

УДК 535.372+616–006.6

В.В. ШУПЛЕЦОВ, К.Ю. КАНДУРОВА, Е.С. СЕРЁГИНА, Е.В. ПОТАПОВА,
В.В. ДРЁМИН, А.В. МАМОШИН, К.В. ПОДМАСТЕРЬЕВ, А.В. ДУНАЕВ

УСТРОЙСТВО ДЛЯ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ВИЗУАЛИЗАЦИИ ОПУХОЛЕВОЙ ТКАНИ

Аннотация. Для задач онкологии представляется актуальным поиск дополнительных методов, обеспечивающих получение информации о наличии клеток опухоли в крае резекции органа в режиме реального времени при проведении хирургических вмешательств. В данной работе описана экспериментальная установка, реализующая один из перспективных методов современной оптической диагностики – флуоресцентную визуализацию с возможностью использования в условиях хирургической операции. Представлены результаты экспериментальных исследований с использованием данной установки для получения флуоресцентных изображений внутренних органов лабораторных животных, при моделировании злокачественной опухоли печени. Сделаны выводы о возможности применения разработанной системы флуоресцентной визуализации для определения наличия опухолевых клеток на границе резекции органа.

Ключевые слова: оптическая биопсия, флуоресцентная визуализация, гепатоцеллюлярная карцинома.

Введение

Онкологические заболевания занимают второе место по смертности во всем мире. Согласно статистике Всемирной организации здравоохранения только за 2018 год в мире было выявлено около 18 млн новых случаев онкологических заболеваний и 43,8 млн случаев, выявленных в течение последних 5 лет, а также констатировано 9,6 млн летальных исходов от них [1]. Одним из факторов развития такой ситуации являются затруднения диагностики злокачественного поражения в процессе лечения. Обнаружение и дифференцировка опухолевой ткани традиционно осуществляется путем визуального и пальпаторного исследования зоны поражения, после чего следует процедура биопсии участков ткани, подозрительных к наличию онкологических изменений.

Экспресс-биопсия образцов ткани, взятых во время проведения хирургической операции, занимает около 20–25 минут, что оказывает существенное влияние на длительность оперативного пособия за счет задержки в принятии решения о дальнейшей тактической позиции и объеме вмешательства. В рамках плановой биопсии ответ дается через 5–10 дней. В ходе операции обнаружение участков опухолевой инфильтрации, в том числе в крае резекции пораженного органа, обеспечивается субъективной оценкой оперирующего хирурга и реализацией онкологических принципов оказания хирургической помощи [2, 3]. В этой связи актуальным является вопрос поиска и внедрения в клиническую практику новых диагностических методов, позволяющих врачу-хирургу получать дополнительную диагностическую информацию в режиме реального времени для обеспечения быстрого принятия оптимального решения непосредственно в ходе проведения оперативного вмешательства.

В настоящее время одним из перспективных и быстро развивающихся направлений диагностики в режиме реального времени для решения задач хирургического лечения является совокупность методов, объединяемых понятием «оптическая биопсия» [4, 5]. Результаты доклинических и клинических исследований показывают, что применение оптических методов позволяет врачу-хирургу получить более точную информацию о локализации опухолевой ткани в режиме реального времени, что повышает качество проведения оперативных вмешательств и обеспечивает условия для более эффективного органосохраняющего лечения. Методы флуоресцентной спектроскопии и флуоресцентной визуализации демонстрируют значительную чувствительность к выявлению наличия патологических изменений в тканях [6, 7]. В направлении дифференциации здоровой и опухолевой тканей рядом ученых были проведены исследования на различных органах человека (кожа, легкие, грудь, толстая кишка, шейка матки и т.д.) [8–11]. Методы флуоресцентной визуализации, основанные на получении изображений тканей при

возбуждении в них эндогенной флуоресценции различных биомаркеров, способны дать исчерпывающую информацию о морфофункциональных характеристиках исследуемых тканей.

Известно, что в процессе канцерогенеза клетки претерпевают трансформации, приводящие к изменениям их морфологических и биохимических свойств, которые могут быть обнаружены флуоресцентными методами диагностики. Особый интерес представляет изучение изменений концентрации в опухолевых клетках таких коферментов как никотинадениндинуклеотид (НАД) и флавинадениндинуклеотид (ФАД), участвующих в реакциях гликолиза, окислительного фосфорилирования и цикла Кребса. Показателями метаболического статуса ткани являются изменения содержания восстановленной формы НАД – НАДН, ФАД и их редокс–соотношения. Максимальная флуоресценция НАДН проявляется в синем свете при воздействии излучением ближнего ультрафиолетового диапазона (пик возбуждения флуоресценции 365 нм), в то время как флуоресценция ФАД проявляется в зеленом свете при возбуждении синим излучением, преимущественно с длиной волны 450 нм [12]. Проведенные клинические исследования НАДН и ФАД показали, что изменения флуоресценции этих коферментов тесно связаны с патологическими процессами в тканях [13, 14]. Активная пролиферация в условиях гипоксии вынуждает опухолевые клетки переходить на гликолитический тип метаболизма. Так, изменение концентраций НАДН в клетках при гипоксии объясняется отсутствием окисления через электронно–транспортную цепь. [15, 16]. В условиях аномальной метаболической активности опухолевых тканей также наблюдаются изменения флуоресценции ФАД [17], что, по сравнению со здоровой тканью, также может указывать на рост опухоли [18]. Также известно, что при онкологических заболеваниях наблюдаются процессы аномально повышенного накопления порфиринов в пораженной ткани, связанные со специфическими метаболическими нарушениями опухолевых клеток [19, 20]. Таким образом, вклад перечисленных флуорофоров (НАДН, ФАД, порфирины) в спектры эндогенной флуоресценции находится в тесной зависимости от метаболического статуса ткани, что определяет актуальность их изучения при патологических процессах.

Целью работы являлось улучшение результатов выявления онкологической трансформации в тканях путем использования метода флуоресцентной визуализации

Материалы и методы

Для проведения исследований разработана экспериментальная установка флуоресцентной визуализации, схема которой представлена на рисунке 1.

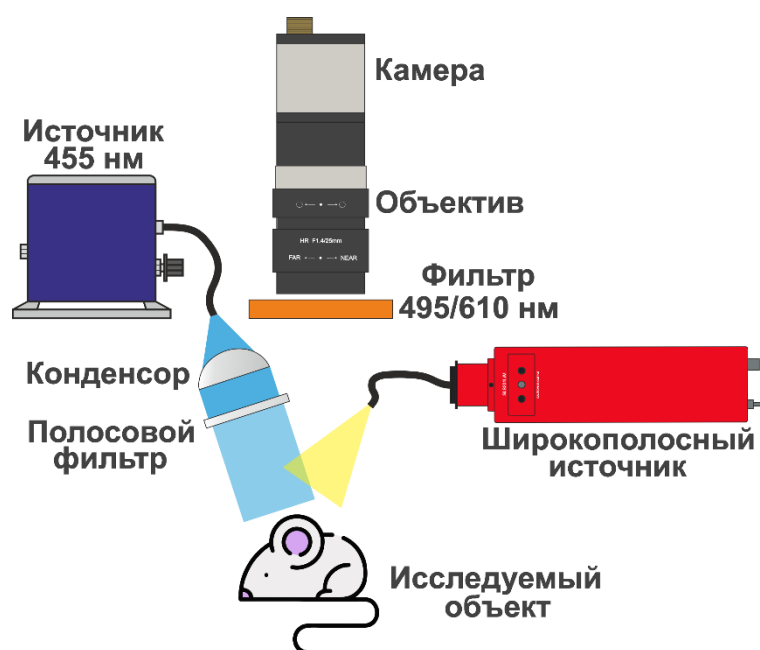


Рисунок 1 – Схема установки

Для возбуждения флуоресценции эндогенных флуорофоров используется светодиодный источник 455 нм LLS-455 (Ocean Optics, США). Генерируемое им излучение проходит через конденсор и полосовой фильтр MF445-45 (Thorlabs, Inc. США), и направляется на исследуемую область. В канале флуоресцентной визуализации обратно отражённое излучение источника фильтруется светофильтрами FGL495/ FGL610 (Thorlabs, Inc. США), а оставшееся излучение флуоресценции регистрируется КМОП-камерой DCC 3260C (Thorlabs, Inc. США). Широкополосный источник излучения 360–2600 нм SLS201L-M (Thorlabs, Inc. США) используется для получения изображений в белом свете.

Исследования проводились на лабораторных мышах линии BDF (C57Bl6xDBA) с привитым штаммом гепатоцеллюлярной карциномы H33 в правую часть средней доли печени (100 мкл, 50 тыс. клеток). Исследования были одобрены Этическим комитетом ОГУ имени И.С. Тургенева (протокол №12 от 6.09.2018 г.) и проводились в соответствии с принципами GLP [21]. Оперативное вмешательство, препарация тканей, визуальная и пальпаторная оценка онкопатологии печени были проведены врачом-хирургом. Во время исследования мышь была подвергнута анестезии препаратом Золетил 100 (Vibrac, Франция) в стандартных дозировках. Животное размещалось на специальной фиксирующей платформе в положении на спине. Для каждого животного была сделана поперечная лапаротомия и производился доступ к печени. Затем животное помещали под оптическую систему для визуализации исследуемой области. После окончания исследования животное выводили из опыта в соответствии с правилами проведения экспериментов. Методология исследования предполагала пошаговую регистрацию изображений поражённой печени лабораторной мыши сначала в белом свете без светофильтров, а затем с использованием источника с длиной волны 450 нм и оптических фильтров для получения флуоресцентных изображений. Перед матрицей камеры устанавливали и поочередно меняли светофильтры с длинами волн среза 495 и 610 нм и проводили регистрацию флуоресцентных изображений. Измерения повторяли 3 раза. Полученные результаты обрабатывали на персональном компьютере с помощью программного обеспечения, разработанного в среде Matlab.

Результаты и обсуждение

В ходе исследований были получены изображения органов двух лабораторных животных с экспериментальной злокачественной опухолью печени. На рисунках 2 и 3 представлены изображения в белом свете (а), флуоресцентные изображения с использованием ослабляющего светофильтра на 495 нм (б), и флуоресцентные изображения с использованием ослабляющего светофильтра на 610 нм (в).

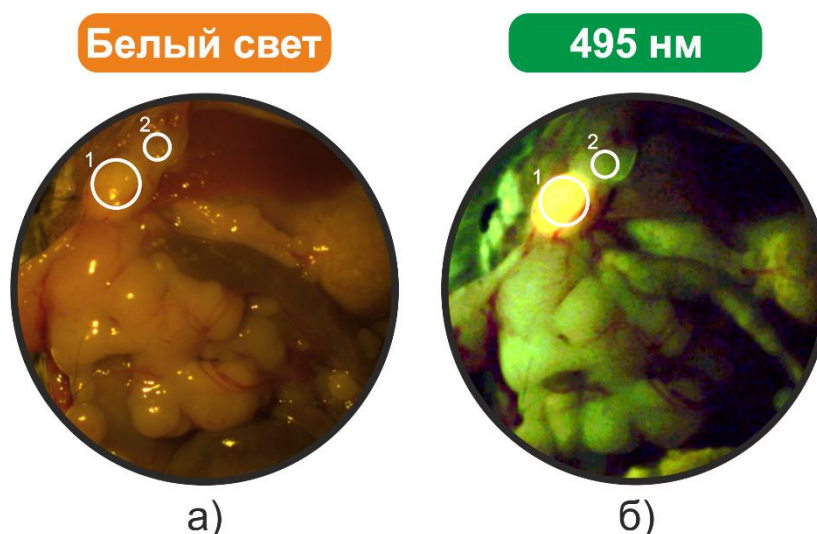


Рисунок 2 – Изображения печени мыши №1:

а) в белом свете, б) флуоресцентное изображения с использованием светофильтра на 495 нм

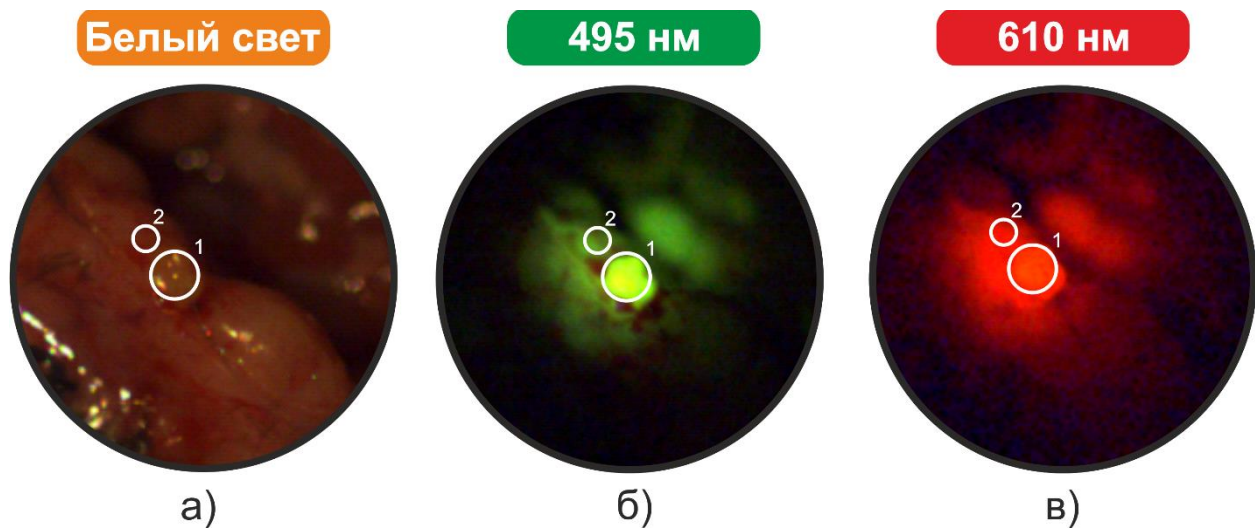


Рисунок 3 – Изображения печени мыши №2:

а) в белом свете, б) флуоресцентное изображения с использованием светофильтра на 495 нм, в) флуоресцентное изображения с использованием светофильтра на 610 нм

На рисунках 2 и 3 области, выделенные кругом с цифрой 1, соответствуют локализации опухолевого очага; области, выделенные кругом с цифрой 2, соответствуют окружающим тканям. При использовании фильтра с длиной волны 495 нм возможна визуализация преимущественно флуоресценции в диапазоне 500–540 нм, а при использовании фильтра с длиной волны 610 нм происходит отчетливое контрастирование флуоресценции в диапазоне 620–640 нм. Отмечается, что для мыши №1 были получены флуоресцентные изображения только при использовании светофильтра с длиной волны 495 нм и диаметром области зондирования лазером около 3 см. В ходе анализа первоначальных изображений было замечено, что опухоль приобрела не зеленый цвет, характерный для пика флуоресценции ФАД (около 530 нм), а желтый, что предположительно было связано в том числе со значительным накоплением порфиринов в очаге опухоли и, таким образом, сложением флуоресценции ФАД и флуоресценции порфиринов (флуоресценция в диапазоне 620–640 нм), в связи с чем были внесены изменения в протокол экспериментальных исследований и экспериментальную установку для проверки данной гипотезы. Таким образом, для мыши №2 были получены изображения при использовании двух светофильтров с диаметром области зондирования около 1 см. Значения интенсивности отражения и флуоресценции по областям, выделенным на рисунках 2 и 3, в дальнейшем были усреднены для сравнения данных от опухолевого очага и окружающих тканей, получаемых в белом свете и при флуоресцентной визуализации.

В результате установлено, что в то время, как интенсивность отражения от опухоли превысила интенсивность от неизменной ткани в среднем в 1,2 раза, при использовании флуоресцентной визуализации значение данного параметра составило 4,2 для изображения с фильтром 495 нм и 2,6 с фильтром 610 нм, что позволяет более четко различить очаг опухоли. Увеличение интенсивности флуоресценции в злокачественных тканях по сравнению с окружающими тканями на изображениях, полученных с использованием фильтра 495 нм, может свидетельствовать об изменениях содержания эндогенных флуорофоров, которые в свою очередь обусловлены метаболическими нарушениями, сопровождающими процесс роста опухоли.

Повышенная интенсивность флуоресценции у мыши №2 при использовании фильтра 610 нм указывает на присутствие повышенного содержания порфиринов, что также связано с активным развитием опухоли [22], т.к. ряд исследователей отмечает, что клетки злокачественных тканей проявляют тенденцию к более активному синтезу и накоплению порфиринов, в частности протопорфирина IX [23, 24]. На полученных изображениях видно, что для мыши №2 при использовании фильтра 495 нм не проявился выраженный желтый цвет очага опухоли, в связи с чем можно предположить, что увеличение флуоресценции порфиринов для мыши №1 составило бы большее значение, чем для мыши №2. По полученным изображениям можно судить и о том, что процессы канцерогенеза протекали

индивидуально в каждом из лабораторных животных, что также следует принять во внимание при планировании и проведении дальнейших экспериментальных исследований.

Таким образом, полученные изображения и рассчитанная разница в соотношении средней интенсивности в опухолевой/интактной ткани свидетельствуют о высокой чувствительности метода флуоресцентной визуализации к наличию злокачественных изменений в тканях по сравнению с регистрацией изображений в белом свете. В зависимости от интенсивности флуоресценции по сравнению с окружающими тканями, возможно более точное определение мест накопления различных флуорофоров в структуре ткани исследуемого органа.

Заключение

Проведенные исследования показывают возможности применения разработанной экспериментальной системы флуоресцентной визуализации в хирургии для получения информации в режиме реального времени о наличии злокачественных клеток в крае резекции органа при опухолевом поражении. Внедрение технологии флуоресцентной визуализации в перспективе повысит результативность оперативных вмешательств за счет уменьшения времени проведения операций и снижения вероятности ложноотрицательного результата при принятии решения об объеме резекции. Дальнейшие исследования будут направлены на совершенствование технологии, на разработку оптического фантома для калибровки флуоресцентной системы, а также на проведение достоверных и воспроизводимых экспериментальных измерений параметров нормальных и опухолевых тканей для разработки диагностических критериев и внедрения технологии флуоресцентной визуализации в клиническую практику.

Данная работа поддержана грантом РФФИ (проект № 18-02-00669).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. The Cancer Atlas, 3rd edition // International Agency for Research on Cancer; 2019. – Режим доступа: <https://canceratlas.cancer.org/>.
2. Патютко, Ю.И. Обеспечение радикальности операций при злокачественных опухолях печени / Ю.И. Патютко, Д.В. Подлужный, Н.Е. Кудашкин, А.Н. Поляков, Е.В. Глухов, О.Н. Соловьева, З.А. Дудаев // *Анналы хирургической гепатологии*. – 2019. – 23(4). – С. 118–125.
3. Патютко, Ю.И. Эволюция хирургии рака головки поджелудочной железы и периапулярной зоны / Ю.И. Патютко, А.Г. Котельников, А.Н. Поляков А, Д.В. Подлужный // *Анналы хирургической гепатологии*. – 2019. – 23(4). – С. 45–53.
4. Alfano R. Optical biopsy for cancer detection / R. Alfano, Y. Pu // *Lasers for Medical Applications*. – Woodhead Publishing, 2013. – С. 325–367.
5. Кандурова, К.Ю. Методы оптической биопсии и их перспективы применения для интраоперационного анализа тканевого метаболизма и микроциркуляции крови в мини-инвазивной хирургии / К.Ю. Кандурова, В.В. Дрёмин, Е.А. Жеребцов, А.Л. Альянов, А.В. Мамошин, Е.В. Потапова, А.В. Дунаев, В.Ф. Мурадян, В.В. Сидоров, А.И. Крупаткин // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. – 2018. – 17(3). – С. 71–79.
6. Croce, A.C. Autofluorescence spectroscopy and imaging: A tool for biomedical research and diagnosis / A.C. Croce, G. Bottiroli // *Eur. J. Histochem*. – 2014. – 58(4). – С. 320–337.
7. Ramanujam N. Fluorescence spectroscopy in vivo / N. Ramanujam // *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation*. – Wiley Online Library, 2006. – С. 20–56.
8. Borisova, E. Multispectral autofluorescence detection of skin neoplasia using steady-state techniques / E. Borisova; A. Gisbrecht; T. Genova-Hristova; P. Troyanova; E. Pavlova; N. Penkov; I. Bratchenko; V. Zakharov; I. Lihachova; I. Kuzmina; J. Spigulis // *20th International Conference and School on Quantum Electronics: Laser Physics and Applications*. – 2019. – 11047.
9. Khristoforova, Y.A. Portable spectroscopic system for in vivo skin neoplasms diagnostics by Raman and autofluorescence analysis / Y. Khristoforova, I. Bratchenko, D. Artemyev, O. Myakinin, S. Kozlov, A. Moryatov, V. Zakharov // *J. Biophotonics*. – 2019. – 12(4). – С. 186–192.
10. Alfano, R. Fluorescence spectra from cancerous and normal human breast and lung tissues / R. Alfano, G. Tang, A. Pradhan, W. Lam, D. Choy, E. Opher // *IEEE J. Quantum Electron*. – 1987. – 23(10). – С. 1806–1811.
11. Kolli, V.R. et al. Native cellular fluorescence can identify changes in epithelial thickness in-vivo in the upper aerodigestive tract / V.R. Kolli, A.R. Shaha, H.E. Savage, P.G. Sacks, M.A. Casale, S.P. Schantz // *Am. J. Surg*. – 1995. – 170(5). – С. 495–498.
12. Koenig, K. Laser-induced autofluorescence for medical diagnosis / K. Koenig, H. Schneckenburger // *J. Fluoresc*. – 1994. – 4(1). – С. 17–40.
13. Currie, E. Cellular fatty acid metabolism and cancer / E. Currie, A. Schulze, R. Zechner, T.C. Walther, R.V. Farese // *Cell Metab*. – 2013. – 18(2). – С. 153–161.
14. Tuchin, V.V. Handbook of Optical Biomedical Diagnostics, Second Edition, Volume 1: Light-Tissue Interaction. – SPIE Press, Bellingham, 2016. – 864 с.
15. Georgakoudi, I. Optical imaging using endogenous contrast to assess metabolic state / I. Georgakoudi, K.P. Quinn // *Annu. Rev. Biomed. Eng*. – 2012. – 14. – С. 351–367.

16. Lukina, M.M. Metabolic imaging in the study of oncological processes / M.M. Lukina, M.V. Shirmanova, T.F. Sergeeva, E.V. Zagaynova // *Современные технологии в медицине*. – 2016. –8(4). – С. 113–124.
17. Chang, S.K. Model-based analysis of clinical fluorescence spectroscopy for in vivo detection of cervical intraepithelial dysplasia / S.K. Chang, N. Marin, M. Follen, R. Richards–Kortum // *J. Biomed. Opt.* – 2006. – 11(2). – 024008.
18. Pavlova, I. Microanatomical and Biochemical Origins of Normal and Precancerous Cervical Autofluorescence Using Laser- scanning Fluorescence Confocal Microscopy / I. Pavlova, K. Sokolov, R. Drezek, A. Malpica, M. Follen, R. Richards–Kortum // *Photochem. Photobiol.* – 2003. – 77(5). – С. 550–555.
19. Moesta, K.T. Protoporphyrin IX occurs naturally in colorectal cancers and their metastases / K.T. Moesta, B. Ebert, T. Handke, D. Nolte, C. Nowak, W.E. Haensch, R.K. Pandey, T.J. Dougherty, H. Rinneberg, P.M. Schlag // *Cancer Res.* – 2001. – 61(3). – С. 991–999.
20. Croce, A.C. Naturally-occurring porphyrins in a spontaneous-tumour bearing mouse model / A.C. Croce, G. Santamaria, U. De Simone, F. Lucchini, I. Freitas, G. Bottiroli // *Photochem. Photobiol. Sci.* – 2011. – 10(7). – С. 1189–1195.
21. Council of the Organisation for Economic cooperation and Development. OECD Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring // OECD Environmental Health and Safety Publications. – Organisation for Economic Co-operation and Development, 1998. – Режим доступа: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecdseriesonprinciplesofgoodlaboratorypracticeglpandcompliance/monitoring.htm>
22. Lualdi, M. Early detection of colorectal adenocarcinoma: a clinical decision support tool based on plasma porphyrin accumulation and risk factors / M. Lualdi, A. Cavalleri, L. Battaglia, A. Colombo, G. Garrone, D. Morelli, E. Pignoli, E. Sottotetti, E. Leo // *BMC Cancer.* – 2018. – 18(1). – 841.
23. Kemmner, W. Silencing of human ferrochelatase causes abundant protoporphyrin-IX accumulation in colon cancer / W. Kemmner, K.Wan, S. Ruettinger, B. Ebert, R. Macdonald, U. Klamm, K.T. Moesta // *The FASEB J.* – 2008. – 22(2). – С. 500–509.
24. Sachar M. Protoporphyrin IX: the good, the bad, and the ugly / M. Sachar M., K.E. Anderson, X. Ma // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2016. – 356(2). – С. 267–275.

Шуплецов Валерий Витальевич
 ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева», г. Орёл, Россия
 Магистр направления «Приборостроение», стажер-исследователь научно-технологического центра биомедицинской фотоники
 302020, г. Орёл, Наугорское шоссе, 29
 Тел.: +7-4862-41-98-37
 E-mail: matoka_97@mail.ru

Кандурова Ксения Юрьевна
 ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева», г. Орёл, Россия
 Магистр направления «Биотехнические системы и технологии», стажер-исследователь научно-технологического центра биомедицинской фотоники
 302020, г. Орёл, Наугорское шоссе, 29
 Тел.: +7-4862-41-98-37
 E-mail: kandkseniya@gmail.com

Серегина Евгения Сергеевна
 ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева», г. Орёл, Россия
 Магистр направления «Биотехнические системы и технологии», стажер-исследователь научно-технологического центра биомедицинской фотоники
 302020, г. Орёл, Наугорское шоссе, 29
 Тел.: +7-4862-41-98-37
 E-mail: e.s.seryogina@gmail.com

Потапова Елена Владимировна
 ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева», г. Орёл, Россия
 Кандидат технических наук, научный сотрудник научно-технологического центра биомедицинской фотоники
 302020, г. Орел, Наугорское шоссе, 29
 Тел.: +7-4862-41-98-37
 E-mail: potapova_ev_ogu@mail.ru

Дремин Виктор Владимирович
 ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева», г. Орёл, Россия
 Кандидат технических наук, научный сотрудник научно-технологического центра биомедицинской фотоники
 302020, г. Орёл, Наугорское шоссе, 29
 Тел.: +7-4862-41-98-37
 E-mail: dremin_viktor@mail.ru

Мамошин Андриан Валерьевич
 ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева», г. Орёл, Россия
 Кандидат медицинских наук, доцент, врач-хирург Орловской областной клинической больницы; старший научный сотрудник научно-технологического центра биомедицинской фотоники
 302020, г. Орел, Наугорское шоссе, 29
 Тел.: +7-4862-41-98-37
 E-mail: dr.mamoshin@mail.ru

Подмастерьев Константин Валентинович
 ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева», г. Орёл, Россия
 Доктор технических наук, профессор, директор Института приборостроения, автоматизации и информационных технологий
 302020, г. Орёл, Наугорское шоссе, 29
 Тел.: +7-4862-41-98-76
 E-mail: asms-orel@mail.ru

Дунаев Андрей Валерьевич
 ФГБОУ ВО «ОГУ имени И.С. Тургенева», г. Орёл, Россия
 Кандидат технических наук, доцент, ведущий научный сотрудник научно-технологического центра биомедицинской фотоники
 302020, г. Орёл, Наугорское шоссе, 29
 Тел.: +7-4862-41-98-06
 E-mail: dunaev@bmccenter.ru

V.V. SHUPLETSOV, K.Y. KANDUROVA, E.S. SERYOGINA, E.V. POTAPOVA,
V.V. DREMIN, A.V. MAMOSHIN, K.V. PODMASTERYEV, A.V. DUNAEV

DEVICE FOR FLUORESCENCE IMAGING OF TUMOR TISSUES

Abstract. *The search for additional methods that provide information about the tumor cells presence in the organs resection margin in real time during surgical interventions is relevant problem of oncology. The paper describes an experimental setup that implements one of the promising methods of modern optical diagnostics – fluorescence imaging with the possibility of application during the surgery. The results of experimental studies using developed setup to obtain fluorescence images of laboratory animals internal organs when modeling a malignant liver tumor are presented. In conclusion, the possibility of using the developed fluorescence imaging system to determine the presence of tumor cells in the organs resection margin are proposed.*

Keywords: *optical biopsy, fluorescence imaging, hepatocellular carcinoma.*

BIBLIOGRAPHY

1. The Cancer Atlas, 3rd edition // International Agency for Research on Cancer; 2019. – URL: <https://canceratlas.cancer.org/>.
2. Patyutko, Y.I. Ensuring radical surgery for liver malignancies / Y.I. Patyutko, D.V. Podluzhny, N.E. Kudashkin, A.N. Polyakov, E.V. Gluhov, O.N. Solovieva, Z.A. Dudaev // *Annaly khirurgicheskoy gepatologii = Annals of HPB Surgery*. – 2019. – 23(4). – P. 118–125.
3. Patyutko, Y.I. Evolution of surgery for pancreatic head and periampullary cancer / Y.I. Patyutko, A.G. Kotelnikov, A.N. Polyakov, V.D. Podluzhnyi // *Annaly khirurgicheskoy gepatologii = Annals of HPB Surgery*. – 2019. – 23(4). – P. 45–53.
4. Alfano R. Optical biopsy for cancer detection / R. Alfano, Y. Pu // *Lasers for Medical Applications*. – Woodhead Publishing, 2013. – P. 325–367.
5. Kandurova, K.Y. Optical biopsy methods and their prospects of application for intraoperative analysis of tissue metabolism and blood microcirculation in minimally invasive surgery / K.Y. Kandurova, V.V. Dremmin, E.A. Zherebtsov, A.L. Alyanov, A.V. Mamoshin, E.V. Potapova, A.V. Dunaev, V.F. Muradyan, V.V. Sidorov, A.I. Krupatkin // *Regional blood circulation and microcirculation*. – 2018. – 17(3). – P. 71–79.
6. Croce, A.C. Autofluorescence spectroscopy and imaging: A tool for biomedical research and diagnosis / A.C. Croce, G. Bottiroli // *Eur. J. Histochem*. – 2014. – 58(4). – P. 320–337.
7. Ramanujam N. Fluorescence spectroscopy in vivo / N. Ramanujam // *Encyclopedia of Analytical Chemistry: Applications, Theory and Instrumentation*. – Wiley Online Library, 2006. – P. 20–56.
8. Borisova, E. Multispectral autofluorescence detection of skin neoplasia using steady-state techniques / E. Borisova; A. Gisbrecht; T. Genova-Hristova; P. Troyanova; E. Pavlova; N. Penkov; I. Bratchenko; V. Zakharov; I. Lihachova; I. Kuzmina; J. Spigulis // *20th International Conference and School on Quantum Electronics: Laser Physics and Applications*. – 2019. – 11047.
9. Khristoforova, Y.A. Portable spectroscopic system for in vivo skin neoplasms diagnostics by Raman and autofluorescence analysis / Y. Khristoforova, I. Bratchenko, D. Artemyev, O. Myakinin, S. Kozlov, A. Moryatov, V. Zakharov // *J. Biophotonics*. – 2019. – 12(4). – P. 186–192.
10. Alfano, R. Fluorescence spectra from cancerous and normal human breast and lung tissues / R. Alfano, G. Tang, A. Pradhan, W. Lam, D. Choy, E. Opher // *IEEE J. Quantum Electron*. – 1987. – 23(10). – P. 1806–1811.
11. Kolli, V.R. et al. Native cellular fluorescence can identify changes in epithelial thickness in-vivo in the upper aerodigestive tract / V.R. Kolli, A.R. Shaha, H.E. Savage, P.G. Sacks, M.A. Casale, S.P. Schantz // *Am. J. Surg*. – 1995. – 170(5). – P. 495–498.
12. Koenig, K. Laser-induced autofluorescence for medical diagnosis / K. Koenig, H. Schneckenburger // *J. Fluoresc*. – 1994. – 4(1). – P. 17–40.
13. Currie, E. Cellular fatty acid metabolism and cancer / E. Currie, A. Schulze, R. Zechner, T.C. Walther, R.V. Farese // *Cell Metab*. – 2013. – 18(2). – P. 153–161.
14. Tuchin, V.V. *Handbook of Optical Biomedical Diagnostics, Second Edition, Volume 1: Light-Tissue Interaction*. – SPIE Press, Bellingham, 2016. – 864 p.
15. Georgakoudi, I. Optical imaging using endogenous contrast to assess metabolic state / I. Georgakoudi, K.P. Quinn // *Annu. Rev. Biomed. Eng*. – 2012. – 14. – P. 351–367.
16. Lukina, M.M. Metabolic imaging in the study of oncological processes / M.M. Lukina, M.V. Shirmanova, T.F. Sergeeva, E.V. Zagaynova // *Современные технологии в медицине*. – 2016. – 8(4). – P. 113–124.
17. Chang, S.K. Model-based analysis of clinical fluorescence spectroscopy for in vivo detection of cervical intraepithelial dysplasia / S.K. Chang, N. Marin, M. Follen, R. Richards-Kortum // *J. Biomed. Opt*. – 2006. – 11(2). – 024008.
18. Pavlova, I. Microanatomical and Biochemical Origins of Normal and Precancerous Cervical Autofluorescence Using Laser-scanning Fluorescence Confocal Microscopy / I. Pavlova, K. Sokolov, R. Drezek, A. Malpica, M. Follen, R. Richards-Kortum // *Photochem. Photobiol*. – 2003. – 77(5). – P. 550–555.

19. Moesta, K.T. Protoporphyrin IX occurs naturally in colorectal cancers and their metastases / K.T. Moesta, B. Ebert, T. Handke, D. Nolte, C. Nowak, W.E. Haensch, R.K. Pandey, T.J. Dougherty, H. Rinneberg, P.M. Schlag // *Cancer Res.* – 2001. – 61(3). – P. 991–999.

20. Croce, A.C. Naturally-occurring porphyrins in a spontaneous-tumour bearing mouse model / A.C. Croce, G. Santamaria, U. De Simone, F. Lucchini, I. Freitas, G. Bottiroli // *Photochem. Photobiol. Sci.* – 2011. – 10(7). – P. 1189–1195.

21. Council of the Organisation for Economic cooperation and Development. OECD Series on Principles of Good Laboratory Practice and Compliance Monitoring // OECD Environmental Health and Safety Publications. – Organisation for Economic Co-operation and Development, 1998. – Режим доступа: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/oecdseriesonprinciplesofgoodlaboratorypracticegplandcompliancemonitoring.htm>

22. Lualdi, M. Early detection of colorectal adenocarcinoma: a clinical decision support tool based on plasma porphyrin accumulation and risk factors / M. Lualdi, A. Cavalleri, L. Battaglia, A. Colombo, G. Garrone, D. Morelli, E. Pignoli, E. Sottotetti, E. Leo // *BMC Cancer.* – 2018. – 18(1). – 841.

23. Kemmner, W. Silencing of human ferrochelatase causes abundant protoporphyrin-IX accumulation in colon cancer / W. Kemmner, K.Wan, S. Ruettinger, B. Ebert, R. Macdonald, U. Klamm, K.T. Moesta // *The FASEB J.* – 2008. – 22(2). – P. 500–509.

24. Sachar M. Protoporphyrin IX: the good, the bad, and the ugly / M. Sachar M., K.E. Anderson, X. Ma // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* – 2016. – 356(2). – P. 267–275.

Shupletsov Valery Vitalievich

Orel State University named after I.S. Turgenev, Orel, Russia
Master of Instrumentation, research assistant of Research and Development Center of Biomedical Photonics
302020, Orel, Naugorskoe Shosse, 29
Ph.: +7-4862-41-98-37
E-mail: matoka_97@mail.ru

Kandurova Ksenia Yurievna

Orel State University named after I.S. Turgenev, Orel, Russia
Master of Biotechnical Systems and Technologies, research assistant of Research and Development Center of Biomedical Photonics
302020, Orel, Naugorskoe Shosse, 29
Ph.: +7-4862-41-98-37
E-mail: kandkseniya@gmail.com

Seryogina Evgenia Sergeevna

Orel State University named after I.S. Turgenev, Orel, Russia
Master of I Biotechnical Systems and Technologies, research assistant of Research and Development Center of Biomedical Photonics
302020, Orel, Naugorskoe Shosse, 29
Ph.: +7-4862-41-98-37
E-mail: e.s.seryogina@gmail.com

Potapova Elena Vladimirovna

Orel State University named after I.S. Turgenev, Orel, Russia
Ph.D., researcher of Research and Development Center of Biomedical Photonics
302020, Orel, Naugorskoe Shosse, 29
Ph.: +7-4862-41-98-37
E-mail: potapova_ev_ogu@mail.ru

Dremin Viktor Vladimirovich

Orel State University named after I.S. Turgenev, Orel, Russia
Ph.D., researcher of Research and Development Center of Biomedical Photonics
302020, Orel, Naugorskoe Shosse, 29
Ph.: +7-4862-41-98-37
E-mail: dremin_viktor@mail.ru

Mamoshin Andrian Valerievich

Orel State University named after I.S. Turgenev, Orel, Russia
M. D., associate professor, surgeon, Orel Regional Clinical Hospital, Senior Researcher of Research and Development Center of Biomedical Photonics
302020, Orel, Naugorskoe Shosse, 29
Ph.: +7-4862-41-98-37
E-mail: dr.mamoshin@mail.ru

Podmasteryev Konstantin Valentinovich

Orel State University named after I.S. Turgenev, Orel, Russia
Doctor of Technical Sciences, professor, director of Institute of Instrument Engineering, Automation and Information Technologies
302020, Orel, Naugorskoe Shosse, 29
Ph.: +7-4862-41-98-76
E-mail: asms-orel@mail.ru

Dunaev Andrey Valerievich

Orel State University named after I.S. Turgenev, Orel, Russia
Ph.D., leading researcher of Research and Development Center of Biomedical Photonics
302020, Orel, Naugorskoe Shosse, 29
Ph.: +7-4862-41-98-06
E-mail: dunaev@bmccenter.ru