

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ КИСЛОРОДНОГО СТАТУСА И СОСТОЯНИЯ МИКРОЦИРКУЛЯЦИИ БИОТКАНЕЙ: ОПТИЧЕСКАЯ ДИФФУЗИОННАЯ СПЕКТРОСКОПИЯ (ОБЗОР)

DOI 10.17691/stm2018.10.4.22

УДК 577:616–073.584

Поступила 2.02.2018 г.

© **В.В. Бесчастнов**, д.м.н., профессор-консультант хирургического отделения¹;
М.Г. Рябков, д.м.н., профессор-консультант хирургического отделения¹;
И.В. Павленко, врач-ординатор хирургического отделения¹;
М.В. Багрянцев, врач-ординатор хирургического отделения¹;
И.Л. Дезорцев, к.м.н., зав. 1-м хирургическим отделением²;
В.В. Кичин, врач-ординатор хирургического отделения¹;
М.С. Балеев, врач-ординатор хирургического отделения¹;
А.В. Масленикова, д.м.н., профессор кафедры онкологии³;
А.Г. Орлова, к.б.н., старший научный сотрудник отдела радиофизических методов в медицине⁴;
М.С. Клешнин, научный сотрудник отдела радиофизических методов в медицине⁴;
И.В. Турчин, к.ф.-м.н., зав. отделом радиофизических методов в медицине⁴

¹Городская клиническая больница №30, ул. Березовская, 85а, Н. Новгород, 603157;

²Областная клиническая больница им. Н.Н. Семашко, ул. Родионова, 190, Н. Новгород, 603093;

³Приволжский исследовательский медицинский университет, пл. Минина и Пожарского, 10/1, Н. Новгород, 603005;

⁴Федеральный исследовательский центр Институт прикладной физики Российской академии наук, ул. Ульянова, 46, Н. Новгород, 603950

Проблема изучения кислородного статуса и микроциркуляции биотканей представляет особый интерес для многих направлений медицинской науки, поскольку одной из причин развития гипоксии как типового патофизиологического процесса является микроциркуляторный «сбой», связанный с нарушением нормальной анатомии капиллярной стенки, изменением реологических свойств крови, ускорением или замедлением микрокровотока. Современные методы медицинской визуализации позволяют изучить процессы жизнедеятельности биосистем на самых разных уровнях организации: от органов и тканей до молекулярного состава веществ. Благодаря внедрению в клиническую практику методов функционального биоимиджинга появилась возможность наблюдать в режиме реального времени за процессами перемещения веществ в организме, мониторить параметры кровотока, оценивать уровень гипоксии, более детально характеризовать метаболизм и при этом вовремя проводить корректировку патологических состояний.

В обзоре представлены основные достоинства и недостатки таких методов имиджинговых исследований, как функциональная магнитно-резонансная томография в режиме BOLD, позитронно-эмиссионная томография, оптический имиджинг, лазерная доплеровская флоуметрия, транскутанная оксиметрия. Особое внимание уделено перспективной неинвазивной методике прижизненного изучения содержания веществ в биотканях — оптической диффузионной спектроскопии.

Принцип оптической диффузионной спектроскопии основан на способности тканевых хромофоров (оксигемоглобин, дезоксигемоглобин, жирные кислоты, коллаген) поглощать диффузно-рассеянный свет определенной длины волны. С учетом коэффициентов поглощения хромофоров рассчитывают их концентрации. Оптическая диффузионная спектроскопия внедряется в клиническую практику для диагностики степени малигнизации опухолей, оценки васкуляризации при реконструктивных операциях, диагностики гипоксических состояний тканей, интраоперационного мониторинга параметров кровотока, определения уровня гипоксии при сахарном диабете. С ее помощью представляется возможным определение и уточнение показаний к кожно-пластическим операциям и, возможно, к разработке новых способов кожной пластики.

Ключевые слова: функциональный биоимиджинг; кислородный статус тканей; микроциркуляция; гипоксия; оптическая диффузионная спектроскопия; реконструктивные операции; сахарный диабет.

Как цитировать: Beschastnov V.V., Ryabkov M.G., Pavlenko I.V., Bagryantsev M.V., Dezortsev I.L., Kichin V.V., Baleev M.S., Maslennikova A.V., Orlova A.G., Kleshnin M.S., Turchin I.V. Current methods for the assessment of oxygen status and biotissue microcirculation condition: diffuse optical spectroscopy (review). *Sovremennye tehnologii v medicine* 2018; 10(4): 183–194, <https://doi.org/10.17691/stm2018.10.4.22>

Для контактов: Павленко Илья Викторович, e-mail: ilyapavlenko@bk.ru

Current Methods for the Assessment of Oxygen Status and Biotissue Microcirculation Condition: Diffuse Optical Spectroscopy (Review)

V.V. Beschastnov, MD, DSc, Consulting Professor, Surgical Unit¹;
 M.G. Ryabkov, MD, DSc, Consulting Professor, Surgical Unit¹;
 I.V. Pavlenko, Resident, Surgical Unit¹;
 M.V. Bagryantsev, Resident, Surgical Unit¹;
 I.L. Dezortsev, MD, PhD, Head of the First Surgical Unit²;
 V.V. Kichin, Resident, Surgical Unit¹;
 M.S. Balejev, Resident, Surgical Unit¹;
 A.V. Maslennikova, MD, DSc, Professor, Oncology Department³;
 A.G. Orlova, PhD, Senior Researcher, Department of Radiophysical Methods in Medicine⁴;
 M.S. Kleshnin, Researcher, Department of Radiophysical Methods in Medicine⁴;
 I.V. Turchin, PhD, Head of the Department of Radiophysical Methods in Medicine⁴

¹Municipal Hospital No.30, 85a Beryozovskaya St., Nizhny Novgorod, 603157, Russia;

²N.N. Semashko Regional Clinical Hospital, 190 Rodionova St., Nizhny Novgorod, 603093, Russia;

³Privolzhsky Research Medical University, 10/1 Minin and Pozarsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russia;

⁴Federal Research Center Institute of Applied Physics of the Russian Academy of Sciences, 46 Ulyanova St., Nizhny Novgorod, 603950, Russia

The problem of studying the oxygen status and biotissue microcirculation is of special interest for many directions in medical science since one of the causes of hypoxia development as a typical pathophysiological process is a microcirculatory “failure” associated with the impairment of normal anatomy of the capillary wall, changes in the rheological blood properties, acceleration or slowdown of the blood flow. Current imaging techniques enable the researchers to study the processes of biosystem vital activity at various levels: from organs and tissues to the substance molecular composition. Methods of functional bioimaging implemented into clinical practice provide the opportunity of watching online the processes of substance movement in the body, monitoring blood flow parameters, assessing hypoxia level, characterizing metabolism in greater detail, and, at the same time, correcting timely pathological conditions.

The main advantages and disadvantages of bioimaging examination methods such as BOLD functional magnetic resonance tomography, positron emission tomography, optical imaging, laser Doppler flowmetry, and transcutaneous oximetry are considered in the present review. Special attention is paid to diffuse optical spectroscopy as a noninvasive method of lifetime study of substance content in biotissues.

The principle of diffuse optical spectroscopy is based on the ability of tissue chromophores (oxyhemoglobin, deoxyhemoglobin, fatty acids, collagen) to absorb diffusely scattered light of a definite wavelength. Their concentrations are calculated with the allowance for the absorption coefficients of chromophores. Diffuse optical spectroscopy is being introduced in clinical practice to diagnose the degree of tumor malignization, evaluate vascularization in reconstructive operations, diagnose hypoxic tissue conditions, monitor intraoperatively blood flow parameters, measure hypoxia levels in diabetes mellitus. It provides the possibility to define and make clear indications to skin plastic surgery and, conceivably, to develop new methods of skin plasty.

Key words: functional bioimaging; tissue oxygen status; microcirculation; hypoxia; diffuse optical spectroscopy; reconstructive operations; diabetes mellitus.

Введение

В настоящее время диагностика патологических состояний, профилактические обследования и научно-исследовательские работы невозможны без использования методов визуализации. При традиционной парадигме клинического мышления исследования опирались на методы, позволяющие оценивать анатомические изменения в организме человека (структурная визуализация).

Принципиально новая возможность появилась с развитием техники: в настоящее время существуют методы, обеспечивающие оценку функционального состояния тканей. Эта возможность до недавнего времени не могла быть технически реализована ввиду многокомпонентности химического состава и сложной организации структуры тканей, а значит, опасности нарушения работы тонко настроенной биологической системы за счет возможного отклика на производимое воздействие [1–4]. С появлением

методов, основанных на возможностях компьютерной обработки данных о распространении и взаимодействии излучения различной природы с биологическими средами, стало возможным сформировать новое направление в диагностике состояния тканей и органов — функциональный имиджинг, позволяющий оценить уровень метаболизма, гемодинамику, изменение биохимического состава.

Методы функционального имиджинга

К методам функционального имиджинга относятся позитронно-эмиссионная томография (ПЭТ), функциональная магнитно-резонансная томография (фМРТ), а также методы оптического биоимиджинга (ОКТ и оптическая диффузионная спектроскопия — ОДС).

Диагностический потенциал ПЭТ высок и позволяет изучать такие разные процессы, как метаболизм, транспорт веществ, лиганд-рецепторные взаимодействия, экспрессию генов и т.д., однако метод является технически сложным, несет большую лучевую нагрузку, а его диагностическая мощность в значительной степени определяется арсеналом доступных меченых химических соединений — радиофармпрепаратов [5].

Метод фМРТ — разновидность магнитно-резонансной томографии. Это активно развивающийся метод нейровизуализации, который используется для измерения гемодинамических реакций, вызванных активностью головного или спинного мозга. Он основывается на том, что мозговой кровоток и активность нейронов связаны между собой [5–8].

Под оптическим биоимиджингом в настоящее время понимается совокупность методов, использующих различные эффекты взаимодействия света (рассеяние, поглощение, флуоресценцию, оптоакустические и акустооптические эффекты) с биологическими тканями [9–11]. Эти эффекты могут быть многократно усилены путем введения дополнительных контрастных агентов [12]. Отличительной особенностью оптических методов визуализации биотканей является высокая молекулярная чувствительность, которая реализуется благодаря различиям в спектрах поглощения различных хромофоров тканей. При этом некоторые хромофоры достаточно сильно флуоресцируют, что существенно увеличивает контраст и, соответственно, молекулярную чувствительность.

Следует учесть, что клеточное и субклеточное разрешение в оптической микроскопии возможно лишь на небольших глубинах [12] (рис. 1).

Фундаментальной исследовательской задачей оптического биоимиджинга является визуализация функциональной активности живых биологических систем на тканевом, клеточном и субклеточном уровнях в реальном масштабе времени, а прикладной целью — создание но-

вых методов диагностики и контроля физиологических и патологических процессов.

Методы оценки кровотока

Среди типовых патологических состояний особый интерес представляет гипоксия, поскольку нарушение доставки и утилизации кислорода тканями определяет течение целых групп заболеваний, таких как опухолевые процессы, осложнения сахарного диабета, трофические язвы. Гипоксия представляет собой состояние дефицита кислорода в организме, в отдельном органе или ткани вследствие либо его недостаточного поступления извне, либо нарушений процесса биологического окисления на клеточном уровне [13].

Ключевое значение для оценки уровня доставки кислорода к биологическим тканям имеет информация о состоянии сосудистого, в том числе микроциркуляторного русла.

Широко применяемые в клинике методы оценки кровотока и микроциркуляции — измерение пальцевого систолического давления, определение лодыжечно-плечевого индекса, компьютерная капилляроскопия, рентгеноконтрастная ангиография, магнитно-резонансная ангиография, мультиспиральная компьютерная томография — дают представление о состоянии кровеносного русла до уровня пальцевых артерий. УЗИ сосудистого русла (ультразвуковая доплерография и сегментарная доплероманометрия, ультразвуковое ангиосканирование) также оценивает только макрососудистый компонент кровоснабжения тканей.

Функциональная магнитно-резонансная томография, ПЭТ и КТ с эмиссией одиночных фотонов с контрастирующими агентами малодоступны для широкого применения в силу высокой стоимости. Метод фМРТ и ПЭТ способны идентифицировать зоны не-

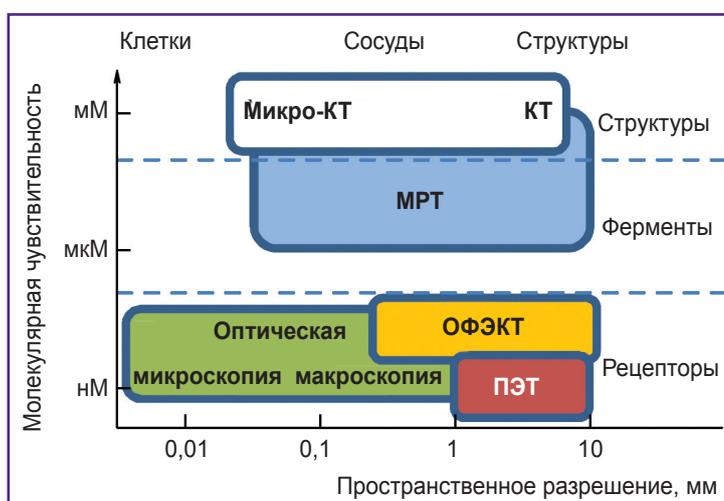


Рис. 1. Сравнение молекулярной чувствительности различных методов визуализации:

КТ — компьютерная томография, МРТ — магнитно-резонансная томография, ОФЭКТ — однофотонная эмиссионная компьютерная томография, ПЭТ — позитронно-эмиссионная томография [12]

кротизированных и жизнеспособных тканей, однако их разрешающая способность не позволяет визуализировать капилляры, используемое оборудование не отвечает требованиям портативности, невысокой стоимости и не предполагает многократного повторения процедуры [14, 15].

Наиболее информативный метод исследования в современной клинической практике — рентгеноконтрастная ангиография — является инвазивным методом, связанным с введением в сосудистое русло инородных веществ. Современные возможности ангиографии не позволяют визуализировать капиллярное русло человека и животных, а при исследовании более крупных сосудов не имеют реальной возможности длительного мониторинга их состояния [16–19]. Изучение эндотелийзависимой вазодилатации (веноокклюзионная плетизмография на фоне введения ацетилхолина и нитроглицерина), реолимфография, импедансометрия, тепловизионное исследование дают только косвенную информацию об адекватности кровоснабжения тканей.

Для прижизненной визуализации микроциркуляции активно развиваются и технологически совершенствуются методы микроскопии, основанные на методе темного поля (sidestream dark field imaging — SDF) [20–23]. Однако они не дают разрешения по глубине, а создают только изображения «анфас», как в обычной микроскопии, и ограничены малой глубиной визуализации (не более 1 мм).

Перспективным направлением прижизненной диагностики является использование экзогенных флуорофоров и фотосенсибилизаторов. В частности, с помощью флуоресцеина и индоцианина зеленого проводится прижизненная оценка микроциркуляции [24–28]. Однако флуоресцентная визуализация сосудистого русла не является label free (без метки) методом. Флуоресцеин излучает в видимой области, поэтому нет возможности исследовать глубоко лежащие патологические очаги, а индоцианин зеленый взаимодействует с белками крови и имеет невысокий выход флуоресценции [29–32].

Методы исследования кислородного статуса тканей

Измерение парциального давления кислорода в тканях методом полярографии с вводимыми микроэлектродами является инвазивным методом, выполнять который крайне нежелательно при скомпрометированной микроциркуляции, например у больных сахарным диабетом. Гистоморфометрическое исследование, являясь «золотым стандартом» в верификации некротических изменений и других нарушений морфологической структуры тканей, в принципе не предполагает исследования нативной ткани *in vivo*, кроме того, при этом невозможно проведение повторного исследования.

При помощи транскутанной оксиметрии можно по-

лучить данные о напряжении кислорода в тканях, но вопрос о том, шунтируется или утилизируется связанный с гемоглобином кислород, остается открытым [33–35]. Лазерная доплеровская флоуметрия не обеспечивает визуализации, представляя результаты исследования сосудов в виде цифровых данных [36–39]. К числу методов, позволяющих осуществлять визуализацию кислородонасыщения тканей, можно отнести фМРТ с эффектом BOLD, ПЭТ с изотопами $^{15}\text{O}_2$ и селективными маркерами гипоксии (такими как ^8F -флуоротимидин) [40], фосфоресцентный имиджинг с кислородчувствительными красителями [41].

Оптическая диффузионная спектроскопия

Оптическая диффузионная спектроскопия является одной из разновидностей методов оптического биоимиджинга. Это перспективная методика, которая отвечает современным критериям надежности, непрерывности и неинвазивности [42–44] и позволяет измерять оксигенацию ткани на глубине до 8 см. Идея данной методики заключается в зондировании тканей оптическим излучением и регистрации диффузно-рассеянного света для расчета показателей поглощения и транспортного рассеяния (рис. 2, а) [45–47].

Величина транспортного показателя описывает особенности клеточного строения ткани, а величина коэффициента поглощения позволяет оценить концентрации биологических хромофоров (оксигемоглобина, дезоксигемоглобина, воды, жиров, коллагена и др.) [48–51]. При этом концентрация общего гемоглобина отражает кровенаполнение ткани, оксигемоглобина — поступление кислорода, а дезоксигемоглобина — его потребление.

Основная сложность метода ОДС заключается в расчете оптических свойств ткани по параметрам диффузно-рассеянного света. Этот расчет основан на математической модели, связывающей значения спектральной интенсивности зондирующего излучения внутри исследуемого объекта с показателями поглощения и транспортного рассеяния света [52–54].

Наиболее простой и коммерчески доступный способ использования метода ОДС заключается в измерении спектральной интенсивности диффузно-рассеянного света на разных расстояниях от источника зондирующего излучения (рис. 2, б) [55]. Однако такой подход требует постоянной калибровки устройства и корректного учета внешних факторов (фоновое освещение, коэффициент усиления приемного тракта, качество оптического контакта с тканью и т.д.). Применение амплитудно-модулированного (рис. 2, в) [56] или импульсного (рис. 2, г) [57] зондирующего излучения позволяет восстановить показатели поглощения и транспортного рассеяния в ткани по временным характеристикам зарегистрированного излучения (форма диффузно-рассеянного импульса или фазовый сдвиг измеренного сигнала) при фиксированном расстоянии между источником и приемником света, а

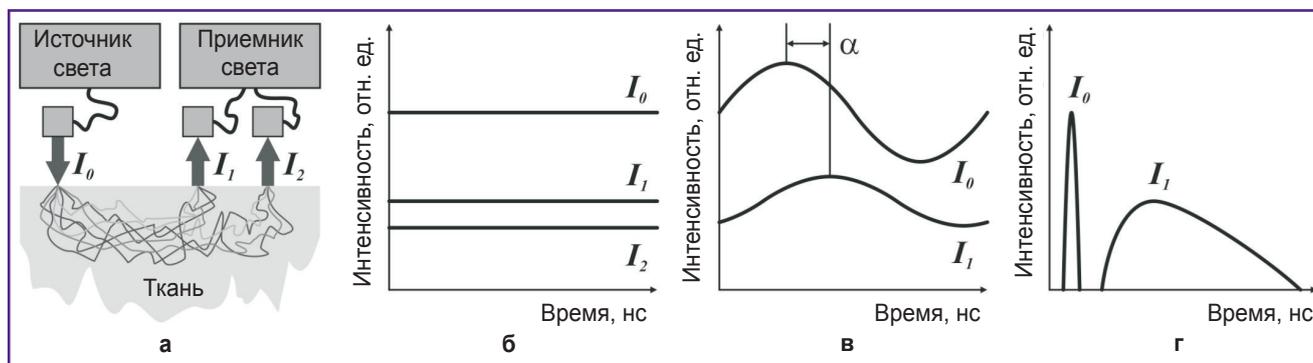


Рис. 2. Оптическая диффузионная спектроскопия:

схема измерений в оптической диффузионной спектроскопии (а), а также характерные временные зависимости спектральной интенсивности зондирующего излучения (I_0) и диффузно-рассеянного света (I_1 и I_2) для непрерывного (б), амплитудно-модулированного (в) и импульсного (г) источников света

также упрощает требования к калибровке устройства. Однако устройства ОДС с временным разрешением являются гораздо более сложными и дорогостоящими, поскольку требуют применения специальных источников и приемников излучения.

Для расчета оптических свойств ткани можно использовать пространственно-структурированное освещение исследуемого объекта и регистрировать распределение диффузного рассеяния по интересующей области [58, 59]. Такой подход обеспечивает бесконтактную диагностику, но ограничивает глубину исследования до 5–10 мм, тогда как для контактных методов глубина диагностики может достигать 60–80 мм. Важно также отметить, что измерения физических параметров диффузно-рассеянного света удобнее проводить в отражательной геометрии, когда источник и приемник излучения расположены по одну сторону биоткани [60], однако для исследования крупных образцов или на больших глубинах (более 40–50 мм) необходимо использовать проекционную геометрию измерений, когда источник и приемник света располагаются по разные стороны от объекта [61].

Для вычисления компонентного состава ткани по показателю поглощения света применяют известные табличные значения коэффициентов поглощения основных хромофоров — оксигемоглобина, дезоксигемоглобина, воды, жиров, коллагена (рис. 3) [62]. При этом для корректного выделения каждого из хромофоров необходимо проводить измерения спектральной интенсивности диффузно-рассеянного света на разных длинах волн зондирующего излучения. Спектральное разрешение измерений можно получить с использованием набора узкополосных источников света на разных длинах волн [63, 64] или одного широкополосного источника излучения и спектрометра в качестве приемника диффузно-рассеянного света [65]. Наиболее эффективный подход заключается в комбинировании нескольких методов. Например, можно использовать широкополосный источник зон-

дирующего излучения совместно с несколькими узкополосными амплитудно-модулированными или импульсными источниками света разной длины волны, а регистрацию диффузно-рассеянного излучения проводить несколькими приемниками [66].

Ввиду своей специфики (большие расстояния между источником и приемником света) методы ОДС обладают низким пространственным разрешением (1–10 мм), однако данный недостаток может быть преодолен путем применения гибридных подходов, сочетающих оптическую молекулярную чувствительность и высокое пространственное разрешение других методов визуализации — УЗИ [67], КТ или МРТ [68]. В настоящее время уже появились первые коммерческие оптоакустические приборы, позволяющие визуализи-

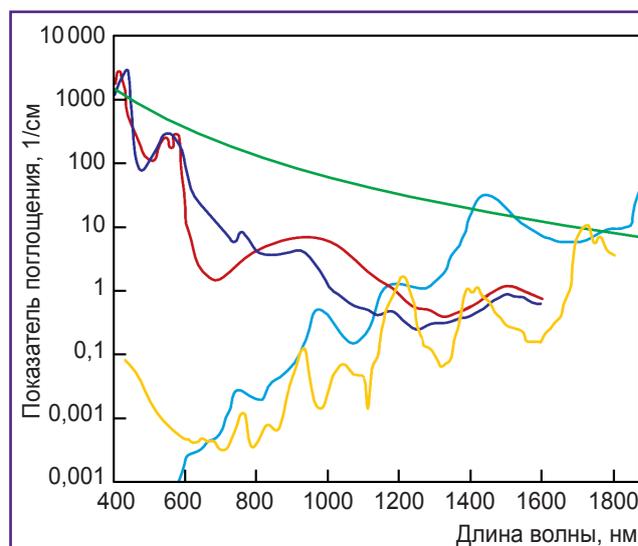


Рис. 3. Спектры поглощения для основных биологических хромофоров:

зеленый цвет — меланин; красный цвет — оксигемоглобин; синий цвет — дезоксигемоглобин; голубой цвет — вода; желтый цвет — липиды [12]

ровать трехмерное распределение хромофоров тканей (iThera Medical, Германия; TomoWave Laboratories, США; VisualSonics, Канада и др.), основным недостатком которых, тем не менее, являются сложность аппаратуры и высокая стоимость.

Области клинического применения оптической диффузионной спектроскопии. Анализ литературных данных свидетельствует, что метод ОДС становится мощным инструментом биомедицинских исследований таких патологических состояний, как злокачественные новообразования, патология кровеносного русла и кожно-пластические реконструкции. Области применения ОДС ограничены глубиной возможного исследования. Наибольшее число публикаций описывают ее применение для детектирования опухолей молочной железы и мониторинга их лечения, а также для изучения активности мозга и функционального имиджинга состояния кожи и мышечной ткани при различных патологиях.

Оценка васкуляризации при реконструкции органов и тканей. При помощи ОДС можно визуализировать артерии при ангиохирургических и пластических операциях [69, 70]. В литературе последних лет появилось большое количество сообщений об успешных результатах мониторинга при помощи ОДС поверхностно расположенных кожно-фасциальных лоскутов, используемых при реконструкции груди, с оценкой оксигенации тканей на глубине 5–12 мм [71–74]. Показано, что метод позволяет выявлять отклонения в кровоснабжении лоскута и питающей ножки раньше первых клинических проявлений [75]. В ряде работ подчеркивается, что при использовании ОДС для тканевой оксиметрии возможна вариабельность полученных значений, поэтому важна оценка динамики показателей, а не абсолютных цифр [76, 77]. В работе И.Ф. Малыхиной с соавт. [78], использовавших этот метод для оценки жизнеспособности кожного лоскута при свободной пластике на микрососудистых анастомозах, сделан вывод, что показатели оксигенации микрохирургически пересаженных лоскутов ниже 70% должны быть интерпретированы только в сравнении с показателями в контрольной, не скомпрометированной области, топографически наиболее схожей с реципиентной зоной. Основываясь на проведенных исследованиях, авторы считают, что ОДС позволяет дифференцировать артериальный и венозный характер нарушений перфузии, хотя возможности методики ограничены при формировании гематом и чрезмерном отеке лоскута. Необходимо особо подчеркнуть вывод авторов о том, что данные измерений необходимо интерпретировать на основе динамики их изменений, сравнения с контралатеральной стороной и абсолютными значениями. Кроме того, реконструкция изображения диффузионной оптической спектроскопии является сложной математической нелинейной обратной задачей, при решении которой нужно исключать фоновые «шумы», учитывать рассеяние света и возможные погрешности измерения [79–81].

Исследование новообразований молочной железы. Наиболее существенное клиническое значение ОДС имеет для скрининга, диагностики и мониторинга лечения новообразований молочной железы. Метод предоставляет ценную функциональную информацию относительно патофизиологических особенностей опухоли (метаболическая активность, ангиогенез, состояние кровотока) [82]. Злокачественные новообразования отличаются более высокой васкуляризацией по сравнению с окружающими нормальными тканями, что изменяет их оптические свойства [83]. Гипоксия является характерной чертой злокачественных новообразований, определяющей ответ опухолей на лечение и оказывающей влияние на прогноз [84].

В исследовании А.В. Масленниковой с соавт. [85] показана возможность использования метода ОДС для дифференцировки тканей опухоли от окружающих нормальных тканей по уровню насыщения крови кислородом, а также по содержанию окси- и дезоксигемоглобина. В зоне опухоли концентрация окси- и дезоксигемоглобина оказалась выше, чем в окружающих здоровых тканях, а уровень насыщения кислородом по сравнению с ними был снижен. При этом в проекции центра опухоли наблюдалось снижение концентрации оксигемоглобина, а по ее периферии — возрастание уровня данного соединения. В работе отмечается, что распределение концентраций изученных соединений существенно отличалось в каждом клиническом случае. В другом исследовании [86] при сравнении диагностической ценности ОДС в диагностике патологии молочной железы с методикой МРТ получены сопоставимые результаты.

Примеры изображений, характеризующих распределение коэффициентов рассеяния, содержания окси-, дезокси-, общего гемоглобина и уровня насыщения крови кислородом в опухолевой и нормальной ткани молочной железы, полученные методом ОДС, приведены на рис. 4.

Одним из основных направлений использования ОДС в онкологии стала дифференциальная диагностика злокачественных и доброкачественных новообразований молочной железы на основе информации о компонентном составе тканей опухоли (содержании воды, окси- и дезоксигемоглобина) [87, 88]. В последние годы предложены варианты использования ОДС для предсказания индивидуальной реакции новообразований на терапию и прогнозирования эффективности лечения [89–91].

Диагностика гипоксии тканей. ОДС является косвенным методом оценки кислородного статуса опухолей. Данные исследований по сравнению результатов, полученных с использованием ОДС и стандартных методов определения оксигенации (полярографии, иммуногистохимического анализа с маркером гипоксии), показали, что метод ОДС позволяет корректно определить уровень оксигенации биологических тканей и выявить тканевые механизмы возникающих изменений [92–94].

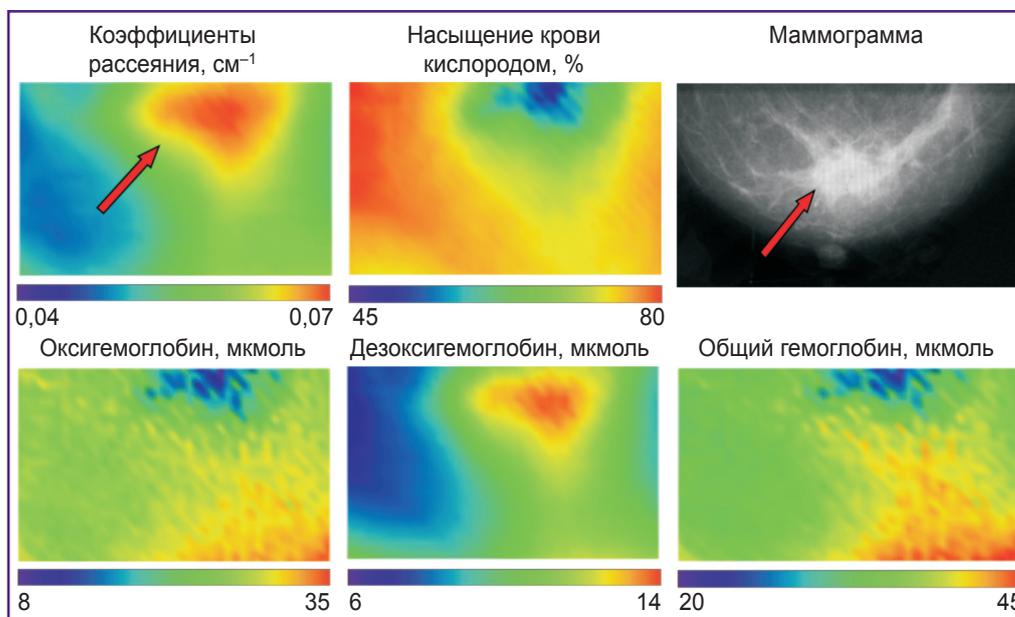


Рис. 4. Результаты маммографии и ОДС-исследования молочной железы пациентки с диагнозом «рак молочной железы»
Размер ОДС-изображений — 50x40 мм; стрелкой указана зона опухоли

В исследовании [95] изучали возможную взаимосвязь между данными, полученными при помощи ОДС с ультразвуковым контролем, и уровнем концентрации гипоксией-индуцируемого фактора (HIF-1 α) и CD34 при подтвержденном раке молочной железы. При иммуногистохимическом исследовании (HIF-1 α и CD34) выявлены различия в общей концентрации гемоглобина и плотности микрососудов между положительными и отрицательными группами по HIF-1 α . Сделан вывод, что HIF-1 α может способствовать ангиогенезу опухоли и таким образом увеличивать кровоснабжение и концентрацию гемоглобина, а ОДС может косвенно отражать ангиогенную активность рака молочной железы.

В работе [96] исследовали возможность применения ОДС для картирования опухолевых дезоксигемоглобина и оксигемоглобина у пациентов *in vivo*. Поскольку эти хромофоры реагируют по-разному на разных длинах волн, авторы использовали четыре лазерных диода с длиной волны 740, 780, 808 и 830 нм. Для подтверждения точности оценки насыщения кислородом в качестве диагностических целей выбирали очаги разных размеров, расположенные на разных глубинах. Абсолютные отклонения между показателями насыщения тканей гемоглобином, полученными из карт поглощения хромофоров, и измерениями кислорода, выполненными с использованием электрода рО₂, были меньше 8% по измеренному диапазону насыщения кислородом. Авторы считают доказанной возможность использования ОДС для определения насыщения тканей дезоксигемоглобином и оксигемоглобином при раке молочной железы.

Интраоперационный мониторинг параметров кровотока. Использование метода ОДС при мини-ин-

вазивных хирургических вмешательствах для профилактики повреждения важных анатомических структур предложено в работе [97]. Авторы в эксперименте на свиньях продемонстрировали возможность оценки показателей кровотока для интраоперационной идентификации сосудов забрюшинного пространства при лапароскопических манипуляциях в брюшной полости и забрюшинном пространстве.

Кровоснабжение тканей при диабете. Представляет несомненный интерес исследование, в котором авторы изучали возможности ОДС для оценки нарушений кровоснабжения нижних конечностей у больных диабетом [98]. В работе сравнивали активность перфузии у здоровых добровольцев, пациентов с атеросклерозом сосудов нижних конечностей и диабетической ангиопатией. Во всех трех группах выявлены существенные различия, связанные с концентрацией окси- и дезоксигемоглобина в ткани. В исследовании [99] также доказано снижение содержания общего гемоглобина и повышение уровня насыщения крови кислородом в тканях конечностей пациентов с диабетом по сравнению со здоровыми тканями.

Для мониторинга процессов репаративной регенерации диабетических язв в эксперименте на животных (крысы) разработана и используется методика применения метода ОДС в ближней инфракрасной области (680–830 нм) [100]. Отмечены различия в заживлении дефектов кожи в контроле (здоровые животные) и основной группе (диабет).

Интересные данные приведены в работе Н. Zhao с соавт. [101]. Авторы при выполнении ОДС в инфракрасном спектре получали *in vivo* изображения нижних конечностей и предплечья человека для оценки их

анатомических и функциональных показателей. При выполнении исследования удалось визуализировать некоторые из кровеносных сосудов. Кроме того, на основании анализа изменений концентрации оксигемоглобина, дезоксигемоглобина и общего гемоглобина в предплечье были получены сведения об изменениях объемного кровотока, концентрации оксигемоглобина в артериях, а также, что нам представляется наиболее интересным, одновременно диагностировано состояние гипоксии в соответствующих мышцах.

Заключение

Метод оптической диффузионной спектроскопии выгодно отличается от других существующих методов визуализации сосудистого русла тем, что позволяет не только диагностировать состояние гемодинамики, но и оценивать эффективность утилизации кислорода тканями. Способность оптической диффузионной спектроскопии оценивать гипоксический статус тканей, являющийся принципиально важным патогенетическим звеном таких патологических состояний, как опухолевые процессы и сахарный диабет, открывает новые возможности использования этого метода. В области онкологии перспективно применение оптической диффузионной спектроскопии для дифференциальной диагностики опухолевых процессов. При выполнении ангиопластических операций у больных с облитерирующими заболеваниями сосудов нижних конечностей оптическая диффузионная спектроскопия позволит уточнить показания, объем и эффективность оперативного вмешательства. Перспективно также использование оптической диффузионной спектроскопии для определения и уточнения показаний к кожно-пластическим операциям и, возможно, для разработки новых способов кожной пластики.

Финансирование исследования. Настоящая работа была выполнена при финансовой поддержке гранта Российского фонда фундаментальных исследований (проект №16-32-60093 мол_а_дк).

Конфликт интересов отсутствует.

Литература/References

1. Копицын Д.С., Бескоровайный А.В., Котелев М.С., Новиков А.А., Иванов Е.В., Винокуров Е.В. Методы оптического биоимиджинга в исследованиях онкологических заболеваний. Башкирский химический журнал 2013; 4: 64–71. Kopytsyn D.S., Beskorovaynyi A.V., Kotelev M.S., Novikov A.A., Ivanov E.V., Vinokurov E.V. Optical bioimaging techniques for cancer research. *Bashkirskiy khimicheskij zhurnal* 2013; 4: 64–71.
2. Meleshina A.V., Cherkasova E.I., Sergeeva E.A., Kleshnin M.S., Turchin I.V., Kiseleva E.V., Dashinimaev E.V., Shirmanova M.V., Lukyanov S.A., Zagaynova E.V. The study of the interaction of mesenchymal stem cells and the tumor using the methods of fluorescent bioimaging. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2012; 4: 7–16.
3. Meleshina A.V., Cherkasova E.I., Shirmanova M.V., Khrapichev A.A., Dudenkova V.V., Zagaynova E.V. Modern techniques for stem cells in vivo imaging (review). *Sovremennye tehnologii v medicine* 2015; 7(4): 174–188, <https://doi.org/10.17691/stm2015.7.4.24>.
4. Kozubek M. Challenges and benchmarks in bioimage analysis. *Adv Anat Embryol Cell Biol* 2016; 219: 231–262, https://doi.org/10.1007/978-3-319-28549-8_9.
5. Karsy M., Gillespie D.L., Horn K.P., Burrell L.D., Yap J.T., Jensen R.L. Correlation of glioma proliferation and hypoxia by luciferase, magnetic resonance, and positron emission tomography imaging. *Methods Mol Biol* 2018; 1742: 301–320, https://doi.org/10.1007/978-1-4939-7665-2_26.
6. Wicks E.C., Menezes L.J., Barnes A., Mohiddin S.A., Sekhri N., Porter J.C., Booth H.L., Garrett E., Patel R.S., Pavlou M., Groves A.M., Elliott P.M. Diagnostic accuracy and prognostic value of simultaneous hybrid 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography/magnetic resonance imaging in cardiac sarcoidosis. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging* 2018; 19(7): 757–767, <https://doi.org/10.1093/ehjci/jex340>.
7. Кремнева Е.И., Коновалов Р.Н., Кротенкова М.В. Функциональная магнитно-резонансная томография. Анналы клинической и экспериментальной неврологии 2011; 5(1): 30–34. Kremneva E.I., Konovalov R.N., Krotenkova M.V. Functional magnetic resonance imaging. *Annaly klinicheskoy i eksperimental'noj neurologii* 2011; 5(1): 30–34.
8. Селиверстова Е.В., Селиверстов Ю.А., Коновалов Р.Н., Иллариошкин С.Н. Функциональная магнитно-резонансная томография покоя: новые возможности изучения физиологии и патологии мозга. Анналы клинической и экспериментальной неврологии 2013; 7(4): 39–44. Seliverstova E.V., Seliverstov Yu.A., Konovalov R.N., Illarishkin S.N. Resting-state fMRI: new possibilities for studying physiology and pathology of the brain. *Annaly klinicheskoy i eksperimental'noj neurologii* 2013; 7(4): 39–44.
9. Шахова Н.М., Балалаева И.В., Геликонов В.М., Геликонов Г.В., Загайнова Е.В., Каменский В.А., Орлова А.Г., Сергеева Е.А., Турчин И.В. Разномасштабный оптический биоимиджинг: использование в биомедицине и перспективы развития. Альманах клинической медицины 2008; 17–1: 121–124. Shakhova N.M., Balalaeva I.V., Gelikonov V.M., Gelikonov G.V., Zagaynova E.V., Kamenskiy V.A., Orlova A.G., Sergeeva E.A., Turchin I.V. Multiscale optical bioimaging: use in biomedicine and development prospects. *Al'manakh klinicheskoy meditsiny* 2008; 17–1: 121–124.
10. Дуванский В.А., Князев М.В., Осин В.Л., Краев Г.П. Технологии оптического биоимиджинга в визуализации гастроинтестинальных неоплазий. Лазерная медицина 2016; 20(3): 103–104. Duvansky V.A., Knyazev M.V., Osin V.L., Kraev G.P. Technologies of optical bioimaging in the visualization of gastrointestinal neoplasias. *Lazernaya meditsina* 2016; 20(3): 103–104.
11. Marques D., Miranda A., Silva A.G., Munro P.R.T., De Beule P.A.A. On the influence of lipid-induced optical anisotropy for the bioimaging of exo- or endocytosis with interference microscopic imaging. *J Microsc* 2018; 270(2): 150–155, <https://doi.org/10.1111/jmi.12668>.
12. Турчин И.В. Методы оптической биомедицинской визуализации: от субклеточных структур до тканей и органов. Успехи физических наук 2016; 186(5): 550–567. Turchin I.V. Methods of biomedical optical imaging: from subcellular structures to tissues and organs. *Uspekhi fizicheskikh*

nauk 2016; 186(5): 550–567, <https://doi.org/10.3367/ufnr.2015.12.037734>.

13. Малышев И.Ю., Монастырская Е.А., Смирин Б.В., Манухина Е.Б. Гипоксия и оксид азота. Вестник Российской академии медицинских наук 2000; 9: 44–48. Malyshev I.Yu., Monastyrskaya E.A., Smirin B.V., Manukhina E.B. Hypoxia and nitric oxide. *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk* 2000; 9: 44–48.

14. Reginelli A., Iacobellis F., Berritto D., Gagliardi G., Di Grezia G., Rossi M., Fonio P., Grassi R. Mesenteric ischemia: the importance of differential diagnosis for the surgeon. *BMC Surg* 2013; 13(Suppl 2): S51, <https://doi.org/10.1186/1471-2482-13-s2-s51>.

15. Баширов Р.А., Малов А.А., Зиганшина Л.Ф., Халиуллина К.К. Радионуклидная оценка скелетных мышц у пациентов с хронической артериальной недостаточностью нижних конечностей. Практическая медицина 2016; 4–1(96): 44–47. Bashirov R.A., Malov A.A., Ziganshina L.F., Khaliullina K.K. Radionuclide assessment of skeletal muscles in patients with chronic artery insufficiency of the lower extremities. *Prakticheskaya meditsina* 2016; 4–1(96): 44–47.

16. Jia Y., Wang R.K. Optical micro-angiography images structural and functional cerebral blood perfusion in mice with cranium left intact. *J Biophotonics* 2011; 4(1–2): 57–63, <https://doi.org/10.1002/jbio.201000001>.

17. Asai K., Nakamura H., Watabe T., Nishida T., Sakaguchi M., Hatazawa J., Yoshimine T., Kishima H. X-ray angiography perfusion imaging with an intra-arterial injection: comparative study with 15O-gas/water positron emission tomography. *J Neurointerv Surg* 2017; 10(8): 780–783, <http://dx.doi.org/10.1136/neurintsurg-2017-013487>.

18. Johns C.S., Swift A.J., Hughes P.J.C., Ohno Y., Schiebler M., Wild J.M. Pulmonary MR angiography and perfusion imaging — a review of methods and applications. *Eur J Radiol* 2017; 86: 361–370, <https://doi.org/10.1016/j.ejrad.2016.10.003>.

19. Gallis K., Kasprzak P.M., Cucuruz B., Kopp R. Evaluation of visible spinal arteries on computed tomography angiography before and after branched stent graft repair for thoracoabdominal aortic aneurysm. *J Vasc Surg* 2017; 65(6): 1577–1583, <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2016.10.118>.

20. de Bruin A.F., Kommann V.N., van der Sloot K., van Vugt J.L., Gosselink M.P., Smits A., Van Ramshorst B., Boerma E.C., Noordzij P.G., Boerma D., van Iterson M. Sidestream dark field imaging of the serosal microcirculation during gastrointestinal surgery. *Colorectal Dis* 2016; 18(3): 103–110, <https://doi.org/10.1111/codi.13250>.

21. van Elteren H.A., Ince C., Tibboel D., Reiss I.K., de Jonge R.C. Cutaneous microcirculation in preterm neonates: comparison between sidestream dark field (SDF) and incident dark field (IDF) imaging. *J Clin Monit Comput* 2015; 29(5): 543–548, <https://doi.org/10.1007/s10877-015-9708-5>.

22. Bajory Z., Szabó A., Deák G., Varga R., Pajor L. Orthogonal polarization spectral imaging: a novel tool for examination of microcirculatory changes in the testis. *J Androl* 2012; 33(3): 499–504, <https://doi.org/10.2164/jandrol.111.013599>.

23. van Zijderveld R., Ince C., Schlingemann R.O. Orthogonal polarization spectral imaging of conjunctival microcirculation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2014; 252(5): 773–779, <https://doi.org/10.1007/s00417-014-2603-9>.

24. Kawada K., Hasegawa S., Wada T., Takahashi R., Hisamori S., Hida K., Sakai Y. Evaluation of intestinal perfusion

by ICG fluorescence imaging in laparoscopic colorectal surgery with DST anastomosis. *Surg Endosc* 2017; 31(3): 1061–1069, <https://doi.org/10.1007/s00464-016-5064-x>.

25. Lim C., Malek A., Martins R., Petillon S., Boulate G., Hentati H., De'Angelis N., Brunetti F., Salloum C., Laurent A., Compagnon P., Azoulay D. Real-time assessment of intestinal viability using indocyanine green fluorescent imaging (with video). *J Visc Surg* 2015; 152(1): 71–72, <https://doi.org/10.1016/j.jviscsurg.2014.09.008>.

26. Raabe A., Beck J., Seifert V. Technique and image quality of intraoperative indocyanine green angiography during aneurysm surgery using surgical microscope integrated near-infrared video technology. *Zentralbl Neurochir* 2005; 66(1): 1–8, <https://doi.org/10.1055/s-2004-836223>.

27. Moon H.S., Joo S.P., Seo B.R., Jang J.W., Kim J.H., Kim T.S. Value of indocyanine green videoangiography in deciding the completeness of cerebrovascular surgery. *J Korean Neurosurg Soc* 2013; 53(6): 349–355, <https://doi.org/10.3340/jkns.2013.53.6.349>.

28. Dashti R., Laakso A., Niemelä M., Porras M., Hernesniemi J. Microscope-integrated near-infrared indocyanine green videoangiography during surgery of intracranial aneurysms: the Helsinki experience. *Surg Neurol* 2009; 71(5): 543–550, <https://doi.org/10.1016/j.surneu.2009.01.027>.

29. Мавликеев М.О., Титова А.А., Гудз Д.О., Деев Р.В. Современные методы исследования ангиогенеза в клинической практике. Наука молодых — Eruditio Juvenium 2017; 5(1): 110–123. Mavlikeev M.O., Titova A.A., Gudz D.O., Deev R.V. Modern methods for angiogenesis assessment in clinical practice. *Nauka molodykh — Eruditio Juvenium* 2017; 5(1): 110–123.

30. Wang Z., Cai Y., Liang Y., Zhou X., Yan S., Dan D., Piero R. Bianco, Lei M., Yao B. Single shot, three-dimensional fluorescence microscopy with a spatially rotating point spread function. *Biomed Opt Express* 2017; 8(12): 5493–5506, <https://doi.org/10.1364/boe.8.005493>.

31. Washington C.W., Zipfel G.J., Chicoine M.R., Derdeyn C.P., Rich K.M., Moran C.J., Cross D.T., Dacey R.G. Jr. Comparing indocyanine green videoangiography to the gold standard of intraoperative digital subtraction angiography used in aneurysm surgery. *J Neurosurg* 2013; 118(2): 420–427, <https://doi.org/10.3171/2012.10.jns11818>.

32. Alander J.T., Kaartinen I., Laakso A., Pätälä T., Spillmann T., Tuchin V.V., Venermo M., Väliäso P. A review of indocyanine green fluorescent imaging in surgery. *Int J Biomed Imaging* 2012; 2012: 940585, <https://doi.org/10.1155/2012/940585>.

33. Dong L., Zhang X., Liang F., Yu X., Yang T., Li L. Prognostic value of oxygen challenge test for patients with cardiogenic shock receiving extracorporeal membrane oxygenation. *Zhonghua Wei Zhong Bing Ji Jiu Yi Xue* 2017; 29(12): 1102–1106.

34. Raposio E., Bertozzi N., Moretti R., Grignaffini E., Grieco M.P. Laser Doppler flowmetry and transcutaneous oximetry in chronic skin ulcers: a comparative evaluation. *Wounds* 2017; 29(7): 190–195.

35. Trinks T.P., Blake D.F., Young D.A., Thistlethwaite K., Vangaveti V.N. Transcutaneous oximetry measurements of the leg: comparing different measuring equipment and establishing values in healthy young adults. *Diving Hyperb Med* 2017; 47(2): 82–87.

36. Khripun A.I., Shurygin S.N., Priamikov A.D., Mironkov A.B., Abashin M.V. Intestinal microcirculation in

- health and in acute impairment of mesenteric blood flow. *Angiol Sosud Khir* 2010; 16(3): 34–38.
37. Kouadio A.A., Jordana F., Koffi N.J., Le Bars P., Soueidan A. The use of laser Doppler flowmetry to evaluate oral soft tissue blood flow in humans: a review. *Arch Oral Biol* 2018; 86: 58–71, <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.11.009>.
38. Binzoni T., Martelli F. Study on the mathematical relationship existing between single-photon laser-Doppler flowmetry and diffuse correlation spectroscopy with static background. *J Opt Soc Am A Opt Image Sci Vis* 2017; 34(12): 2096–2101, <https://doi.org/10.1364/josaa.34.002096>.
39. Hsiu H., Hu H.F., Tsai H.C. Differences in laser-Doppler indices between skin-surface measurement sites in subjects with diabetes. *Microvasc Res* 2018; 115: 1–7, <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2017.07.004>.
40. Ehling J., Lammers T., Kiessling F. Non-invasive imaging for studying anti-angiogenic therapy effects. *Thromb Haemost* 2013; 109(3): 375–390, <https://doi.org/10.1160/th12-10-0721>.
41. Quaranta M., Borisov S.M., Klimant I. Indicators for optical oxygen sensors. *Bioanal Rev* 2012; 4(2–4): 115–157, <https://doi.org/10.1007/s12566-012-0032-y>.
42. Keller A. Noninvasive tissue oximetry for flap monitoring: an initial study. *J Reconstr Microsurg* 2007; 23(212): 189–197, <https://doi.org/10.1055/s-2007-974655>.
43. Rao R., Saint-Cyr M., Ma A.M., Bowling M., Hatef D.A., Andrews V., Xie X.J., Zogakis T., Rohrich R. Prediction of post-operative necrosis after mastectomy: a pilot study utilizing optical diffusion imaging spectroscopy. *World J Surg Oncol* 2009; 7(1): 91, <https://doi.org/10.1186/1477-7819-7-91>.
44. Zimnyakov D.A., Tuchin V.V. Optical tomography of tissues. *Quantum Electronics* 2002; 32(10): 849–867, <https://doi.org/10.1070/qe2002v032n10abeh002307>.
45. Durduran T., Choe R., Baker W., Yodh A. Diffuse optics for tissue monitoring and tomography. *Rep Prog Phys* 2010; 73(7): 076701, <https://doi.org/10.1088/0034-4885/73/7/076701>.
46. Kononov A., Genina E., Bashkatov A. Diffuse optical mammotomography: state-of-the-art and prospects. *Journal of Biomedical Photonics & Engineering* 2016; 2(2): 020202-1, <https://doi.org/10.18287/jbpe16.02.020202>.
47. Chen W., Wang X., Wang B., Wang Y., Zhang Y., Zhao H., Gao F. Lock-in-photon-counting-based highly-sensitive and large-dynamic 164 imaging system for continuous-wave diffuse optical tomography. *Biomed Opt Express* 2016; 7(2): 499–511, <https://doi.org/10.1364/boe.7.000499>.
48. Pham T., Hornung R., Ha H., Burney T., Serna D., Powell L., Brenner M., Tromberg B. Noninvasive monitoring of hemodynamic stress using quantitative near-infrared frequency-domain photon migration spectroscopy. *J Biomed Opt* 2002; 7(1): 34–44, <https://doi.org/10.1117/1.1427046>.
49. Yamada Y., Okawa S. Diffuse optical tomography: present status and its future. *Optical Review* 2014; 21(3): 185–205, <https://doi.org/10.1007/s10043-014-0028-7>.
50. Ban H.Y., Schweiger M., Kavuri V.C., Cochran J.M., Xie L., Busch D.R., Ktrašnik J., Pathak S., Chung S.H., Lee K., Choe R., Czerniecki B.J., Arridge S.R., Yodh A.G. Heterodyne frequency-domain multispectral diffuse optical tomography of breast cancer in the parallel-plane transmission geometry. *Med Phys* 2016; 43(7): 4383–4485, <https://doi.org/10.1118/1.4953830>.
51. Liu Y., Su J., Lin Z.-J., Teng S., Rhoden A., Pantong N., Liu H. Reconstructions for continuous-wave diffuse optical tomography by a globally convergent method. *Journal of Applied Mathematics and Physics* 2014; 2(5): 204–213, <https://doi.org/10.4236/jamp.2014.25025>.
52. Kienle A., Lilge L., Patterson M., Hibst R., Steiner R., Wilson B. Spatially resolved absolute diffuse reflectance measurements for noninvasive determination of the optical scattering and absorption coefficients of biological tissue. *Appl Opt* 1996; 35(13): 2304–2314, <https://doi.org/10.1364/ao.35.002304>.
53. Потлов А.Ю. Алгоритм локализации областей патологических нарушений в оптической структуре биологических тканей посредством импульсной диффузионной оптической томографии. *Инженерный вестник Дона* 2016; 2. Potlov A.Yu. An algorithm for localization of optical structure disturbances in biomedical objects using time-resolved diffuse optical tomography. *Inzhenernyy vestnik Dona* 2016; 2. URL: http://ivdon.ru/uploads/article/pdf/IVD_36_Potlov.pdf_3366240381.pdf.
54. Proskurin S.G. Using late arriving photons for diffuse optical tomography of biological objects. *Quantum Electronics* 2011; 41(5): 402–406, <https://doi.org/10.1070/qe2011v041n05abeh014597>.
55. Nichols M.G., Hull E.L., Foster T.H. Design and testing of a white-light, steady-state diffuse reflectance spectrometer for determination of optical properties of highly scattering systems. *Appl Opt* 1997; 36(1): 93–104, <https://doi.org/10.1364/ao.36.000093>.
56. Pham T., Coquoz O., Fishkin J., Anderson E., Tromberg B. Broad bandwidth frequency domain instrument for quantitative tissue optical spectroscopy. *Rev Sci Instrum* 2000; 71(6): 2500–2513, <https://doi.org/10.1063/1.1150665>.
57. Taroni P., Comelli D., Farina A., Pifferi A., Kienle A. Time-resolved diffuse optical spectroscopy of small tissue samples. *Opt Express* 2007; 15(6): 3301–3311, <https://doi.org/10.1364/oe.15.003301>.
58. O'Sullivan T.D., Cerussi A.E., Cuccia D.J., Tromberg B.J. Diffuse optical imaging using spatially and temporally modulated light. *J Biomed Opt* 2012; 17(7): 071311, <https://doi.org/10.1117/1.jbo.17.7.071311>.
59. Gibson A., Dehghani H. Diffuse optical imaging. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci* 2009; 367(1900): 3055–3072, <https://doi.org/10.1098/rsta.2009.0080>.
60. Kleshnin M., Orlova A., Kirillin M., Golubiatnikov G., Turchin I. A technique for measuring oxygen saturation in biological tissues based on diffuse optical spectroscopy. *SPIE Proceedings Diffuse Optical Spectroscopy and Imaging VI* 2017, <https://doi.org/10.1117/12.2284378>.
61. Orlova A.G., Turchin I.V., Plehanov V.I., Shakhova N.M., Fiks I.I., Kleshnin M.I., Konuchenko N.Yu., Kamensky V.A. Frequency-domain diffuse optical tomography with single source-detector pair for breast cancer detection. *Laser Phys Lett* 2008; 5(4): 321–327, <https://doi.org/10.1002/lapl.200710131>.
62. *Fat. Hemoglobin. Melanin*. URL: <http://omlc.org/spectral/index.html>.
63. Shah N., Cerussi A., Eker C., Espinoza J., Butler J., Fishkin J., Hornung R., Tromberg B. Noninvasive functional optical spectroscopy of human breast tissue. *Proc Natl Acad Sci USA* 2001; 98(8): 4420–4425, <https://doi.org/10.1073/pnas.071511098>.
64. Uddin K.M.S., Mostafa A., Anastasio M., Zhu Q. Two step imaging reconstruction using truncated pseudoinverse as a preliminary estimate in ultrasound guided diffuse optical tomography. *Biomed Opt Express* 2017; 8(12): 5437–5449, <https://doi.org/10.1364/boe.8.005437>.

65. Kleshnin M.S., Orlova A.G., Kirillin M.Yu., Golubyatnikov G.Yu., Turchin I.V. Method of measuring blood oxygenation based on spectroscopy of diffusely scattered light. *Quantum Electronics* 2017; 47(4): 355–360, <https://doi.org/10.1070/qel16284>.
66. Bevilacqua F., Berger A., Cerussi A., Jakubowski D., Tromberg B. Broadband absorption spectroscopy in turbid media by combined frequency-domain and steady-state methods. *Appl Opt* 2000; 39(34): 6498–6507, <https://doi.org/10.1364/ao.39.006498>.
67. Esenaliev R.O., Karabutov A.A., Oraevsky A.A. Sensitivity of laser opto-acoustic imaging in detection of small deeply embedded tumors. *IEEE J Sel Top Quantum Electron* 1999; 5(4): 981–988, <https://doi.org/10.1109/2944.796320>.
68. Carpenter C.M., Pogue B.W., Jiang S., Dehghani H., Wang X., Paulsen K.D., Wells W.A., Forero J., Kogel C., Weaver J.B., Poplack S.P., Kaufman P.A. Image-guided optical spectroscopy provides molecular-specific information in vivo: MRI-guided spectroscopy of breast cancer hemoglobin, water, and scatterer size. *Opt Lett* 2007; 32(8): 933–935, <https://doi.org/10.1364/ol.32.000933>.
69. Bentz B.Z., Wu T.C., Gaiind V., Webb K.J. Diffuse optical localization of blood vessels and 3D printing for guiding oral surgery. *Appl Opt* 2017; 56(23): 6649–6654, <https://doi.org/10.1364/ao.56.006649>.
70. Payette J.R., Kohlenberg E., Leonardi L., Pabbies A., Kerr P., Liu K.Z., Sowa M.G. Assessment of skin flaps using optically based methods for measuring blood flow and oxygenation. *Plast Reconstr Surg* 2005; 115(2): 539–546, <https://doi.org/10.1097/01.prs.0000148415.54546.ca>.
71. Colwell A.S., Wright L., Karanas Y. Near-infrared spectroscopy measures tissue oxygenation in free flaps for breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 2008; 121(5): 344e–345e, <https://doi.org/10.1097/prs.0b013e31816b11e5>.
72. Colwell A.S., Craft R.O. Near-infrared spectroscopy in autologous breast reconstruction. *Clin Plast Surg* 2011; 38(2): 301–307, <https://doi.org/10.1016/j.cps.2011.03.014>.
73. Lin S., Nguyen M., Chen C., Colakoglu S., Curtis M., Tobias A.M., Lee B.T. Tissue oximetry monitoring in microsurgical breast reconstruction to decrease flap loss. *Plast Reconstr Surg* 2011; 127(3): 1080–1085, <https://doi.org/10.1097/prs.0b013e31820436cb>.
74. Repež A., Oroszy D., Arnez Z.M. Continuous postoperative monitoring of cutaneous free flaps using near infrared spectroscopy. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 2008; 61(1): 71–77, <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2007.04.003>.
75. Whitaker I.S., Pratt G.F., Rozen W.M., Cairns S.A., Barrett M.D., Hiew L.Y., Cooper M.A., Leaper D.J. Near infrared spectroscopy for monitoring flap viability following breast reconstruction. *J Reconstr Microsurg* 2012; 28(3): 149–154, <https://doi.org/10.1055/s-0031-1296030>.
76. Scheufler O., Exner K., Andresen R. Investigation of TRAM flap oxygenation and perfusion by near-infrared reflection spectroscopy and color-coded duplex sonography. *Plast Reconstr Surg* 2004; 113(1): 141–152, <https://doi.org/10.1097/01.prs.0000095940.96294.a5>.
77. Heise H.M., Lampen P., Stücker M. Reflectance spectroscopy can quantify cutaneous haemoglobin oxygenation by oxygen uptake from the atmosphere after epidermal barrier disruption. *Skin Res Technol* 2003; 9(4): 295–298, <https://doi.org/10.1034/j.1600-0846.2003.00036.x>.
78. Малыгина И.Ф., Неробеев А.И., Добродеев А.С., Вербо Е.В., Гарелик Е.И., Салихов К.С. Тканевая оксиметрия: оценка жизнеспособности свободных лоскутов при реконструкции головы и шеи. *Вопросы реконструктивной и пластической хирургии* 2015; 2(53): 11–24. Malykhina I.F., Nerobeyev A.I., Dobrodeyev A.S., Verbo Ye.V., Garelik Ye.I., Salikhov K.S. Tissue oximetry: monitoring of microsurgical freetissue transfers for head and neck reconstruction. *Voprosy rekonstruktivnoy i plasticheskoy khirurgii* 2015; 2(53): 11–24.
79. Cong W., Intes X., Wang G. Optical tomographic imaging for breast cancer detection. *J Biomed Opt* 2017; 22(9): 1–6, <https://doi.org/10.1117/1.jbo.22.9.096011>.
80. Potlov A.Yu., Frolov S.V., Proskurin S.G. Localization of inhomogeneities in diffuse optical tomography based on late arriving photons. *Optics and Spectroscopy* 2016; 120(1): 9–19, <https://doi.org/10.1134/s0030400x1601015x>.
81. Konovalov A.B., Vlasov V.V., Kalintsev A.G., Kravtseyuk O.V., Lyubimov V.V. Time-domain diffuse optical tomography using analytic statistical characteristics of photon trajectories. *Quantum Electronics* 2006; 36(11): 1048–1055, <https://doi.org/10.1070/qe2006v036n11abeh013302>.
82. Yazdi H.S., O'Sullivan T.D., Leproux A., Hill B., Durkin A., Telep S., Lam J., Yazdi S.S., Police A.M., Carroll R.M., Combs F.J., Strömberg T., Yodh A.G., Tromberg B.J. Mapping breast cancer blood flow index, composition, and metabolism in a human subject using combined diffuse optical spectroscopic imaging and diffuse correlation spectroscopy. *J Biomed Opt* 2017; 22(4): 45003, <https://doi.org/10.1117/1.jbo.22.4.045003>.
83. Boas D.A., Brooks D.H., Miller E.L., DiMarzio C.A., Kilmer M., Gaudette R.J., Zhang Q. Imaging the body with diffuse optical tomography. *IEEE Signal Processing Magazine* 2001; 18(6): 57–75, <https://doi.org/10.1109/79.962278>.
84. Масленникова А.В., Орлова А.Г., Пряникова Т.И., Костеников Н.А., Виноградова Ю.Н., Денисенко А.Н. Клиническое значение и методы диагностики опухолевой гипоксии. *Вопросы онкологии* 2011; 57(4): 413–420. Maslennikova A.V., Orlova A.G., Pryanikova T.I., Kostenikov N.A., Vinogradova Yu.N., Denisenko A.N. Clinical significance and methods of diagnosis of tumor-induced hypoxia. *Voprosy onkologii* 2011; 57(4): 413–420.
85. Масленникова А.В., Голубятников Г.Ю., Орлова А.Г., Плеханов В.И., Артифексова А.А., Шахова Н.М., Каменский В.А., Турчин И.В. Неинвазивный оптический метод оценки кислородного статуса новообразований молочной железы. *Опухоли женской репродуктивной системы* 2010; 1: 5–10. Maslennikova A.V., Golubyatnikov G.Yu., Orlova A.G., Plekhanov V.I., Artifeksova A.A., Shakhova N.M., Kamensky V.A., Turchin I.V. Non-invasive optical method for evaluating the oxygen status in breast neoplasms. *Opukholi zhenskoy reproductivnoy sistemy* 2010; 1: 5–10.
86. Ruiz J., Nouizi F., Cho J., Zheng J., Li Y., Chen J.H., Su M.Y., Gulsen G. Breast density quantification using structured-light-based diffuse optical tomography simulations. *Appl Opt* 2017; 56(25): 7146–7157, <https://doi.org/10.1364/ao.56.007146>.
87. Cerussi A., Shah N., Hsiang D., Durkin A., Butler J., Tromberg B.J. In vivo absorption, scattering, and physiologic properties of 58 malignant breast tumors determined by broadband diffuse optical spectroscopy. *J Biomed Opt* 2006; 11(4): 044005, <https://doi.org/10.1117/1.2337546>.
88. Zhu Q., Huang M., Chen N., Zarfos K., Jagjivan B., Kane M., Hedge P., Kurtzman S.H. Ultrasound-guided optical tomographic imaging of malignant and benign breast lesions:

initial clinical results of 19 cases. *Neoplasia* 2003; 5(5): 379–388, [https://doi.org/10.1016/s1476-5586\(03\)80040-4](https://doi.org/10.1016/s1476-5586(03)80040-4).

89. Cerussi A.E., Tanamai V.W., Hsiang D., Butler J., Mehta R.S., Tromberg B.J. Diffuse optical spectroscopic imaging correlates with final pathological response in breast cancer neoadjuvant chemotherapy. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci* 2011; 369(1955): 4512–4530, <https://doi.org/10.1098/rsta.2011.0279>.

90. Jiang S., Pogue B.W., Kaufman P.A., Gui J., Jermyn M., Frazee T.E., Poplack S.P., DiFlorio-Alexander R., Wells W.A., Paulsen K.D. Predicting breast tumor response to neoadjuvant chemotherapy with diffuse optical spectroscopic tomography prior to treatment. *Clin Cancer Res* 2014; 20(23): 6006–6015, <https://doi.org/10.1158/1078-0432.ccr-14-1415>.

91. Anderson P.G., Kalli S., Sassaroli A., Krishnamurthy N., Makim S.S., Graham R.A., Fantini S. Optical mammography in patients with breast cancer undergoing neoadjuvant chemotherapy. *Acad Radiol* 2017; 24(10): 1240–1255, <https://doi.org/10.1016/j.acra.2017.03.020>.

92. Maslennikova A.V., Orlova A.G., Golubiatnikov G.Y., Kamensky V.A., Shakhova N.M., Babaev A.A., Snopova L.B., Ivanova I.P., Plekhanov V.I., Prianikova T.I., Turchin I.V. Comparative study of tumor hypoxia by diffuse optical spectroscopy and immunohistochemistry in two tumor models. *J Biophotonics* 2010; 3(12): 743–751, <https://doi.org/10.1002/jbio.201000060>.

93. Orlova A.G., Maslennikova A.V., Golubiatnikov G.Y., Kamensky V.A., Shakhova N.M., Plekhanov V.I., Turchin I.V., Snopova L.B., Ivanova I.P., Babaev A.A., Prianikova T.I. Noninvasive estimation of the oxygen status of experimental tumors by diffuse optical spectroscopy. *Biophysics* 2011; 56(2): 304–308, <https://doi.org/10.1134/s0006350911020230>.

94. Orlova A.G., Kirillin M.Yu., Volovetsky A.B., Shilyagina N.Yu., Sergeeva E.A., Golubiatnikov G.Yu., Turchin I.V. Diffuse optical spectroscopy monitoring of oxygen state and hemoglobin concentration during SKBR-3 tumor model growth. *Laser Physics Letters* 2016, 14(1): 015601, <https://doi.org/10.1088/1612-202x/aa4fc1>.

95. Niu S., Zhu Q., Jiang Y., Zhu J., Xiao M., You S., Zhou W., Xiao Yu. Correlations among ultrasound-guided diffuse optical tomography, microvessel density, and breast cancer prognosis. *J Ultrasound Med* 2017; 37(4): 833–842, <https://doi.org/10.1002/jum.14416>.

96. Biswal N.C., Xu Y., Zhu Q. Imaging tumor oxyhemoglobin and deoxyhemoglobin concentrations with ultrasound-guided diffuse optical tomography. *Technol Cancer Res Treat* 2011; 10(5): 417–429, <https://doi.org/10.7785/tcr.2012.500219>.

97. Piao D., Ramadan M., Park A., Bartels K.E., Patel S.G. Freehand diffuse optical spectroscopy imaging for intraoperative identification of major venous and arterial vessels underlying peritoneal fat: an in vivo demonstration in a pig model. *J Biomed Opt* 2017; 22(10): 1–4, <https://doi.org/10.1117/1.jbo.22.10.100503>.

98. Khalil M.A., Kim H.K., Kim I.K., Flexman M., Dayal R., Shrikhande G., Hielscher A.H. Dynamic diffuse optical tomography imaging of peripheral arterial disease. *Biomed Opt Express* 2012; 3(9): 2288–2298, <https://doi.org/10.1364/boe.3.002288>.

99. Sujatha N., Anand B.S.S., Nivetha K.B., Narayanamurthy V.B., Seshadri V., Poddar R. Assessment of microcirculatory hemoglobin levels in normal and diabetic subjects using diffuse reflectance spectroscopy in the visible region — a pilot study. *Journal of Applied Spectroscopy* 2015; 82(3): 432–437, <https://doi.org/10.1007/s10812-015-0125-9>.

100. Papazoglou E.S., Weingarten M.S., Zubkov L., Zhu L., Tyagi S., Pourezai K. Near infrared diffuse optical tomography: improving the quality of care in chronic wounds of patients with diabetes. *Biomed Instrum Technol* 2007; 41(1): 83–87, [https://doi.org/10.2345/0899-8205\(2007\)41\[83:nidoti\]2.0.co;2](https://doi.org/10.2345/0899-8205(2007)41[83:nidoti]2.0.co;2).

101. Zhao H., Gao F., Tanikawa Y., Homma K., Yamada Y. Time-resolved diffuse optical tomographic imaging for the provision of both anatomical and functional information about biological tissue. *Appl Opt* 2005; 44(10): 1905–1916, <https://doi.org/10.1364/ao.44.001905>.