеин, пепсиноген и фосфатидилхолин). Авторы показали, что альбумин, нуклеиновая кислота, фосфолипиды и гистоны оказались наиболее значимыми признаками для диагностики эпителиальной неоплазии желудка, что привело к общей точности 93,7%.

В 2011 году Бергхольт и др. [132] на основе NNLS-анализов более 35 базисных референтных спектров Рамана, полученных из различных биомолекул, связанных с тканью ЖКТ (например, актин, альбумин, пепсин, пепсиноген, В-NADH, РНК, ДНК, миозин, гемоглобин, коллаген I, коллаген II, коллаген V, муцин 1, муцин 2, муцин 3, флавины, эластин, фосфатидилхолин, холестерин, глюкоза, гликоген, триолеин, гистоны, бета-каротин и т. д.), показали, что следующие пять биохимических веществ, а именно актин, гистоны, коллаген типа I, ДНК и триолеин, являются наиболее значимыми рамановски активными биохимическими компонентами, которые могут эффективно характеризовать ткани желудка и пищевода с очень малыми остатками соответствия. Например, ДНК представляла собой нуклеиновые кислоты в ядре клетки; триолеин представлял собой типичные липидные сигналы; Актин и гистоны напоминали белки разных конформаций и были основными компонентами цитоскелета и хроматина соответственно, тогда как коллаген типа I

был существенной частью внеклеточного матрикса [53, 92, 134]. В последующем исследовании [111] авторы добавили в модель гликоген, который был представлен в плоском эпителии.

Сравнение средних измеренных *in vivo* спектров комбинационного рассеяния и реконструированных спектров комбинационного рассеяния различных нормальных и раковых тканей показано на рисунке 7 и показывает хорошее соответствие (с остатком менее 10%) [132]. Диагностическая чувствительность рака ЖКТ составляет 97,0%, а специфичность – 95,2% [129, 202].

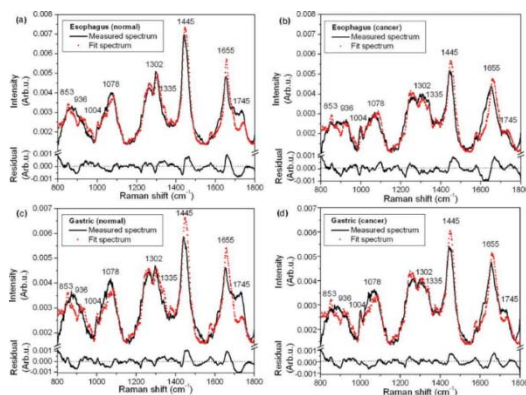


Рисунок 7 – Сравнение измеренных *in vivo* спектров Рамана с реконструированными спектрами Рамана тканей с использованием пяти базовых референтных спектров Рамана: (а) нормальный пищевод, (б) рак пищевода, (с) нормальный желудок, (д) рак желудка. Остатки (измеренный спектр минус подогнанный спектр) также показаны на каждом графике [132]

Шестикомпонентная биохимическая модель показала, что неопластическая ткань в основном была связана с уменьшением актина, коллагена, липидов и гликогена, в то время как концентрация ДНК и гистонов увеличилась [129]. Более конкретно, было обнаружено значительное увеличение коэффициента соответствия ДНК

(тесно связанного с рамановским пиком 1335 см^{-1}) и гистонов (связанного с амидом III при 1265 см^{-1} и амидом I (C=O) валентными колебаниями при 1655 см^{-1}), относительное снижение актина, который представлял основную часть рамановского сигнала, исходящего из цитоплазмы клеток. Это отражало увеличение соотношения ядра к цитоплазме неопластических клеток, что было хорошо известным качественным индикатором злокачественных новообразований, используемым патологами. Было отмечено, что коэффициент соответствия коллагена, представляющего внеклеточный матрикс, был ниже для раковой ткани по сравнению с нормальной тканью. Модель также выявила значительное снижение коэффициентов соответствия липидов (связанное с рамановскими пиками 1078 , 1302 , 1445 , 1745 см^{-1}) и снижение гликогена в раковой ткани, связанное с аномальным метаболизмом глюкозы в раковых клетках [205].

2.16 Список использованной литературы по главе 2

1. Tuchin, VV, Popp J, & Zakharov V (Eds.). (2020). Multimodal optical diagnostics of cancer. Springer Nature.
2. Sun J, Garfield DH, Lam B et al (2011) The value of autofluorescence bronchoscopy combined with white light bronchoscopy compared with white light alone in the diagnosis of intraepithelial neoplasia and invasive lung cancer: a metaanalysis. *J Thorac Oncol* 6(8):1336–1344 (2011). <https://doi.org/10.1097/JTO.0b013e318220c984>
3. Huang Z, McWilliams A, Lui H et al (2003) Near-infrared Raman spectroscopy for optical diagnosis of lung cancer. *Int J Cancer* 107:1047-1052. <https://doi.org/10.1002/ijc.11500>
4. Zakharov VP, Bratchenko IA, Artemyev DN et al (2015) Comparative analysis of combined spectral and optical tomography methods for detection of skin and lung cancers. *J Biomed Opt* 20(2):025003. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.20.2.025003>

5. Abramczyk H, Brozek-Pluska B, Surmacki J et al (2011) The label-free Raman imaging of human breast cancer. *J Mol Liq* 164(1–2):123–131
6. Magee ND, Villaumie JS, Marple ET et al (2009) Ex vivo diagnosis of lung cancer using a Raman miniprobe. *J Phys Chem B* 113(23):8137–8141. <https://doi.org/10.1021/jp900379w>
7. Short MA, Lam S, McWilliams A et al (2008) Development and preliminary results of an endoscopic Raman probe for potential in vivo diagnosis of lung cancers. *Opt Lett* 33:711–713. <https://doi.org/10.1364/OL.33.000711>
8. Barman I, Dingari NC, Saha A et al (2013) Application of Raman spectroscopy to identify microcalcifications and underlying breast lesions at stereotactic core needle biopsy. *Cancer Res* 73:3206–3215. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-12-2313>
9. McGregor HC, Short MA, McWilliams A et al (2016) Real-time endoscopic Raman spectroscopy for in vivo early lung cancer detection. *J Biophotonics* 10: 98–110. <https://doi.org/10.1002/jbio.201500204>
10. McGregor HC, Short MA, Lam S et al (2018) Development and in vivo test of a miniature Raman probe for early cancer detection in the peripheral lung. *J Biophotonics* 11(11):e201800055. <https://doi.org/10.1002/jbio.201800055>
11. Burns DM (2000) Primary prevention, smoking, and smoking cessation: implications for future trends in lung cancer prevention. *Cancer* 89(11 Suppl):2506–2509
12. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL et al (2018) Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: guideline from the college of American pathologists. The International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *J Mol Diagn* 20(2):129–159

13. Cagle PT, Allen TC, Olsen RJ (2013) Lung cancer biomarkers: present status and future developments. *Arch Pathol Lab Med* 137(9):1191-1198
14. Rajdev K, Siddiqui AH, Ibrahim U et al (2018) An unusually aggressive large cell carcinoma of the lung: undiagnosed until autopsy. *Cureus* 10(2):e2202
15. Honda N, Ishii K, Terada T et al (2011) Determination of the tumor tissue optical properties during and after photodynamic therapy using inverse Monte Carlo method and double integrating sphere between 350 and 1000 nm. *J Biomed Opt* 16(5):058003
16. Qu J, MacAulay C, Lam S et al (1994) Optical properties of normal and carcinomatous bronchial tissue. *Appl Opt* 33(31):7397-7405
17. Fishkin JB, Coquoz O, Anderson ER et al (1997) Frequency-domain photon migration measurements of normal and malignant tissue optical properties in a human subject. *Appl Opt* 36(1):10-20
18. Fawzy YS, Petek M, Tercelj M et al (2006) In vivo assessment and evaluation of lung tissue morphologic and physiological changes from non-contact endoscopic reflectance spectroscopy for improving lung cancer detection. *J Biomed Opt* 11(4):044003
19. Genova Ts, Borisova E, Zhelyazkova A et al (2016) Colorectal cancer stage evaluation using synchronous fluorescence spectroscopy technique. *Opt Quant Electronics* 48(8):378. <https://link.springer.com/article/10.1007/s11082-016-0634-7>
20. Jain RK (1988) Determinants of tumor blood flow: A review. *Cancer Res* 48(10):2641-2658
21. Höckel M, Vaupel P (2001) Tumor hypoxia: Definitions and current clinical biologic. and molecular aspects. *J Natl Cancer Inst* 93(4):266-276. <https://doi.org/10.1093/jnci/93.4.266>
22. Johnson JM, Dalton RR, Wester SM et al (1999) Histological correlation of microcalcifications in breast biopsy specimens. *Arch Surg* 134(7):712-716. <https://doi.org/10.1001/archsurg.134.7.712>

23. Vos EL, Siesling S, Baaijens MHA et al (2017) Omitting re-excision for focally positive margins after breast-conserving surgery does not impair disease-free and overall survival. *Breast Cancer Res Treat* 164(1):157–167. <https://doi.org/10.1007/s10549-017-4232-6>
24. Frank CJ, McCreery RL, Redd DCB (1995) Raman spectroscopy of normal and diseased human breast tissues. *Analytical Chemistry* 67(5):777–783. <https://doi.org/10.1021/ac00101a001>
25. Rehman S, Movasaghi Z, Tucker AT et al (2007) Raman spectroscopic analysis of breast cancer tissues: identifying differences between normal, invasive ductal carcinoma and ductal carcinoma in situ of the breast tissue. *J Raman Spectrosc* 38:1345–1351. <https://doi.org/10.1002/jrs.1774>
26. Haka AS, Shafer-Peltier KE, Fitzmaurice M et al (2002) Identifying microcalcifications in benign and malignant breast lesions by probing differences in their chemical composition using Raman spectroscopy. *Cancer Res* 62:5375–5380
27. Cicerone MT, Camp CH (2017) Histological coherent Raman imaging: a prognostic review. *Analyst* 143(1):33–59. <https://doi.org/10.1039/c7an01266g>
28. Saha A, Barman I, Dingari NC et al (2011) Raman spectroscopy: a real-time tool for identifying microcalcifications during stereotactic breast core needle biopsies. *Biomed Opt Exp* 2:2792–2803
29. Haka AS, Volynskaya Z, Gardecki JA et al (2009) Diagnosing breast cancer using Raman spectroscopy: prospective analysis. *J Biomed Opt* 14(5):054023. <https://doi.org/10.1117/1.3247154>
30. Haka AS, Volynskaya Z, Gardecki JA et al (2006) In vivo margin assessment during partial mastectomy breast surgery using Raman spectroscopy. *Cancer Res* 66(6):3317–3322. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-05-2815>
31. Li Q, Gao Q, Zhang G (2014) Classification for breast cancer diagnosis with Raman spectroscopy. *Biomed Opt Exp* 5(7):2435–2445. <https://doi.org/10.1364/BOE.5.002435>

32. Brożek-Pluska B, Placek I, Kurczewski K et al (2008) Breast cancer diagnostics by Raman spectroscopy. *J Mol Liq* 141(3):145–148. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2008.02.015>
33. Abramczyk H, Brozek-Pluska B, Surmacki J et al (2012) Raman “optical biopsy” of human breast cancer. *Progr Biophys Mol Biol*. 108(1–2):74–81
34. Zhang Y, Chen Y, Yu Y et al (2013) Visible and near-infrared spectroscopy for distinguishing malignant tumor tissue from benign tumor and normal breast tissues in vitro. *J Biomed Opt* 18(7):077003
35. Peters VG, Wyman DR, Patterson MS et al (1990) Optical properties of normal and diseased human breast tissues in the visible and near infrared. *Phys Med Biol* 35(9):1317-1334
36. Fantini S, Walker SA, Franceschini MA et al (1998) Assessment of the size, position, and optical properties of breast tumors in vivo by noninvasive optical methods. *Appl Opt* 37(10):1982-1989
37. Grosenick D, Wabnitz H, Moesta KT et al (2005) Time-domain scanning optical mammography: II. Optical properties and tissue parameters of 87 carcinomas. *Phys Med Biol* 50:2451-2468
38. Cerussi A, Shah N, Hsiang D et al (2006) In vivo absorption, scattering, and physiologic properties of 58 malignant breast tumors determined by broadband diffuse optical spectroscopy. *J Biomed Opt* 11(4):044005
39. Zhu C, Palmer GM, Breslin TM et al (2006) Diagnosis of breast cancer using diffuse reflectance spectroscopy: comparison of a Monte Carlo versus partial least squares analysis based feature extraction technique. *Lasers Surg Med* 38:714-724
40. Zhu C, Palmer GM, Breslin TM et al (2008) Diagnosis of breast cancer using fluorescence and diffuse reflectance spectroscopy: a Monte-Carlo-model-based approach. *J Biomed Opt* 13(3):034015
41. Konovalov AB, Genina EA, Bashkatov AN (2016) Diffuse optical mammotomography: state-of-the-art and prospects. *J Biomed Photon & Eng* 2(2):020202

42. Sassaroli A, Martelli F (2012) Equivalence of four Monte Carlo methods for photon migration in turbid media. *J Opt Soc Am A* 29(10):2110-2117
43. Tromberg BJ, Shah N, Lanning R et al (2000) Non-invasive in vivo characterization of breast tumors using photon migration spectroscopy. *Neoplasia* 2(1-2):26-40
44. Nachabe R, Evers DJ, Hendriks BHW et al (2011) Diagnosis of breast cancer using diffuse optical spectroscopy from 500 to 1600 nm: comparison of classification methods. *J Biomed Opt* 16(8):087010
45. Grosenick D, Rinneberg H, Cubeddu R et al (2016) Review of optical breast imaging and spectroscopy. *J Biomed Opt* 21(9):091311
46. Siegel RL, Miller KD, Jemal A (2019) Cancer statistics. 2019. CA: A Cancer J for Clinicians 69:7-34. doi:10.3322/caac.21551
47. Gniadecka M, Philipsen PA, Wessel S et al (2004) Melanoma diagnosis by Raman spectroscopy and neural networks: structure alterations in proteins and lipids in intact cancer tissue. *J Invest Dermatol* 122(2):443-449. <https://doi.org/10.1046/j.0022-202X.2004.22208.x>
48. Gniadecka M, Wulf HC, Mortensen NN et al (1997) Diagnosis of basal cell carcinoma by Raman spectroscopy. *J Raman Spectrosc* 28(2-3):125-129. doi:10.1002/(SICI)1097-4555(199702)28:2/3<125::AID-JRS65>3.0.CO;2-#
49. Zhao J, Lui H, McLean DI et al (2008) Real-time Raman spectroscopy for non-invasive skin cancer detection – preliminary results. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2008:3107–3109. <https://doi.org/10.1109/IEMBS.2008.4649861>
50. Lui H, Zhao J, McLean D et al (2012) Real-time Raman spectroscopy for in vivo skin cancer diagnosis. *Cancer Res* 72(10):2491-2500. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-4061>
51. Zhao J, Lui H, Kalia S et al (2015) Real-time Raman spectroscopy for automatic in vivo skin cancer detection: an independent validation. *Anal Bioanal Chem* 407:8373. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8914-9>

52. Silveira L, Silveira FL, Zângaro RA et al (2012) Discriminating model for diagnosis of basal cell carcinoma and melanoma in vitro based on the Raman spectra of selected biochemicals. *J Biomed Opt* 17(7):077003. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.17.7.077003>
53. Mahadevan-Jansen A, Richards-Kortum RR (1996) Raman spectroscopy for the detection of cancers and precancers. *J Biomed Opt* 1(1):31-70. <https://doi.org/10.1117/12.227815>
54. Feng X, Moy AJ, Nguyen HTM et al (2018) Raman biophysical markers in skin cancer diagnosis. *J Biomed Opt* 23(5):057002. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.23.5.057002>
55. Schleusener J, Gluszczyńska P, Reble C et al (2015) In vivo study for the discrimination of cancerous and normal skin using fibre probe-based Raman spectroscopy. *Exp Dermatol* 24:767-772. <https://doi.org/10.1111/exd.12768>
56. Lim L, Nichols BS, Migden MR et al (2014) Clinical study of noninvasive in vivo melanoma and nonmelanoma skin cancers using multimodal spectral diagnosis. *J Biomed Opt* 19(11):117003. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.19.11.117003>
57. Feng X, Moy AJ, Nguyen H et al (2017) Raman active components of skin cancer. *Biomed Opt Exp* 8(6):2835-2850. <https://doi.org/10.1364/BOE.8.002835>
58. Feng X, Fox MC, Reichenberg JS et al (2019) Biophysical basis of skin cancer margin assessment using Raman spectroscopy. *Biomed Opt Exp* 10:104-118.
59. Bratchenko IA, Artemyev DN, Myakinin OO et al (2017) Combined Raman and autofluorescence ex vivo diagnostics of skin cancer in near-infrared and visible regions. *J Biomed Opt* 22(2):027005. <https://doi.org/10.1117/1.jbo.22.2.027005>
60. Khristoforova YA, Bratchenko IA, Myakinin OO et al (2019) Portable spectroscopic system for in vivo skin neoplasms diagnostics by Raman and autofluorescence analysis. *J Biophotonics* 12(4):e201800400. <https://doi.org/10.1002/jbio.201800400>

61. Garcia-Uribe A, Zou J, Duvic M et al (2012) In vivo diagnosis of melanoma and nonmelanoma skin cancer using oblique incidence diffuse reflectance spectrometry. *Cancer Res* 72(11):2738-2745
62. Salomatina E, Jiang B, Novak J et al (2006) Optical properties of normal and cancerous human skin in the visible and near-infrared spectral range. *J Biomed Opt* 11(6):064026
63. Mikhail GR, Mehregan AH (1982) Basal cell carcinoma in seborrheic keratosis. *J Am Acad Dermatol* 6:500–506
64. Wallace MB, Keisslich R (2010) Advances in endoscopic imaging of colorectal neoplasia. *Gastroenterology* 138:2140–2150
65. Cugmas B, Plavec T, Bregar M et al (2015) Detection of canine skin and subcutaneous tumors by visible and near-infrared diffuse reflectance spectroscopy. *J Biomed Opt* 20(3):037003
66. Li S, Chen G, Zhang Y et al (2014) Identification and characterization of colorectal cancer using Raman spectroscopy and feature selection techniques. *Opt Exp* 22:25895-25908. <https://doi.org/10.1364/OE.22.025895>
67. Widjaja E, Zheng W, Huang Z (2008) Classification of colonic tissues using near-infrared Raman spectroscopy and support vector machines. *Int J Oncol* 32:653-662
68. Wood JJ, Kendall C, Hutchings J et al (2014) Evaluation of a confocal Raman probe for pathological diagnosis during colonoscopy. *Colorectal Dis* 16:732-738. doi:10.1111/codi.12664
69. Li Q, Hao C, Kang X et al (2017) Colorectal cancer and colitis diagnosis using Fourier transform infrared spectroscopy and an improved K-nearest-neighbour classifier. *Sensors (Basel, Switzerland)*. 17(12):2739. <https://doi.org/10.3390/s17122739>
70. Petersen D, Naveed P, Ragheb A et al (2017) Raman fiber-optical method for colon cancer detection: Cross-validation and outlier identification approach. *Spectrochimica Acta Part A: Mol and Biomol Spectroscopy* 181:270-275. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.03.054>

71. Lin K, Wang J, Zheng W et al (2016) Rapid fiber-optic Raman spectroscopy for real-time in vivo detection of gastric intestinal metaplasia during clinical gastroscopy. *Cancer Prev Res* 9(6):476-483. <https://doi.org/10.1158/1940-6207.CAPR-15-0213>
72. Bergholt MS, Lin K, Wang J et al (2016) Simultaneous fingerprint and high-wavenumber fiber-optic Raman spectroscopy enhances real-time in vivo diagnosis of adenomatous polyps during colonoscopy. *J Biophotonics* 9:333-342. <https://doi.org/10.1002/jbio.201400141>
73. Leikin S, Parsegian VA, Yang W et al (1997) Raman spectral evidence for hydration forces between collagen triple helices. *Proc Natl Acad Sci USA* 94(21):11312–11317
74. Zonios G, Perelman LT, Backman V et al (1999) Diffuse reflectance spectroscopy of human adenomatous colon polyps in vivo. *Appl Opt* 38(31):6628-6637
75. Knoefel WT, Kollias N, Rattner DW et al (1996) Reflectance spectroscopy of pancreatic microcirculation. *J Appl Physiol* 80(1):116-123
76. Holmer C, Lehmann KS, Risk J et al (2006) Colorectal tumors and hepatic metastases differ in their optical properties – relevance for dosimetry in laser-induced interstitial thermotherapy. *Lasers Surg Med* 38:296-304
77. Beek JF, Blokland P, Posthumus P et al (1997) In vitro double-integrating-sphere optical properties of tissues between 630 and 1064 nm. *Phys Med Biol* 42:2255-2261
78. Utzinger U, Heintzelman DL, Mahadevan-Jansen A et al (2001) Near-infrared Raman spectroscopy for in vivo detection of cervical precancers. *Appl Spectrosc* 55:955-959
79. Kanter EM, Vargis E, Majumder S et al (2009) Application of Raman spectroscopy for cervical dysplasia diagnosis. *J Biophotonics* 2:81–90. <https://doi.org/10.1002/jbio.200910001>
80. Shaikh RS, Dora TK, Chopra S et al (2014) In vivo Raman spectroscopy of human uterine cervix: exploring the utility of vagina as an internal control. *J Biomed Opt* 19(8):087001. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.19.8.087001>

81. Duraipandian S, Zheng W, Ng J et al (2012) Effect of hormonal variation on in vivo high wavenumber Raman spectra improves cervical precancer detection. *Proc SPIE* 8214:82140A. <https://doi.org/10.1117/12.906399>

82. Kanter EM, Majumder S, Kanter GJ et al (2009) Effect of hormonal variation on Raman spectra for cervical disease detection. *Am J Obstet Gynecol* 200:512. e1–5. doi:10.1016/j.ajog.2008.11.024

83. Vargis E, Mahadevan-Jansen A, Byrd T et al (2011) Sensitivity of Raman spectroscopy to normal patient variability. *J Biomed Opt* 16(11):117004. <https://doi.org/10.1117/1.3646210>

84. Duraipandian S, Zheng W, Ng J et al (2011) In vivo diagnosis of cervical precancer using Raman spectroscopy and genetic algorithm techniques. *Analyst (Lond)* 136(20):4328–4336. <https://doi.org/10.1039/c1an15296c>

85. Mo J, Zheng W, Low JJH et al (2009) High wavenumber Raman spectroscopy for in vivo detection of cervical dysplasia. *Analytical Chemistry* 81(21):8908–8915. <https://doi.org/10.1021/ac9015159>

86. Duraipandian S, Zheng W, Ng J et al (2013) Integrated fingerprint and high wavenumber confocal Raman spectroscopy for in vivo diagnosis of cervical precancer. *Proc SPIE* 8572:85720Z. <https://doi.org/10.1117/12.2003058>

87. Mottet N, Bellmunt J, Bolla M et al (2017) AU-ESTRO-SIOG guidelines on prostate cancer. Part 1: Screening, diagnosis, and local treatment with curative intent. *Eur Urology* 71(4):618–629. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.08.003>

88. Kast RE, Tucker SC, Killian K et al (2014) Emerging technology: applications of Raman spectroscopy for prostate cancer. *Cancer Metastasis Rev* 33:673–693. <https://doi.org/10.1007/s10555-013-9489-6>

89. Patel II, Martin FL (2010) Discrimination of zone-specific spectral signatures in normal human prostate using Raman spectroscopy. *Analyst* 135(12):3060–3069. Doi: 10.1039/C0AN00518E

90. Crow P, Molckovsky A, Stone N et al (2005) Assessment of fiberoptic near-infrared Raman spectroscopy for diagnosis of bladder and prostate cancer. *Urology* 65(6):1126-1130. <https://doi.org/10.1016/j.urology.2004.12.058>
91. Crow P, Stone N, Kendall CA et al (2003) The use of Raman spectroscopy to identify and grade prostatic adenocarcinoma in vitro. *Br J Cancer* 89:106–108. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601059>
92. Stone N, Prieto MCH, Crow P et al (2007) The use of Raman spectroscopy to provide an estimation of the gross biochemistry associated with urological pathologies. *Anal Bioanal Chem* 387(5):1657–1668. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0937-9>
93. Devpura S, Thakur JS, Sarkar FH et al (2010). Detection of benign epithelia, prostatic intraepithelial neoplasia, and cancer regions in radical prostatectomy tissues using Raman spectroscopy. *Vib Spectrosc* 53(2):227–232. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2010.03.009>.
94. Duraipandian S, Zheng W, Ng J et al (2013) Near-infrared-excited confocal Raman spectroscopy advances in vivo diagnosis of cervical precancer. *J Biomed Opt* 18(6):067007. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.18.6.067007>
95. Magalhães FL, Machado AMC, Paulino E et al (2018) Raman spectroscopy with a 1064-nm wavelength laser as a potential molecular tool for prostate cancer diagnosis: a pilot study. *J Biomed Opt* 23(12):121613. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.23.12.121613>
96. Aubertin K, Trinh VQ, Jermyn M et al (2018) Mesoscopic characterization of prostate cancer using Raman spectroscopy: potential for diagnostics and therapeutics. *BJU Int* 122(2):326-336. <https://doi.org/10.1111/bju.14199>
97. Arnfield MR, Chapman JD, Tulip J et al (1993) Optical properties of experimental prostate tumors in vivo. *Photochemistry and Photobiology* 57(2):306-311
98. Schiff D, Trump DL, Wen PY (2003) Neurologic Complications of Genitourinary Malignancies. In: Schiff D and Wen PY (eds) *Cancer Neurology in Clinical Practice*, Humana Press Inc., Totowa, NJ, p 327-338

99. Stein JP, Lieskovsky G, Cote R et al (2001) Radical cystectomy in the treatment of invasive bladder cancer: long-term results in 1054 patients. *J Clin Oncol* 19(3):666–675
100. García J, Santomé L, Anido U et al (2016) Current metastatic bladder cancer: second-line treatment and recommendations of the genitourinary tumor division of the Galician oncologic society (SOG-GU). *Oncology Reports* 18:72
101. Liedberg F, Mansson W (2006) Lymph node metastasis in bladder cancer. *Eur Urol* 49:13–21
102. Babjuk M, Burger M, Zigeuner R et al (2013) EAU guidelines on non-muscle-invasive urothelial carcinoma of the bladder: update 2013. *Eur Urol* 64(4):639–653
103. Mostofi FKSL, Torloni H (1973) Histologic typing of urinary bladder tumors: international histological classification of tumors. Geneva, Switzerland: World Health Organization
104. Epstein JI, Amin MB, Reuter VR et al (1998) The World Health Organization/International Society of Urological Pathology consensus classification of urothelial (transitional cell) neoplasms of the urinary bladder. Bladder Consensus Conference Committee. *Am J Surg Pathol* 22:1435–1448
105. Eble JN, Sauter G, Epstein JI et al (2004) World Health Organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of the urinary system and male genital organs. Lyon, France, IARC Press
106. Comperat EM, Burger M, Gontero P et al (2019) Grading of urothelial carcinoma and the new “World Health Organisation classification of tumours of the urinary system and male genital organs 2016”. *Eur Urol Focus* 5(3):457–466
107. Khadra MH, Pickard RS, Charlton M et al (2000) A prospective analysis of 1.930 patients with hematuria to evaluate current diagnostic practice. *J Urol* 163(2):524–527

108. Mishriki SF, Nabi G, Cohen NP (2008) Diagnosis of urologic malignancies in patients with asymptomatic dipstick hematuria: prospective study with 13 years' follow-up. *Urology* 71(1):13-16
109. Ma B, Li H, Zhang C et al (2013) Lymphovascular invasion, ureteral reimplantation and prior history of urothelial carcinoma are associated with poor prognosis after partial cystectomy for muscle-invasive bladder cancer with negative pelvic lymph nodes. *Eur J Surg Oncol* 39(10):1150-1156
110. Mano R, Shoshany O, Baniel J et al (2012) Resection of ureteral orifice during transurethral resection of bladder tumor: functional and oncologic implications. *J Urol* 188(6):2129-2133
111. Naselli A, Puppo P (2017) En bloc transurethral resection of bladder tumors: a new standard?. *J Endourol* 31(S1):S-20-S-4
112. Bolat D, Gunlusoy B, Aydogdu O et al (2018) Comparing the short-term outcomes and complications of monopolar and bipolar transurethral resection of bladder tumors in patients with coronary artery disease: a prospective, randomized, controlled study. *Int Braz J Urol* 44(4):717-725
113. Cumberbatch MGK, Foerster B, Catto JWF et al (2018) Repeat transurethral resection in non-muscle-invasive bladder cancer: A systematic review. *Eur Urol* 73(6):925-933
114. Babjuk M, Böhle A, Burger M et al (2015) Guidelines on Non-muscle invasive bladder cancer (T_a, T₁ and C_{is}) European Association of Urology Guidelines. 13:913
115. Lipiński MI, Róžański W, Markowski MP (2015) Photodynamic diagnosis – current tool in diagnosis of carcinoma in situ of the urinary bladder. *Contemp Oncol (Pozn)* 19(4): 341–342
116. De Jong BWD, Schut TCB, Maquelin K et al (2006) Discrimination between nontumor bladder tissue and tumor by Raman spectroscopy. *Analytical Chemistry* 78(22):7761–7769. <https://doi.org/10.1021/ac061417b>

117. Aubertin K, Desroches J, Jermyn M et al (2018) Combining high wavenumber and fingerprint Raman spectroscopy for the detection of prostate cancer during radical prostatectomy. *Biomed Opt Exp* 9(9):4294–4305. <https://doi.org/10.1364/BOE.9.004294>

118. Grimbergen MCM, van Swol CFP, Draga ROP et al (2009) Bladder cancer diagnosis during cystoscopy using Raman spectroscopy. *Proc SPIE* 7161:716114. <https://doi.org/10.1117/12.807811>

119. Draga ROP, Grimbergen MCM, Vijverberg PLM et al (2010) In vivo bladder cancer diagnosis by high-volume Raman spectroscopy. *Analytical Chemistry* 82(14):5993-5999. <https://doi.org/10.1021/ac100448p>

120. Wang L, He D, Zeng J et al (2013) Raman spectroscopy, a potential tool in diagnosis and prognosis of castration-resistant prostate cancer. *J Biomed Opt* 18(8):087001. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.18.8.087001>

121. Duraipandian S, Zheng W, Ng J et al (2012) Simultaneous fingerprint and high-wavenumber confocal Raman spectroscopy enhances early detection of cervical precancer in vivo. *Analytical Chemistry* 84(14):5913-5919. <https://doi.org/10.1021/ac300394f>

122. Barman I, Dingari NC, Singh GP et al (2012) Selective sampling using confocal Raman spectroscopy provides enhanced specificity for urinary bladder cancer diagnosis. *Anal Bioanal Chem* 404:3091. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6424-6>

123. Chen H, Li X, Broderick N et al (2018) Identification and characterization of bladder cancer by low-resolution fiber-optic Raman spectroscopy. *J Biophotonics* 11:e201800016. <https://doi.org/10.1002/jbio.201800016>

124. Bovenkamp D, Sentosa R, Rank E et al (2018) Combination of high-resolution optical coherence tomography and Raman spectroscopy for improved staging and grading in bladder cancer. *Appl Sci* 8:2371. <https://doi.org/10.3390/app8122371>

125. Teh SK, Zheng W, Ho KY et al (2008) Diagnosis of gastric cancer using near-infrared Raman spectroscopy and classification and regression tree techniques. *J Biomed Opt* 13(3):034013. <https://doi.org/10.1117/1.2939406>
126. Teh SK, Zheng W, Ho KY et al (2008) Diagnostic potential of near-infrared Raman spectroscopy in the stomach: differentiating dysplasia from normal tissue. *Br J Cancer* 98(2):457–465. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604176>
127. Huang Z, Bergholt MS, Zheng W et al (2010) In vivo early diagnosis of gastric dysplasia using narrow-band image-guided Raman endoscopy. *J Biomed Opt* 15(3):037017. <https://doi.org/10.1117/1.3420115>
128. Bergholt MS, Zheng W, Ho KY et al (2014) Real-time depth-resolved fiber optic Raman endoscopy for in vivo diagnosis of gastric precancer. *Proc SPIE* 8939:89390M. <https://doi.org/10.1117/12.2039552>
129. Bergholt MS, Zheng W, Lin K et al (2011) In vivo diagnosis of esophageal cancer using image-guided raman endoscopy and bio-molecular modeling. *Technol Cancer Res Treat* 10(2):103–112. <https://doi.org/10.7785/tert.2012.500185>
130. Bergholt MS, Zheng W, Lin K et al (2011) In vivo diagnosis of gastric cancer using Raman endoscopy and ant colony optimization techniques. *Int J Cancer* 128:2673–2680. <https://doi.org/10.1002/ijc.25618>
131. Bergholt MS, Zheng W, Lin K et al (2010) Raman endoscopy for in vivo differentiation between benign and malignant ulcers in the stomach. *Analyst* 135:3162–3168
132. Bergholt MS, Zheng W, Lin K et al (2011) Characterizing variability in in vivo Raman spectra of different anatomical locations in the upper gastrointestinal tract toward cancer detection. *J Biomed Opt* 16(3):037003. <https://doi.org/10.1117/1.3556723>

133. Bergholt MS, Zheng W, Ho KY et al (2013) Fiber-optic Raman spectroscopy probes gastric carcinogenesis in vivo at endoscopy. *J Biophotonics* 6:49-59. doi:10.1002/jbio.201200138

134. Huang Z, Teh SK, Zheng W et al (2010) In vivo detection of epithelial neoplasia in the stomach using image-guided Raman endoscopy. *Biosensors and Bioelectronics* 26(2):383-389. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2010.07.125>

135. Bergholt MS, Zheng W, Lin K et al (2011) Combining near-infrared-excited autofluorescence and Raman spectroscopy improves in vivo diagnosis of gastric cancer. *Biosensors and Bioelectronics* 26(10):4104-4110. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2011.04.005>

136. Duraipandian S, Bergholt MS, Zheng W et al (2012) Real-time Raman spectroscopy for in vivo, online gastric cancer diagnosis during clinical endoscopic examination. *J Biomed Opt* 17(8):081418. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.17.8.081418>

137. Wang J, Lin K, Zheng W et al (2015) Simultaneous fingerprint and high-wavenumber fiberoptic Raman spectroscopy improves in vivo diagnosis of esophageal squamous cell carcinoma at endoscopy. *Sci Rep* 5(1):12957. <https://doi.org/10.1038/srep12957>

138. Wang J, Lin K, Zheng W et al (2015) Comparative study of the endoscope-based bevelled and volume fiber-optic Raman probes for optical diagnosis of gastric dysplasia in vivo at endoscopy. *Anal Bioanal Chem* 407:8303–8310. <https://doi.org/10.1007/s00216-015-8727-x>

139. Sahu A, Krishna CM (2017) Optical diagnostics in oral cancer: An update on Raman spectroscopic applications. *J Can Res Ther* 13:908-915. DOI: 10.4103/0973-1482.191032

140. Guze K, Short MA, Sonis S et al (2009) Parameters defining the potential applicability of Raman spectroscopy as a diagnostic tool for oral disease. *J Biomed Opt* 14(1):014016. <https://doi.org/10.1117/1.3076195>

141. Bergholt MS, Zheng W, Huang Z (2012) Characterizing variability in in vivo Raman spectroscopic properties of different anatomical sites of normal tissue in the oral cavity. *J Raman Spectrosc* 43:255-262. doi:10.1002/jrs.3026

142. Singh SP, Deshmukh A, Chaturvedi P et al (2012) In vivo Raman spectroscopic identification of premalignant lesions in oral buccal mucosa. *J Biomed Opt* 17(10) 105002. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.17.10.105002>

143. Singh SP, Sahu A, Deshmukh A et al (2013) In vivo Raman spectroscopy of oral buccal mucosa: a study on malignancy associated changes (MAC)/cancer field effects (CFE). *Analyst* 138:4175–4182. doi: 10.1039/C3AN36761D

144. Sahu A, Deshmukh A, Hole AR et al (2016) In vivo subsite classification and diagnosis of oral cancers using Raman spectroscopy. *J Innov Opt Health Sci* 9(5):1650017. <https://doi.org/10.1142/S1793545816500176>

145. Amelink A, Kaspers OP, Sterenborg HJCM et al (2008) Non-invasive measurement of the morphology and physiology of oral mucosa by use of optical spectroscopy. *Oral Oncology* 44:65-71

146. Huang N, Short M, Zhao J et al (2011) Full range characterization of the Raman spectra of organs in a murine model. *Opt Exp* 19(23):22892–22909. <https://doi.org/10.1364/OE.19.022892>

147. Tolstik T, Marquardt C, Matthäus C et al (2014) Discrimination and classification of liver cancer cells and proliferation states by Raman spectroscopic imaging. *Analyst* 139:6036-6043. <https://doi.org/10.1039/C4AN00211C>

148. Hawi SR, Campbell WB, Kajdacsy-Balla A et al (1996) Characterization of normal and malignant human hepatocytes by Raman microspectroscopy. *Cancer Lett* 110:35–40. [https://doi.org/10.1016/S0304-3835\(96\)04455-2](https://doi.org/10.1016/S0304-3835(96)04455-2)

149. Pence IJ, Patil CA, Lieber CA et al (2015) Discrimination of liver malignancies with 1064 nm dispersive Raman spectroscopy. *Bio-med Opt Exp* 6(8):2724-2737. <https://doi.org/10.1364/BOE.6.002724>

150. Hamilton SR, Aaltonen LA (eds) (2000) World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Digestive System. IARC Press: Lyon, p 173

151. Blechacz B, Gores GJ (2008) Cholangiocarcinoma: advances in pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Hepatology* 48(1):308–321

152. Bismuth H, Corlette MB (1975) Intrahepatic cholangioenteric anastomosis in carcinoma of the hilus of the liver. *Surg Gynecol Obstet* 140(2):170–178

153. Kudo M, Kitano M, Sakurai T et al (2015) General Rules for the Clinical and Pathological Study of Primary Liver Cancer, Nationwide Follow-Up Survey and Clinical Practice Guidelines: The Outstanding Achievements of the Liver Cancer Study Group of Japan. *Dig Dis* 2015 33(6):765–770

154. Ishak KG, Goodman ZD, Stocker JT (2001) Tumours of the liver and intrahepatic bile ducts. Atlas of tumour pathology, 3rd Series, Fascicle 31. Armed Forces Institute of Pathology, Washington, DC

155. Shaib Y, El-Serag HB (2004) The epidemiology of cholangiocarcinoma. *Semin Liver Dis* 24:115–125

156. Jan YY, Yeh CN, Yeh TS et al (2005) Clinicopathological factors predicting long-term overall survival after hepatectomy for peripheral cholangiocarcinoma. *World J Surg* 29:894–898

157. Razumilava N, Gores GJ (2014) Cholangiocarcinoma. *Lancet* 383:2168–2179

158. Greene FL, Page DL, Fleming ID et al (eds) (2003) AJCC Cancer staging manual, 6th edition. Springer, New York

159. Albores-Saavedra J, Henson DE, Klimstra DS (2000) Tumours of the gallbladder, extrahepatic bile ducts, and ampulla of Vater. Atlas of tumour pathology. 3rd-Series, Fascicle 27, Armed Forces Institute of Pathology, Washington DC

160. Guglielmi A, Ruzzenente A, Iacono C (2007) Reporting cholangiocarcinoma: Pathological aspects. In: A. Guglielmi, A. Ruzzenente, C. Iacono (eds) *Surgical Treatment of Hilar and Intrahepatic Cholangiocarcinoma*. Springer-Verlag, Italia S.r.l. Via Decembrio 28 I-20137 Milan, pp 3-15
161. Patel T (2001) Increasing incidence and mortality of primary intrahepatic cholangiocarcinoma in the United States. *Hepatology* 33:1353–1357
162. McMasters KM, Curley SA (1998) Treatment of Cholangiocarcinoma. In: Curley SA (ed), *Liver Cancer*, Springer-Verlag, New York, Inc, p 95-116
163. Sasaki R, Takeda Y, Funato O et al (2007) Significance of ductal margin status in patients undergoing surgical resection for extrahepatic cholangiocarcinoma. *World J Surgery* 31(9):1788–1796
164. Moeini A, Sia D, Bardeesy N et al (2016) Molecular pathogenesis and targeted therapies for intrahepatic cholangiocarcinoma. *Clin Cancer Res* 22:291–300
165. de Jong MC, Nathan H, Sotiropoulos GC et al (2011) Intrahepatic cholangiocarcinoma: an international multi-institutional analysis of prognostic factors and lymph node assessment. *J Clin Oncol* 29:3140–3145
166. Sanford CH (1952) Primary malignant disease of the liver. *Ann Intern Med* 37:304–312
167. Tsushimi T, Enoki T, Harada E et al (2005) Ectopic hepatocellular carcinoma arising in the bile duct. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 12:266–268
168. Harris AT, Garg M, Yang XB et al (2009) Raman spectroscopy and advanced mathematical modelling in the discrimination of human thyroid cell lines. *Head Neck Oncol* 1:38. <https://doi.org/10.1186/1758-3284-1-38>

169. O'Dea D, Bongiovanni M, Sykietis GP et al (2019) Raman spectroscopy for the preoperative diagnosis of thyroid cancer and its subtypes: An in vitro proof-of-concept study. *Cytopathology* 30:51–60. <https://doi.org/10.1111/cyt.12636>
170. Taylor JN, Mochizuki K, Hashimoto K et al (2019) High-resolution Raman microscopic detection of follicular thyroid cancer cells with unsupervised machine learning. *J Phys Chem B* 123(20):4358–4372. DOI: 10.1021/acs.jpcc.9b01159
171. Li B, Xie S (2005) Autofluorescence excitation-emission matrices for diagnosis of colonic cancer. *World J Gastroenterol*, 11:3931–3934.
172. Rau JV, Graziani V, Fosca M et al (2016) Raman spectroscopy imaging improves the diagnosis of papillary thyroid carcinoma. *Sci Rep* 6:35117. <https://doi.org/10.1038/srep35117>
173. Medeiros-Neto LP, Soto CAT, Chagas MJ et al (2019) In vivo Raman spectroscopic characterization of papillary thyroid carcinoma. *Vib Spectrosc* 101:1–9. <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2018.12.008>
174. Kalkanis SN, Kast RE, Rosenblum ML et al (2014) Raman spectroscopy to distinguish grey matter, necrosis, and glioblastoma multiforme in frozen tissue sections. *J Neurooncol* 116:477. <https://doi.org/10.1007/s11060-013-1326-9>
175. Kast R, Auner G, Yurgelevic S et al (2015) Identification of regions of normal grey matter and white matter from pathologic glioblastoma and necrosis in frozen sections using Raman imaging. *J Neurooncol* 125:287. <https://doi.org/10.1007/s11060-015-1929-4>
176. Leslie DG, Kast RE, Poulik JM et al (2012) Identification of pediatric brain neoplasms using Raman spectroscopy. *Pediatr Neurosurg* 48:109–117. doi: 10.1159/000343285

177. Jermyn M, Desroches J, Mercier J et al (2016) Raman spectroscopy detects distant invasive brain cancer cells centimeters beyond MRI capability in humans. *Biomed Opt Exp* 7:5129-5137. <https://doi.org/10.1364/BOE.7.005129>
178. Desroches J, Jermyn M, Pinto M et al (2018) A new method using Raman spectroscopy for in vivo targeted brain cancer tissue biopsy. *Sci Rep* 8:1792. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-20233-3>
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4504899/>
179. Ji M, Orringer DA, Freudiger CW et al (2013) Rapid, label-free detection of brain tumors with stimulated Raman scattering microscopy. *Sci Transl Med* 5(201):201ra119. doi: 10.1126/scitranslmed.3005954
180. Genina EA, Bashkatov AN, Tuchina DK et al (2019) Optical properties of brain tissues at the different stages of glioma development in rats: pilot study. *Biomed Opt Exp* 10(10):5182-5197
181. Gebhart SC, Lin W-C, Mahadevan-Jansen A (2006) In vitro determination of normal and neoplastic human brain tissue optical properties using inverse adding-doubling. *Phys Med Biol* 51:2011-2027
182. Bevilacqua F, Piguët D, Marquet P et al (1999) In vivo local determination of tissue optical properties: applications to human brain. *Appl Opt* 38(22):4939-4950
183. Honda N, Ishii K, Kajimoto Y et al (2018) Determination of optical properties of human brain tumor tissues from 350 to 1000 nm to investigate the cause of false negatives in fluorescence-guided resection with 5-aminolevulinic acid. *J Biomed Opt* 23(7):075006
184. Schwarzmaier H-J, Eickmeyer F, Fiedler VU et al (2002) Basic principles of laser induced interstitial thermotherapy in brain tumors. *Med Laser Appl* 17:147-158
185. Sterenborg HJCM, van Gemert MJC, Kamphorst W et al (1989) The spectral dependence of the optical properties of human brain. *Lasers Med Sci* 4:221-227

186. Yaroslavsky AN, Schulze PC, Yaroslavsky IV et al (2002) Optical properties of selected native and coagulated human brain tissues in vitro in the visible and near infrared spectral range. *Phys Med Biol* 47:2059-2073

187. Wu X, Shu X (2017) Epidemiology of Renal Cell Carcinoma. In: Oya M (eds) *Renal Cell Carcinoma*, Springer, Tokyo. https://doi.org/10.1007/978-4-431-55531-5_1

188. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R et al (2015), Cancer incidence and mortality worldwide: Sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012. *Int. J. Cancer*, 136: E359-E386. doi:10.1002/ijc.29210

189. Novara G, Ficarra V, Antonelli A et al (2010) Validation of the 2009 TNM version in a large multi-institutional cohort of patients treated for renal cell carcinoma: Are further improvements needed?. *Eur Urol* 58:588–595

190. Tan PH, Cheng L, Rioux-Leclercq N et al (2013) ISUP Renal Tumor Panel. Renal tumors: diagnostic and prognostic biomarkers. *Am J Surg Pathol* 37(10):1518-1531

191. Chow WH, Dong LM, Devesa SS (2010) Epidemiology and risk factors for kidney cancer. *Nat Rev Urol.* 7(5):245–257

192. Petejova N, Martinek A (2016) Renal cell carcinoma: review of etiology, pathophysiology and risk factors. *Biomedical Papers* 160(2):183-194

193. Abrahams NA, MacLennan GT, Khoury JD et al (2004) Chromophobe renal cell carcinoma: a comparative study of histological, immunohistochemical and ultrastructural features using high throughput tissue microarray. *Histopathology* 45:593–602

194. Ljungberg B, Bensalah K, Bex A et al (2013) Guidelines on renal cell carcinoma. *European Urology* 67: 913-992. <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2015.01.005>

195. Bamias A, Escudier B, Sternberg CN et al (2017) Current clinical practice guidelines for the treatment of renal cell carcinoma: A systematic review and critical evaluation. *Oncologist* 22(6):667-679
196. Aitchison M, Bray CA, Van Poppel H et al (2014) Adjuvant 5-fluorouracil, alpha-interferon and interleukin-2 versus observation in patients at high risk of recurrence after nephrectomy for renal cell carcinoma: Results of a phase III randomised European Organisation for Research and Treatment of Cancer (Genito-Urinary Cancers Group)/National Cancer Research Institute trial. *Eur J Cancer* 50:70–77
197. Ljungberg B, Bensalah K, Canfield S et al (2015) EAU Guidelines on Renal Cell Carcinoma: 2014 Update. *Eur Urol* 67(5):913-924
198. Genin VD, Genina EA, Bucharskaya AB et al (2018) Investigation of the change of tumor optical properties after laser-induced plasmon-resonant photothermal treatment of transplanted tumors in rats. *Proc SPIE* 10716:107160Z
199. Lee SY, Lloyd WR, Chandra M et al (2013) Characterizing human pancreatic cancer precursor using quantitative tissue optical spectroscopy. *Biomed Opt Exp* 4(12):2828-2834
200. Kiris T, Akbulut S, Kiris A et al (2015) Optical characterization of pancreatic normal and tumor tissues with double integrating sphere system. *Proc SPIE* 9321:932116
201. Saccomandi P, Larocca ES, Rendina V et al (2016) Estimation of optical properties of neuroendocrine pancreas tumor with double-integrating-sphere system and inverse Monte Carlo model. *Lasers Med Sci* 31:1041-1050
202. Bergholt MS, Zheng W, Ho KY et al (2013) Fiber-optic Raman spectroscopy probes gastric carcinogenesis in vivo at endoscopy. *J Biophotonics* 6:49-59. <https://doi.org/10.1002/jbio.201200138>
203. Bergner N, Medyukhina A, Geiger KD et al (2013) Hyperspectral unmixing of Raman micro-images for assessment of morphological and chemical parameters in non-dried brain tumor specimens. *Anal Bioanal Chem* 405(27):8719–8728. <https://doi.org/10.1007/s00216-013-7257-7>

204. Daniel A, Aruna P, Ganesan S et al (2017) Biochemical assessment of human uterine cervix by micro-Raman mapping. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy* 17: 65-74. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2016.08.011>
205. Shetty G, Kendall C, Shepherd N et al (2006) Raman spectroscopy: elucidation of biochemical changes in carcinogenesis of oesophagus. *Br J Cancer* 94:1460–1464. <https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6603102>
206. Ding H, Dupont AW, Singhal S et al (2017) Effect of physiological factors on the biochemical properties of colon tissue – an in vivo Raman spectroscopy study. *J Raman Spectrosc* 48:902– 909. doi: 10.1002/jrs.5140.
207. Shafer-Peltier KE, Haka AS, Fitzmaurice M et al (2002) Raman microspectroscopic model of human breast tissue: Implications for breast cancer diagnosis in vivo. *J Raman Spectrosc* 33(7):552–563
208. Haka AS, Shafer-Peltier KE, Fitzmaurice M et al (2005) Diagnosing breast cancer by using Raman spectroscopy. *Proc Nat Acad Sci* 102(35):12371-12376. <https://doi.org/10.1073/pnas.0501390102>
209. Zhao J, Lui H, McLean DI et al (2008) Integrated real-time Raman system for clinical in vivo skin analysis. *Skin Res Technol*, 14:484-492. doi:10.1111/j.1600-0846.2008.00321.x
210. Sowa MG, Smith MSD, Kendall C et al (2006) Semi-parametric estimation in the compositional modeling of multicomponent systems from Raman spectroscopic data. *Appl Spectrosc* 60(8):877–883. <https://doi.org/10.1366/000370206778062147>
211. Yang S, Park Y, Cho J et al (2017) Regulation of hypoxia responses by flavin adenine dinucleotide-dependent modulation of hif-1 α protein stability. *The EMBO Journal*, 36:1011–1028. <https://www.emboypress.org/doi/full/10.15252/emboj.201694408>
212. Tuchin V. V., Popp J., Zakharov V. (ed.). Multimodal optical diagnostics of cancer. – Springer Nature, 2020.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном учебном пособии рассмотрены современные оптические и спектроскопические методы исследования биологических тканей, их физические основы, аппаратурные подходы и области применения в биомедицинской диагностике. Особое внимание уделено спектроскопическим методам, включая интегрирующую сферическую спектроскопию, флуоресцентную и рамановскую спектроскопию, а также вопросам количественного анализа оптических параметров тканей.

Многочисленные экспериментальные исследования показали возможности рамановской спектроскопии для обнаружения и классификации злокачественных новообразований на основе объективной и количественной молекулярной информации. Следовательно, использование этой техники может сократить количество ненужных биопсий и направить точное обнаружение границ опухоли, улучшая результаты хирургического лечения пациентов.

Несмотря на преимущества, которые может предложить рамановская спектроскопия, существуют некоторые проблемы. Во-первых, это низкая скорость измерения. Один из способов преодоления этого – дополнить рамановскую спектроскопию другими методами, такими как автофлуоресцентная визуализация и ОКТ. Рамановская спектроскопия с визуальным контролем существенно сокращает время, затрачиваемое на избыточные или нерелевантные рамановские измерения.

Перевод для клинического использования включает разработку всеобъемлющих спектральных баз данных и методологий классификации тканей, которые могут извлекать эффективную диагностическую информацию из обычно перекрывающихся рамановских спектров с тонкими спектральными различиями между неопластическими и нормальными тканями. Необходимо провести

валидационные исследования, чтобы подтвердить, что алгоритмы диагностики классификации, разработанные на образцах *ex vivo*, применимы к тканям *in vivo*. Обучение глубокому обучению, использующее большое количество спектров, также может различать различные типы рака и стать предикторами агрессивности рака. Сочетание статистических и биохимических моделей может привести к новым методологиям классификации, которые могут быть сопоставимы с текущими золотыми стандартами.

Пособие ориентировано на формирование у студентов и специалистов фундаментальных знаний о взаимодействии света с биологическими объектами, понимания принципов построения диагностических моделей и оценки биохимических и морфологических изменений в тканях. Полученные знания позволяют не только анализировать оптические свойства здоровых и патологических тканей, но и использовать эти данные для разработки новых методов ранней диагностики и терапии, в том числе онкологических заболеваний.

Изложенный материал способствует развитию междисциплинарного подхода в подготовке специалистов по направлению «Биотехнические системы и технологии», объединяя достижения физики, инженерии и медицины. Надеемся, что освоение данного курса станет прочной основой для дальнейших исследований и профессионального роста в области биомедицинской оптики и инновационных медицинских технологий.

Учебное издание

*Матвеева Ирина Александровна ,
Братченко Иван Алексеевич ,
Христофорова Юлия Александровна ,
Братченко Людмила Алексеевна ,
Артемьев Дмитрий Николаевич ,
Захаров Валерий Павлович*

ОПТИЧЕСКИЕ И СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В БИОМЕДИЦИНЕ

Учебное пособие

Редакционно-издательская обработка
издательства Самарского университета

Подписано в печать 30.12.2025. Формат 60×84 1/16.

Бумага офсетная. Печ. л. 11,0.

Тираж 27 экз. Заказ . Арт. – 49 (Р2УП)/2025.

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«САМАРСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА С.П. КОРОЛЕВА»
(САМАРСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)
443086, САМАРА, МОСКОВСКОЕ ШОССЕ, 34.

Издательство Самарского университета.
443086, Самара, Московское шоссе, 34.

