

激光诱导击穿光谱技术在生物医学中的研究进展

侯泽海¹, 郭连波^{2*}, 汪威良², 褚燕武³, 凌福日¹¹华中科技大学光学与电子信息学院, 湖北 武汉 430074;²华中科技大学武汉光电国家研究中心, 湖北 武汉 430074;³中国科学院光电技术研究所, 四川 成都 610209

摘要 生物体内元素的微小变化可以直接影响生物的代谢和生理过程。快速、精准的生物体内元素定性定量分析, 是新陈代谢检测以及临床疾病诊断中不可或缺的部分。随着医学检测技术的不断发展和临床需求的不断增加, 寻找一种更新、更快、适应性更强的临床分析和诊断技术成为当前的研究热点。在生物医学研究中, 激光诱导击穿光谱(LIBS)技术凭借着快速、实时、多元素同步检测的优势, 在血液、病理组织检测和元素分布成像等方面展现出了极大的应用价值。本综述回顾了近年来 LIBS 技术在生物医学应用中的研究状况和最新进展, 基于目前的研究状况, 评估了 LIBS 技术在血液检测、生物组织分析、元素成像应用领域的挑战和机遇, 还为进一步促进 LIBS 技术在生物医学领域的应用提供了建议。

关键词 光谱学; 激光诱导击穿光谱; 生物医学; 血液检测; 组织分析; 元素成像

中图分类号 O433

文献标志码 A

DOI: 10.3788/LOP231055

Research Progress on Laser-Induced Breakdown Spectroscopy
in BiomedicineHou Zehai¹, Guo Lianbo^{2*}, Wang Weiliang², Chu Yanwu³, Lin Furi¹¹School of Optical and Electronic Information, Huazhong University of Science and Technology,
Wuhan 430074, Hubei, China;²Wuhan National Laboratory for Optoelectronics, Huazhong University of Science and Technology,
Wuhan 430074, Hubei, China;³Institute of Optics and Electronics, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610209, Sichuan, China

Abstract Minor changes to elements in organisms can have a direct impact on their metabolism and physiological processes. Rapid and accurate qualitative and quantitative analyses of these elements are critical for both metabolism detection and clinical disease diagnosis. As medical detection technology continues to develop and clinical demand continues to increase, researchers are seeking newer, faster, and more adaptable clinical analysis and diagnostic technologies. Because of its fast, real-time, and multi-element simultaneous detection capabilities, laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) technology has shown great promise in recent years for use in blood and pathological tissue detection and elemental distribution imaging. This paper provides a comprehensive review of the current research status and latest progress of LIBS technology in biomedical applications and evaluates the challenges and opportunities of LIBS technology in the application fields of blood detection, biological tissue analysis, and elemental imaging. The paper also provides suggestions for further promoting the application of LIBS technology in the biomedical field.

Key words spectroscopy; laser-induced breakdown spectroscopy; biomedicine; blood detection; tissue analysis; elemental imaging

1 引 言

生物体内元素组成以及含量变化与生物代谢、疾

病发展的相关性被广泛研究, 同时也成为医学诊断和
治疗的重要支撑信息^[1]。研究发现, 一些必要的生物
元素被证明参与氧化还原反应^[2]、调节生物代谢平

收稿日期: 2023-04-10; 修回日期: 2023-05-06; 录用日期: 2023-05-15; 网络首发日期: 2023-05-25

基金项目: 国家自然科学基金(62075069)

通信作者: *lbguo@hust.edu.cn

衡^[3]、控制生物过程^[4],并具有适应性免疫调节功能^[5]。例如,使用动物模型和细胞培养模型的临床研究表明,铜作为各种酶促反应和生理活动的重要辅助因子,具有神经毒性,诱导炎症因子释放并产生反应性自由基,这可能促进肿瘤形成^[6],并增加阿尔茨海默病的风险^[7]。而锌被证明了在过敏、传染病治疗和疾病预防等方面具有积极效果^[8]。此外,这些生物元素浓度的失衡可导致机体紊乱,并最终导致一些危及生命的疾病,如炎症、动脉硬化、心肌梗塞,甚至癌症^[9]。因此,生物元素在生理和病理代谢过程中至关重要。

生物元素的测定有多种化学分析方法,如原子荧光光谱法(AFS)、电感耦合等离子体-光学发射光谱法(ICP-OES)、X射线荧光光谱法(XRF)、电感耦合等离子体质谱(ICP-MS),原子吸收光谱法(AAS)和气相色谱-质谱法(GC-MS)等^[10-13]。尽管这些分析技术中的大多数具有较高的敏感性和精确性,但是这些方法耗时较长、样品制作复杂、需要化学实验才能给出定量结果,并且检测设备昂贵,这限制了它们的应用范围^[10]。因此,研究人员不断寻求新的分析和诊断技术,提高生物元素测定效率,以便能够在实验室以及临床环境中快速、准确地测量。

激光诱导击穿光谱(LIBS)作为一种原子光谱分析技术,能够实现快速、原位、多元素同步的痕量检测,并能以微损的方式为几乎任何样本提供定性和定量信息,且不需要制备大量的样本。LIBS因其操作简单,

适用于固体、液体、气体和气溶胶^[11-13],已广泛应用于冶金工业、环境保护、生物医学、考古学、航空航天、农业和食品安全等领域^[14-16]。特别地,LIBS技术的独特优势使其在生物医学方面有非常好的应用前景。本文就 LIBS 的技术特点介绍其在生物医学中的血液检测、生物组织分析、元素成像中的应用,并基于研究现状对 LIBS 技术在生物医学应用上的发展趋势进行分析与展望。

2 LIBS 技术概述

2.1 LIBS 技术的基本原理

LIBS 是一种利用激光实现光谱化学分析的技术,将足够能量的激光通过聚焦透镜聚焦于样品表面,使样品被烧蚀并产生发光等离子体,当激光脉冲终止时,等离子体开始冷却。在等离子体冷却过程中,激发电子状态下的原子和离子的电子落入自然基态,导致等离子体发射具有离散光谱峰的光^[17]。等离子体发射的光被采集模块收集并传送到光谱仪,然后这些光被分离成不同的波长并入射到电荷耦合器件探测器上转换为电子信号。计算机软件可以利用这些信号绘制光谱图,显示原子、离子和分子片段发射的光线的强度和波长。该特征光谱的波长对应于元素的类型,特征光谱的相对强度对应于元素的浓度^[10]。利用这些光谱信息可以快速识别和定量分析样品中存在的元素及其化学组成。LIBS 技术原理如图 1 所示。

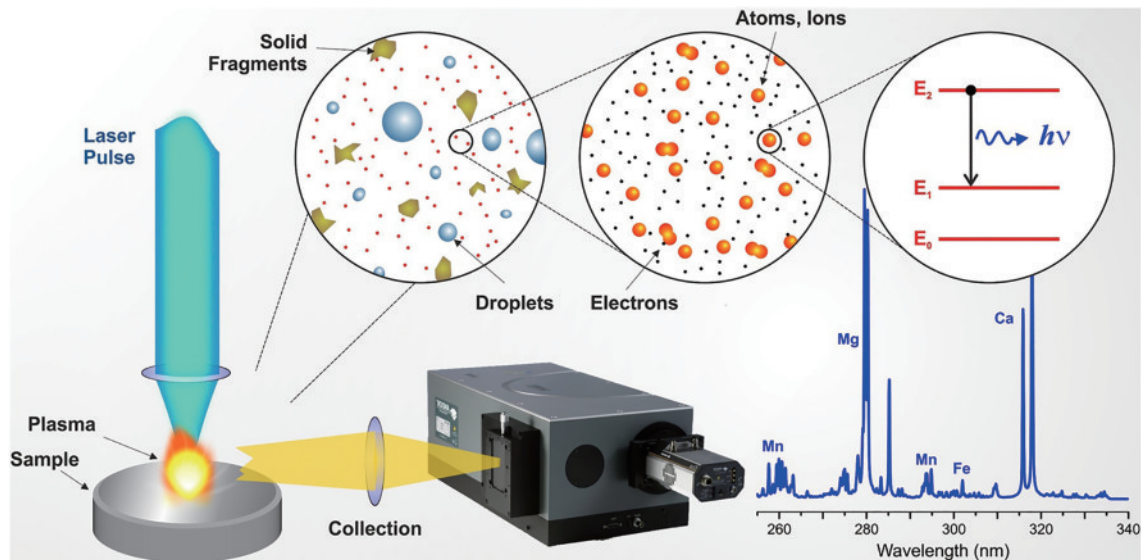


图 1 LIBS 技术原理图^[18]

Fig. 1 Schematic diagram of the principle of LIBS technology^[18]

2.2 LIBS 技术在生物医学中的分析方法

LIBS 通过检测样本元素的光谱数据实现元素的定性和定量分析。在定性分析中,使用 LIBS 检测到的谱线鉴别所代表的元素,并与数据库中的数据进行对比以进一步分类。一般而言,在分析光谱之前会对光谱进行校正、过滤和异常值去除等。为了提高分类

的准确性,研究人员开始逐渐使用机器学习算法来分析光谱信息以确定物质的种类。例如主成分分析(PCA)、独立成分分析(ICA)、K 均值聚类、二次判别分析(QDA)、最近邻分类算法(KNN)、偏最小二乘判别分析(PLS-DA)、支持向量机(SVM)、最小二乘支持向量机(LS-SVM)、分层聚类分析(HCA)等^[15]。

目前,LIBS在定性分析方面有无可比拟的优势。然而,等离子体演化过程中不可避免的形态波动严重影响了LIBS的定量性能^[19]。因此,为了提高LIBS的定量性能,LIBS的定量算法被广泛研究。其中,免校准分析方法(CF-LIBS)可能是多年来在LIBS领域中最受关注的定量方法之一^[20]。CF-LIBS方法具有实时、原位、现场、单点、多元素分析等诸多优势,在

生物医学领域具有巨大的应用潜力^[21]。近年来为了提高定量分析的准确性和可重复性,人工智能算法已成为LIBS定量分析的最新热点,如偏最小二乘回归(PLSR)、人工神经网络(ANN)、逻辑回归(LR)、多元线性回归(MLR)、随机森林(RF)等^[22]。表1总结了近5年来LIBS技术在生物医学领域应用的部分文献。

表1 近5年LIBS技术在生物医学领域应用的部分文献

Table 1 Literature on the application of LIBS technology in the biomedical field in the past five years

Application	Element	Sample	Pretreatment	Method	Reference
Electrolyte	Na, K, Ca	Serum	Different substrates	PLSR	[23]
Cholesterol	CN, H, O	Serum	Dry pressing	LDA	[24]
Blood-borne virus	Full spectrum	Blood	Filtration and drying	PLSDA	[25]
SARS-CoV-2	Zn, Ba, CN	Plasma	Drying	PCA-LDA, PLS-DA	[26]
Rectal Cancer	K	Serum	Drying	PCA, LDA, QDA	[27]
Malaria	Zn, Cu, Fe, Mg	Blood	Filtration and drying	ANN, PLS	[28]
Melanoma	Ca, Mg, Na	Blood/Tissue homogenates	Different substrates	LDA, FDA, SVM, GB	[29]
Multiple myeloma	Na, K, Ca, Mg, C, H, O, N	Serum	Filtration and drying	KNN, SVM, ANN	[30]
Gallbladder cancer	Na, K, Ca, Mg	Bile	Drying on a silicon wafer	Wilcoxon test	[31]
Brain tumor	CN, C ₂	Brain tumor tissue	Paraffin embedding	MFS, SNN, ANN, KNN, SVM	[32]
Graves' ophthalmopathy	Na, K, Al, Ca, O, CN, CO	Graves' ophthalmopathy tissue	Paraffin embedding	LDA, SVM, KNN, GRNN	[33]
Skin cancer	Mg, Zn, Fe, Ca, Cu, Na, K, CH, CN	Skin	Real-time detection	DNN	[34]
Osteoporosis	Ca, Na	Hair	Dissolving and pressing	PCA	[35]
Dental pathologies	Ca, P, K, Zn, Sr	Tooth	Distilled water cleaning	PCA, Fluorescence	[36]

3 LIBS技术在血液检测中的研究进展

检测和诊断血源性疾病对患者治疗和确保国家供体血液供应安全至关重要。血液作为微量元素的运输媒介能够反映血液系统性疾病,提供机体代谢时元素浓度变化的直接证据^[37],全血、血浆和血清都是检测机体痕量元素的可靠样本。在过去的几年中,已有许多研究者评估了血液中微量金属的价值^[1,38]。尽管目前有许多血液元素检测方法,但临床诊疗仍然需要更低成本、更快速、更简单的分析方法。

3.1 基于LIBS技术的血液肿瘤检测

恶性肿瘤的早期诊断对于有效治疗和控制癌症的进展非常重要,血液检测能够辅助实现癌症的早期诊断,而LIBS技术可以利用血液中元素的变化实现肿瘤诊断。Chen等^[39]使用LIBS技术结合PCA、线性判

别(LDA)和KNN模型,准确识别了全血样本中的淋巴瘤,分类准确率超过99.7%,并发现淋巴瘤肿瘤组的Fe I、Na I和K I谱线弱于对照组。他们还使用KNN模型在9 min内从16 μ L血清样本中识别出淋巴瘤和多发性骨髓瘤(MM),总体准确率为96.0%^[40],这在临床上具有重要的应用价值。为了研究LIBS技术在诊断MM血清分期上的作用,在另一项研究中,该团队使用LIBS结合KNN、SVM和ANN算法对光谱数据进行分类,MM分期的准确率超过90%^[30]。在针对LIBS技术对多种血液肿瘤的检测能力方面,Chu等^[41]开发了一种随机子空间结合线性判别分析(RSM-LDA)的模型用于鉴别血清样本中的急性髓性白血病(AML)、慢性粒细胞白血病(CML)以及MM和淋巴瘤,平均准确率达到98.34%,如图2所示。该团队的另一项研究使用LIBS结合极限学习机

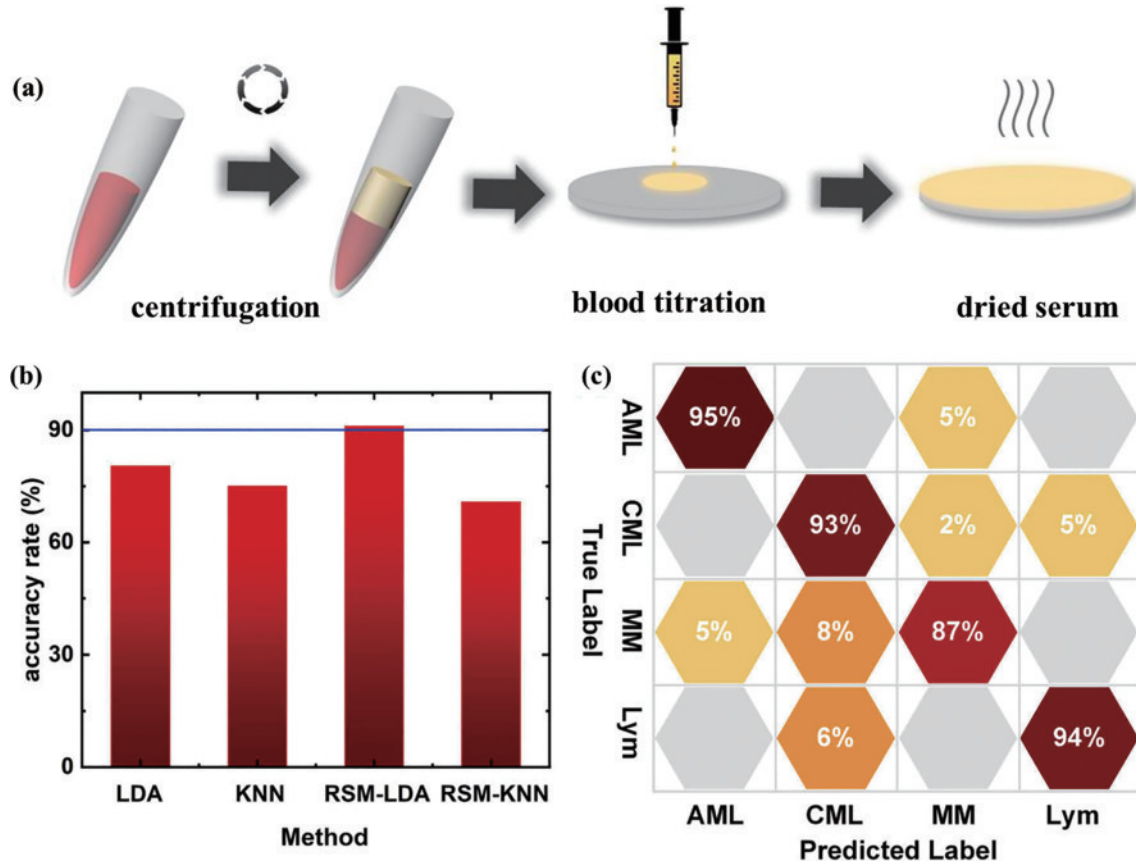


图2 LIBS的血癌鉴别^[41]。(a) 样品制备步骤;(b) 不同方法的分类准确率;(c) RSM-LDA的混淆矩阵

Fig. 2 LIBS for blood cancer discrimination^[41]. (a) Sample preparation steps; (b) classification accuracy of different methods; (c) confusion matrix of RSM-LDA

(ELM)和随机森林(RF)进行鼻咽癌的分析,准确率高达98.33%^[42],并指出KNN计算量大,不利于癌症检测的快速筛查,且样品不平衡会影响KNN模型的精度,而ELM模型几乎不受不平衡样品的影响,效率更高。这些研究表明LIBS技术具有快速检测血液肿瘤的潜力,数据分析结合人工智能是提高LIBS血液肿瘤检测准确率的关键步骤。

3.2 LIBS技术在血液检测中的其他应用

LIBS技术在血液疾病检测中还有着更广泛的应用。随着中国人口老龄化的加剧,阿尔茨海默病(AD)也逐渐成为中国人第5大死因,早期诊断和对AD与其他痴呆的明确区分至关重要。Gaudiuso等^[43]利用LIBS诊断AD,以Na、Mg、Ca、CN等元素的差分光谱作为输入数据,结合二次判别分析(QDA)进行分类,准确率达到80%。Berlo等^[44]将LIBS与PCA-LDA模型相结合区分新冠病毒阳性和阴性供体的血浆,准确率高达95%,并发现SARS-CoV-2阳性受试者样本中的Zn和Ba含量减少,且与LIBS中的CN谱线呈负相关。在药代动力学中,LIBS也具有广阔的应用前景,Chu等^[45]利用LIBS量化血液中的药物半衰期,使用SVR进行LIBS定量分析,得到MnO₂-BSA的半衰期为

2.49 h, AIO(OH)-BSA半衰期为3.46 h。与ICP-MS相比,LIBS的相对误差在5%以内,如图3所示。结果表明,LIBS技术可以作为一种新方法检测金属元素药物的半衰期。在诊断血液中的炎症方面,Zhao等^[46]提出乘法散射校正-均值冲击值-反向传播神经网络模型结合LIBS诊断炎症血清,通过优化基板,使分类精度从BPNN模型的88.33%提高到93.00%,且在单个测试集上的验证时间仅为0.7 s。

LIBS技术结合机器学习方法,能够在几分钟或几小时内快速识别血源性疾病并获得分析结果,可以大大提高识别、控制和治疗疾病的能力,有望成为恶性肿瘤血液快速、准确诊断的强大工具。现阶段,化学计量学模型多种多样,针对不同样本特点选择不同的化学计量方法对LIBS分类结果的提高至关重要。如何稳定提升LIBS技术的血液快速检测能力,无疑是化学计量学在LIBS数据分析中的发展方向之一。此外,LIBS技术在血液元素检测方面的应用需要结合实际情况,同时还需要不断探索新的研究方向。

4 LIBS技术在生物组织中的研究进展

近年来,生物元素作为细胞和生物组织重要组成

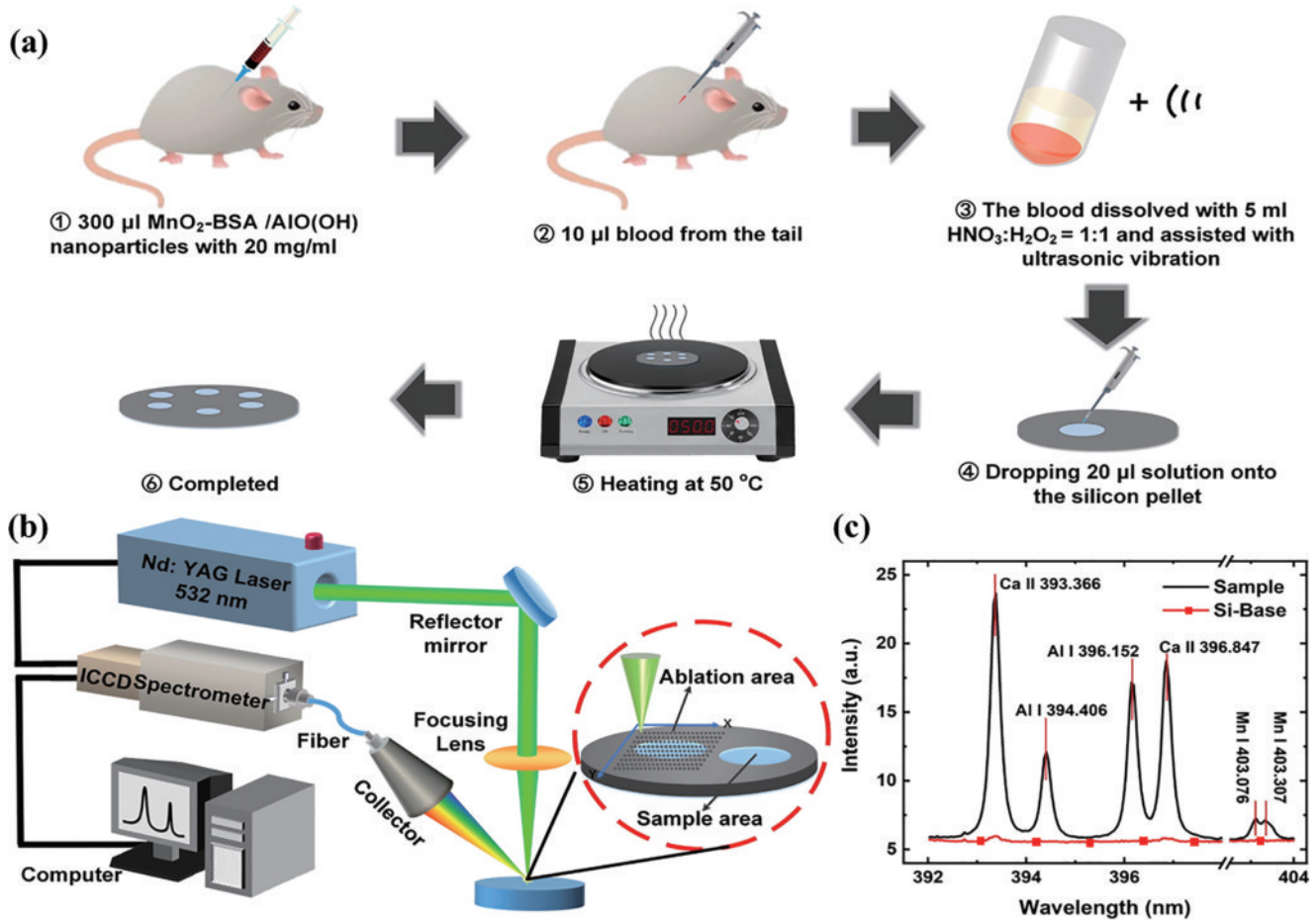


图 3 LIBS 检测药物半衰期^[45]。(a) 样本制备流程示意图；(b) 激光诱导击穿光谱系统示意图和光谱采集方法；(c) 样本和硅基板的光谱图

Fig. 3 LIBS detection of drug half-life^[45]. (a) Schematic of sample preparation process; (b) schematic of LIBS system and spectral acquisition method; (c) spectra of samples and silicon substrate

受到越来越多研究者的关注。与传统组织病理学分析相比,LIBS 多元素分析为疾病诊断提供了一种新颖的方法。现阶段,LIBS 技术组织检测主要聚焦在软组织和硬组织两个方面,软组织以病理诊断和生理检测为主,硬组织主要对钙化组织进行研究^[47-48]。本小节探讨 LIBS 技术在软组织上的病理诊断、病理划分和其他生物组织病理检测的应用现状,探索其在提高疾病诊断准确性方面的潜力。

4.1 LIBS 技术软组织检测

4.1.1 病理诊断

LIBS 技术结合机器学习可作为肿瘤组织诊断的潜在工具。研究发现,甲状腺癌(PTC)组织在 LIBS 光谱中的 Ca 和 Mg 水平显著高于正常组织,通过 SVM 分类器和 LDA 分类器区分 PTC 组织和正常组织,总精度分别达到 92.6% 和 81.5%^[49]。在宫颈癌研究中,Wang 等^[50]利用 LIBS 验证了人体宫颈癌组织中 Na、Mg、K 的归一化峰强度显著高于正常组织,而正常组织中 Ca 的归一化峰强度高于宫颈癌组织,使用 PCA-SVM 和 SVM 鉴别的准确率分别为 94.44% 和 93.06%。在黑色素瘤的鉴别中,Khan 等^[51]将 LIBS 数

据和拉曼光谱数据融合,利用元素的原子和分子结构信息实现黑色素瘤和正常组织的辨别和分类,使用 ELM 分类模型实现了拉曼光谱和 LIBS 的组合数据的最高准确度(100%)。为了评估肿瘤治疗效果,Lin 等^[52]通过 LIBS 分析化疗前后的肿瘤组织元素以预测肿瘤治疗情况。结果表明,化疗前后样本之间的光谱差异位于 300~700 nm 范围内,且 Ca 是区分化疗前后组织的最重要元素,这可能与 Ca 元素在药物治疗时对血管生成的调节有关^[53]。LIBS 技术结合化学计量法和多光谱技术在癌症组织鉴定方面具有潜力,使 LIBS 技术为实时诊断癌症组织提供了初步的研究依据。

4.1.2 病理划分

LIBS 通过检测肿瘤和边界组织中的微量元素,为肿瘤手术切除提供了有价值的参考。比如,肺肿瘤和边界组织表现出相似的颜色和纹理,特别是在边缘区域,这导致外科医生无法精准识别。针对这一现状,Lin 等^[54]利用 LIBS 结合不同的机器学习方法来实现肺肿瘤和边界组织之间的区分。他们采用 SVM 和 Boosting Tree 模型,并使用随机森林进行特征选择,准确率达到 98.9%。同样,Teng 等^[55]提出一种基于

LIBS的脑胶质瘤浸润边界术中鉴别方法,以辅助检测手术中难以确定的肿瘤浸润边界,减少复发率和死亡率。结果表明,LIBS结合SVM和特征选择方法实现了高的分类率,其神经胶质瘤和边界组织的正确分类率达到95%,如图4所示。该研究还强调了Mg和Ca元素在肿瘤形成中的潜在作用,以及CN线在边界确定和组织分类中的重要性。在甲状腺癌在线切除术

中,甲状腺腺(PG)的识别和保存是甲状腺切除术中的一个主要问题,而LIBS技术能够协助甲状腺在线切除,使用RF-ANN模型识别PG的准确率达到92%^[56]。这些研究表明LIBS适合术中肿瘤边界的检测。但是,激光与物质相互作用时,消融软组织产生的光谱信号的稳定性仍然是一个亟待解决的问题,因为术中出血和样本不平整都会对测量结果产生影响。

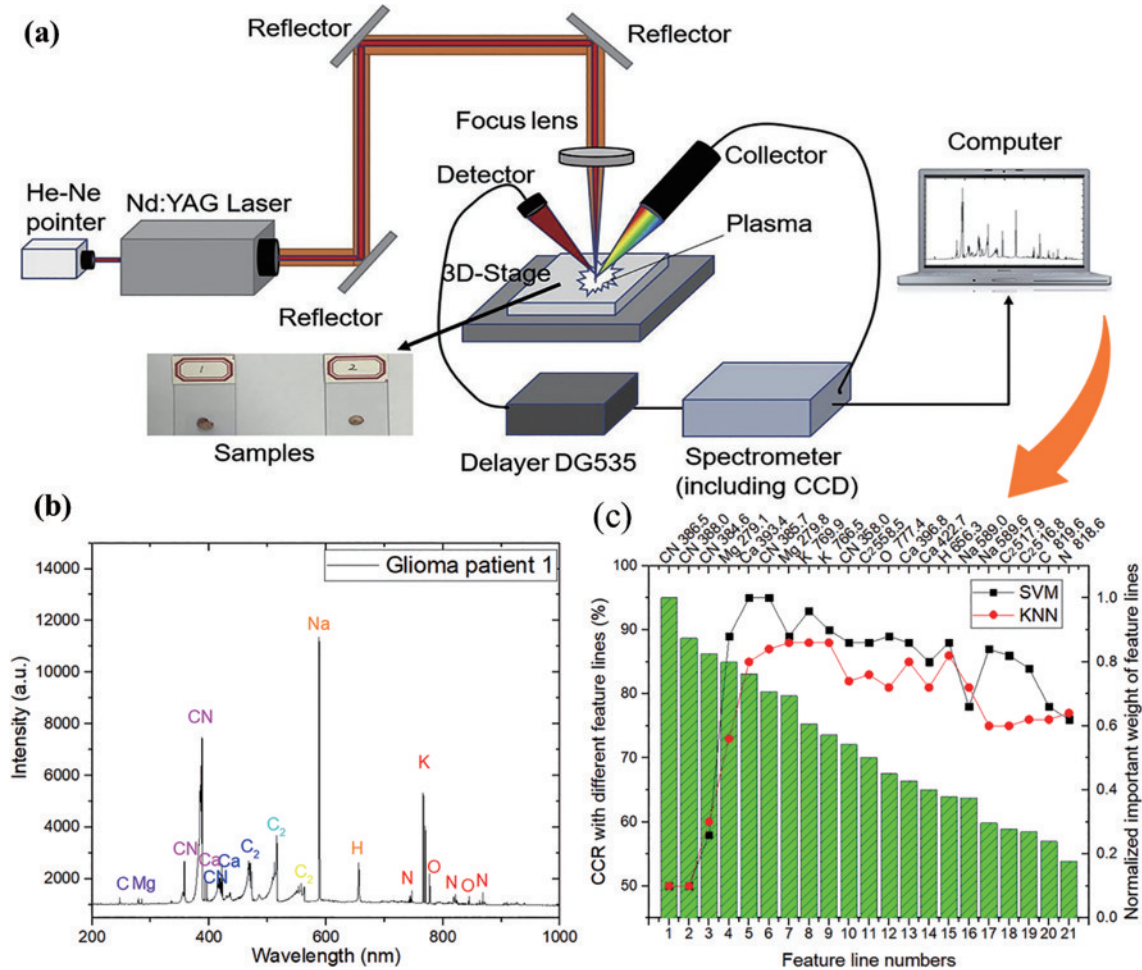


图4 LIBS结合SVM和KNN在浸润性胶质瘤中的分类结果^[55]。(a) LIBS实验装置;(b) 胶质瘤样品的LIBS光谱;(c) SVM和KNN分类结果

Fig. 4 Classification results of LIBS combined with SVM and KNN in infiltrating glioma^[55]. (a) Experimental setup for LIBS; (b) LIBS spectra of glioma samples; (c) classification results of SVM and KNN

4.2 LIBS技术用于其他生物组织检测

LIBS检测不仅适用于软组织,还可以扩展到其他生物组织,包括头发、指甲和硬组织,因为它们相比血液或软组织在更长的时间尺度上记录了饮食史和生理状况,并且易于获得的样本使其成为LIBS分析的理想目标。Cherni等^[57]首次使用LIBS检测研究了头发对2型糖尿病和骨质疏松症^[35]的诊断潜力,确定了Mg和Na的组合可能适合于诊断2型糖尿病,Ca和Na是骨质疏松的有效生物标志物。该方法通过分析头发中的矿物质元素诊断早期疾病,是一种很有前途的新方法。为了精确定量分析头发中的矿物元素量,Zhang等^[58]开发了一种有前途的方法,通过超声波辅助碱溶

解(UAAD)来增加Zn和Cu的谱线强度,如图5所示。他们还使用低成本的自动聚焦LIBS系统直接获得头发光谱,并使用CF-LIBS方法量化Ca/Na和Mg/Na的含量比^[59]。这种替代技术在营养学和医学疾病检测方面具有巨大潜力。Zhang等^[59]利用LIBS技术检测指甲中的元素浓度,发现维生素D缺乏与K元素浓度呈负相关,表明K元素缺乏可能与高血压有关。该研究结果对同时服用钾基药物和维生素D补充剂的高血压患者具有参考价值。然而,对于肾结石等高度复杂的样品仅依靠LIBS无法区分矿物质水合物,Muhammed等^[60]采用LIBS结合拉曼光谱分析了7种肾结石,发现LIBS可以识别草酸钙,但不能区分草酸

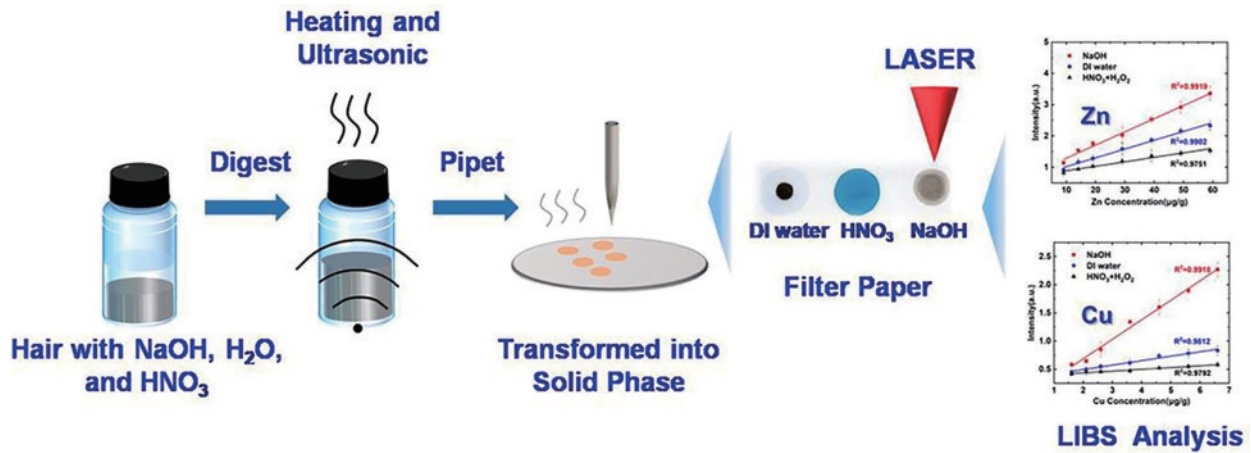


图 5 头发样本预处理和实验结果分析^[58]

Fig. 5 Preprocessing of hair samples and analysis of experimental results^[58]

钙一水合物(COM)和草酸钙二水合物(COD)的水合物,而拉曼光谱可以通过观察C—O对称振动、O—C—O面内弯曲、C—C拉伸来检测和区分不同水合物。这两种技术互相补充,可提供完整的元素和分子信息,有助于了解肾结石的发生和形成。

LIBS 技术与机器学习方法相结合,可以成为识别生物组织中元素、实现组织划分和疾病诊断的强大工具。但是生物组织样品表面的质地、粗糙度和非均匀性会影响激光能量与组织的耦合以及等离子体的生成过程,导致 LIBS 光谱曲线波动^[55],因此临床条件下的样品制备是 LIBS 在软组织元素分析的一大挑战。此外,现有设备多用于实验室的稳定环境,不适用于临床检测,急需研发一种可携带、对微弱信号敏感的 LIBS 在线检测仪器^[48]。同时,根据不同的样本特点构建可靠的算法模型并收集足够多的样本数据也至关重要。

5 LIBS 技术在元素成像中的研究进展

在生物医学领域,光学成像技术因其优异的灵敏度、高特异性和高分辨率而备受关注^[61]。鉴于元素失衡与疾病的潜在关系,LIBS 成像技术对生物元素在空间上的异质性分布检测和深入研究将有助于医疗诊断。该技术利用激光诱导的等离子体在样品表面的不同位置生成光谱,并从中提取与感兴趣元素相关的线强度,再构建元素图以获得相应的元素图像^[62],LIBS 成像仪器和原理如图 6(a)所示。在常用的光学成像技术中 LIBS 以微观空间分辨率检测生物组织中微量元素分布,能够生成具有微米分辨率(10 µm)和 mg/L 级灵敏度的百万像素多元素图像^[63],而在最近的研究中,LIBS 成像在细胞内达到了纳米级别的分辨率(410.2 nm)^[64],如图 6(b)所示。许多研究者认为,

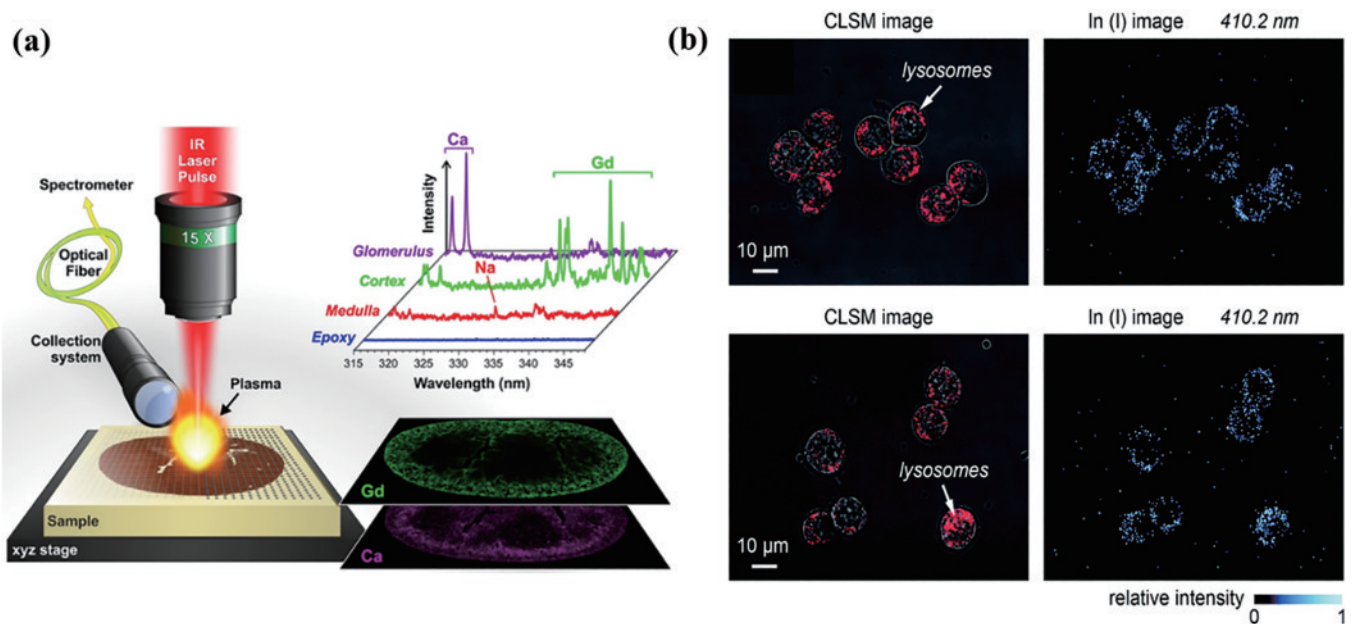


图 6 LIBS 成像技术。(a) LIBS 成像原理示意图^[66]; (b) 单细胞纳米级 LIBS 成像^[64]

Fig. 6 LIBS imaging technology. (a) Schematic diagram of the LIBS imaging principle^[66]; (b) single-cell nanoscale LIBS imaging^[64]

基于 LIBS 的成像是一种有价值的研究工具,具有高度的通用性,易于在常规基础研究中实施^[65]。因此,LIBS 成像技术可辅助病理学家和临床医学在组织分析和临床诊断方面的工作。

5.1 LIBS 成像在病理划分中的应用

LIBS 技术在内源性和外源性多元素原位成像能力已被广泛研究,人们能够通过元素分布的不同区分皮肤癌与健康皮肤组织。研究发现与健康皮肤相比,皮肤癌中的 Ca、P、Na 和 Mg 浓度范围波动较大,并且在所有肿瘤区域观察到高水平的 P^[67],如图 7 所示。这表明 LIBS 元素成像与传统组织病理学是高度互补的,为皮肤癌的研究、诊断和分期提供了新的策略。另一项研究则通过 LIBS 成像技术定位病理组织的边

缘,选择皮肤恶性黑色素瘤、基底细胞癌和血管瘤进行 LIBS 成像分析,利用 Mg、Ca、Na 和 K 元素在不同肿瘤组织的分布差异进行肿瘤边缘识别^[68]。该研究虽然使用聚类算法进行了肿瘤区域分析,但是肿瘤边缘的估计仍然不够准确。为了更精确地识别肿瘤组织边界,Yin 等^[69]利用 LIBS 结合聚类分析对内源性元素进行肺肿瘤边界成像,发现 Ca、Mg、Na 和 Cu 的含量在癌组织、癌旁组织和正常组织中具有显著特异性,并实现了肿瘤区域、坏死区域和正常区域的边界识别。然而,尽管机器学习结合 LIBS 成像技术在指导精确治疗方面具有优势,但是精确划分肿瘤边缘仍需要大量临床样本进行进一步的研究。

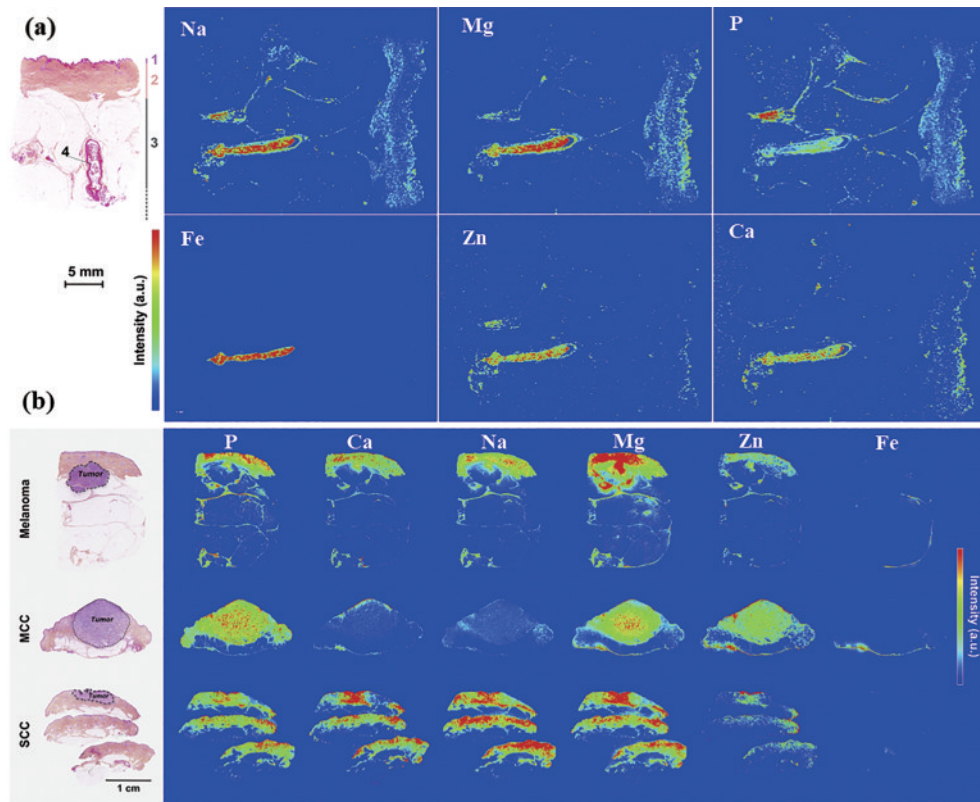


图 7 基于 LIBS 技术的皮肤组织成像^[67]。(a) 健康皮肤组织的元素成像;(b) 不同皮肤癌类型的元素成像

Fig. 7 LIBS-based skin tissue imaging^[67]. (a) Elemental imaging of healthy skin tissue; (b) elemental imaging of different types of skin cancer

LIBS 成像技术可以揭示组织内积聚的外源性元素的存在,这对药物和纳米颗粒的研究至关重要。le Guével 等^[70]在不同时间段对小鼠不同器官进行 LIBS 多元素成像,发现肾脏、肝脏和脾脏中 Au 的变化情况不同,揭示了 Au 纳米颗粒在组织中的清除率和含量。在用于辐射剂量增强的稀土复合纳米闪烁体的治疗价值研究中,Busser 等^[71]将 LaF₃:Ce 纳米颗粒注射到大鼠胶质母细胞瘤,然后用同步辐射 X 射线治疗。LIBS 图像显示,在放射治疗前肿瘤区域聚集了大量的纳米颗粒,但还有一些肿瘤细胞仍然没有纳米颗粒或很少的纳米颗粒,这为验证靶向治疗的效果提供了新的检

测手段。在研究抗肿瘤治疗过程中,Wei 等^[72]利用 LIBS 多元素成像显示不同方法治疗后肿瘤组织样本的元素差异。结果表明,DNA 水凝胶/DOX 被证明是抗肿瘤治疗的最佳方案,可促进肿瘤中 Ca 的富集和 Mg 含量的相对降低。此外,H&E 染色和 IHC 分析表明,肿瘤组织和周围组织之间的病理形态没有显著差异,但 LIBS 元素图中 Mg 和 Ca 的相对丰度不同。该方法可能是评价抗肿瘤治疗效果和机制研究的有效途径。

5.2 LIBS 三维成像在生物学中的应用

LIBS 成像技术可以进行深度成像分析,以确定内源性元素和外源性元素的扩散行为及其深度边界,这

种方法对于生物组织的深入分析尤其适用。Gimenez 等^[66]以纳米颗粒(NPs)作为载体,开发了两种三维成像方法,实现了器官尺度上组织中的 NPs 的成像,如图 8(a)所示。其中:一种方法是将环氧树脂包埋的肾脏切片成连续的 200 μm 厚的切片,以研究纳米颗粒在整个器官中整体分布,如图 8(b)所示;另一种方法则是利用 LIBS 的侵入性,对相同的肾脏区域进行重复的二维成像。需要注意的是,第 2 种方法中的深度消融三维成像会产生消蚀坑,如图 8(c)所示。在深度消

融期间,烧蚀坑边缘的信号会严重衰减,影响图像分辨率,如图 8(d)所示。Lin 等^[73]采用深度烧蚀三维成像方法对小鼠脑组织阻滞进行离体三维元素成像,通过切片修整消融表面以创建新的平面,修整深度与消融深度相等。图 9 显示了 Ca、Mg、Na、Cu 和 P 在大脑中的空间分布。元素成像结果表明:皮层表面的再生区域富集 Ca 和 Mg, Cu 的分布呈现圆形,且主要分布在皮层;在左脑石蜡块的中间矢状面附近的小脑中发现了最高的 P 强度。这种方法首次证明了对

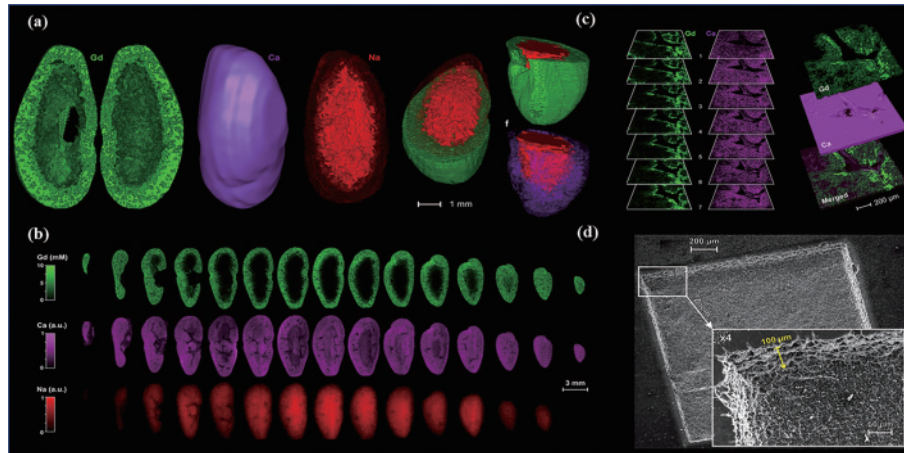


图 8 LIBS 成像在生物医学应用中的里程碑^[66]。(a) 全肾尺度的 3D 成像;(b) 切片成像;(c) 深度消融成像;(d) 扫描电子显微镜 (SEM) 下的样品表面

Fig. 8 Milestones of LIBS imaging in biomedical applications^[66]. (a) 3D imaging of the entire kidney; (b) slice imaging; (c) depth ablation imaging; (d) sample surface under SEM

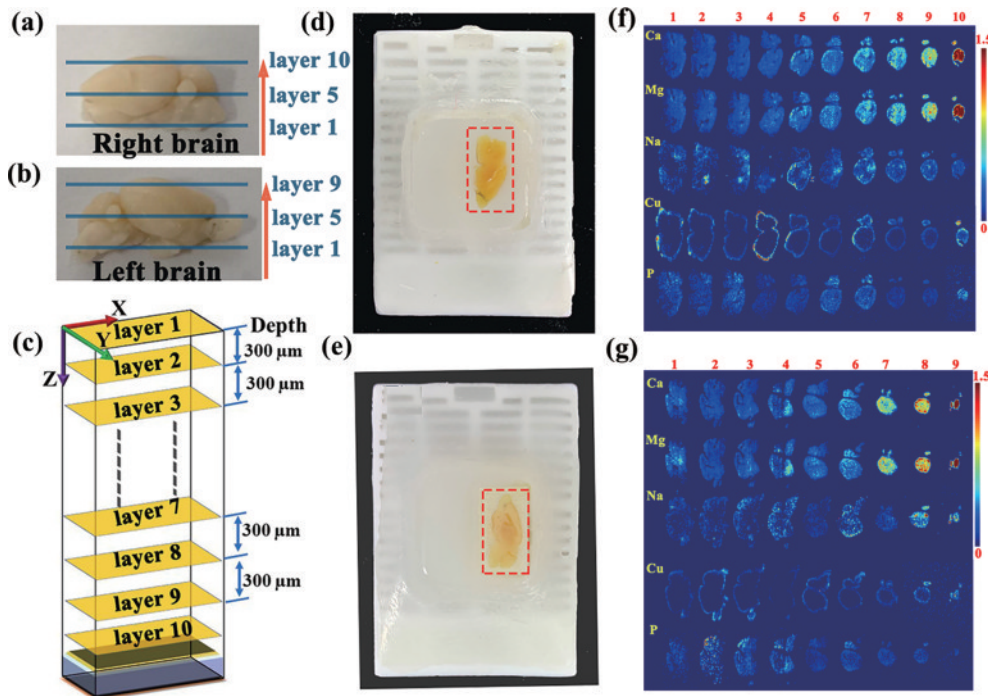


图 9 深度消融脑组织块中的元素成像示意图^[73]。(a) 右脑;(b) 左脑;(c) LIBS 逐层分析;(d) 原石蜡包埋的脑样本;(e) LIBS 消融后的样本;(f) 右脑组织元素成像;(g) 左脑组织元素成像

Fig. 9 Diagrams of elemental imaging in deep ablated brain tissue block^[73]. (a) Right brain; (b) left brain; (c) LIBS layer-by-layer analysis; (d) brain sample embedded in paraffin wax; (e) samples after LIBS ablation; (f) elemental imaging of right brain; (g) elemental imaging of left brain

小鼠大脑实现基于消融的快速成像的可能性,并可能进一步提高对许多脑部疾病化学基础的理解。

LIBS 元素成像能够以时间和空间两种维度对组织元素分布进行研究,在空间上实现原位肿瘤边缘划分、临床复杂多样的病理标本元素分布成像,在时间上研究纳米颗粒药物在不同时间段组织的分布以评估药物对肿瘤的治疗效果,特别是金属基纳米颗粒的临床药代动力学和毒性研究。因此,基于 LIBS 技术的影像学检查与常规组织病理学分析的互补性可能有助于快速、准确诊断,符合未来精准医学的发展趋势。此外,LIBS 成像技术需要进一步提高其稳定性和准确性。正如 Gardette 等^[74]在系统性回顾 LIBS 成像技术在生物医学应用中指出:“大量数据的处理是当前该技术发展及其在实验室外应用的障碍,化学计量法的使用,无疑是未来几年的主要研究挑战。”总体而言,LIBS 元素成像技术具有很大的应用潜力,可以为病理学、临床研究和医学领域的疾病治疗提供更全面的组织学信息。

6 总结与展望

生物医学领域作为 LIBS 技术应用的新兴研究领域,已经取得了一些具有实质意义的研究成果。然而相比于已将 LIBS 投入实际应用的其他领域,LIBS 技术在生物医学领域的应用仍然存在许多问题亟待解决。

在血液检测方面,LIBS 技术结合机器学习算法可以实现较高的精度,但由于缺乏多中心样本支持和血液样本数量的限制,LIBS 技术在稳定性和准确性方面仍面临挑战,在之后的研究中,可以进一步探索多样本(如尿液、汗液和唾液等)联合检测方法以提高检测的可靠性。在组织病理诊断方面,生物组织的柔软性和高度异质性等制约了 LIBS 在线检测的发展。而机器学习和目标识别算法或将突破这些限制。在医学成像中,LIBS 成像需要较长的测量时间,且缺乏组织的形态学信息。之后的研究可以探索多光谱技术的结合,以增强 LIBS 对元素的识别能力。此外,新的光谱处理方法和数据分析技术也可以进一步提高 LIBS 成像技术在生物医学研究中的应用价值。

未来,LIBS 技术有望成为液体活检和组织活检技术的有益补充,可提供快速、准确的诊断结果,并在医学成像上与现有的影像技术形成互补。化学计量学的发展也为 LIBS 技术在生物医学研究中的应用提供更多可能性。综上所述,在生物医学领域中,未来 LIBS 技术应以临床需求为导向,以性能提升为目标,开发专业化特种仪器以在临床应用中展现更广阔的前景,为实现精准医疗提供强有力的支撑。

参 考 文 献

[1] Haraguchi H. *Metallomics: integrated biometal science*

[M]//Ogra Y, Hirata T. *Metallomics*. Tokyo: Springer, 2017: 3-39.

- [2] Zabłocka-Słowińska K, Płaczkowska S, Prescha A, et al. Serum and whole blood Zn, Cu and Mn profiles and their relation to redox status in lung cancer patients[J]. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2018, 45: 78-84.
- [3] Liao S J, Omega S O, Börmel L, et al. Vitamin E and metabolic health: relevance of interactions with other micronutrients[J]. *Antioxidants*, 2022, 11(9): 1785.
- [4] Li S W, Jiang X, Luo Y H, et al. Sodium/calcium overload and Sirt1/Nrf2/OH-1 pathway are critical events in mercuric chloride-induced nephrotoxicity[J]. *Chemosphere*, 2019, 234: 579-588.
- [5] Renata R B N, Arely G R A, Gabriela L M A, et al. Immunomodulatory role of microelements in COVID-19 outcome: a relationship with nutritional status[J]. *Biological Trace Element Research*, 2023, 201(4): 1596-1614.
- [6] Ge E J, Bush A I, Casini A, et al. Connecting copper and cancer: from transition metal signalling to metalloplasia[J]. *Nature Reviews Cancer*, 2022, 22(2): 102-113.
- [7] Squitti R, Ventriglia M, Simonelli I, et al. Copper imbalance in Alzheimer's disease: meta-analysis of serum, plasma, and brain specimens, and replication study evaluating ATP7B gene variants[J]. *Biomolecules*, 2021, 11(7): 960.
- [8] Lee Y H, Bang E S, Lee J H, et al. Serum concentrations of trace elements zinc, copper, selenium, and manganese in critically ill patients[J]. *Biological Trace Element Research*, 2019, 188(2): 316-325.
- [9] Chitturi R, Baddam V R, Prasad L, et al. A review on role of essential trace elements in health and disease[J]. *Journal of Dr NTR University of Health Sciences*, 2015, 4(2): 75.
- [10] Hussain Shah S K, Iqbal J, Ahmad P, et al. Laser induced breakdown spectroscopy methods and applications: a comprehensive review[J]. *Radiation Physics and Chemistry*, 2020, 170: 108666.
- [11] Ji H W, Ding Y, Zhang L W, et al. Review of aerosol analysis by laser-induced breakdown spectroscopy[J]. *Applied Spectroscopy Reviews*, 2021, 56(3): 193-220.
- [12] 李娜, 汤少华, 陆梦洁, 等. 激光波长对水体中激光诱导击穿光谱和空化气泡演化的影响[J]. *光学学报*, 2022, 42(18): 1801005.
- Li N, Tang S H, Lu M J, et al. Influence of laser wavelength on laser-induced breakdown spectrum and evolution of cavitation bubbles in water[J]. *Acta Optica Sinica*, 2022, 42(18): 1801005.
- [13] 傅院霞, 贾韧, 徐鹏, 等. 金属基质激光诱导击穿光谱最佳离焦量的基质效应研究[J]. *中国激光*, 2022, 49(13): 1311003.
- Fu Y X, Jia R, Xu P, et al. An exploration of matrix effect on optimal defocus distance of metal matrix in laser-induced breakdown spectroscopy[J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2022, 49(13): 1311003.
- [14] Guo L B, Zhang D, Sun L X, et al. Development in the application of laser-induced breakdown spectroscopy in

- recent years: a review[J]. *Frontiers of Physics*, 2021, 16(2): 1-25.
- [15] Yu K Q, Ren J, Zhao Y R. Principles, developments and applications of laser-induced breakdown spectroscopy in agriculture: a review[J]. *Artificial Intelligence in Agriculture*, 2020, 4: 127-139.
- [16] 李祥友, 刘可, 周冉, 等. 激光诱导击穿光谱技术及应用综述[J]. *中国激光*, 2022, 49(12): 1202003.
Li X Y, Liu K, Zhou R, et al. Summary of laser-induced breakdown spectroscopy technology and its application [J]. *Chinese Journal of Lasers*, 2022, 49(12): 1202003.
- [17] Palleschi V. Laser-induced breakdown spectroscopy: principles of the technique and future trends[J]. *ChemTexts*, 2020, 6(2): 1-16.
- [18] Fabre C. Advances in Laser-Induced Breakdown Spectroscopy analysis for geology: a critical review[J]. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2020, 166: 105799.
- [19] Fu Y T, Gu W L, Hou Z Y, et al. Mechanism of signal uncertainty generation for laser-induced breakdown spectroscopy[J]. *Frontiers of Physics*, 2020, 16(2): 1-10.
- [20] Ciucci A, Corsi M, Palleschi V, et al. New procedure for quantitative elemental analysis by laser-induced plasma spectroscopy[J]. *Applied Spectroscopy*, 1999, 53(8): 960-964.
- [21] Hu Z L, Zhang D, Wang W L, et al. A review of calibration-free laser-induced breakdown spectroscopy[J]. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 2022, 152: 116618.
- [22] Zhang D X, Zhang H, Zhao Y, et al. A brief review of new data analysis methods of laser-induced breakdown spectroscopy: machine learning[J]. *Applied Spectroscopy Reviews*, 2022, 57(2): 89-111.
- [23] Feng Z Q, Li S S, Gu T Y, et al. Electrolyte analysis in blood serum by laser-induced breakdown spectroscopy using a portable laser[J]. *Molecules*, 2022, 27(19): 6438.
- [24] Ghazi-Maghrebi F, Shirvani-Mahdavi H, Shoursheini S Z. Qualitative and quantitative evaluation of blood cholesterol using laser plasma spectroscopy and calibration-based linear discriminant analysis[J]. *Applied Physics B*, 2020, 126(11): 1-10.
- [25] Multari R A, Cremers D A, Nelson A, et al. The use of laser-based diagnostics for the rapid identification of infectious agents in human blood[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2019, 126(5): 1606-1617.
- [26] Šindelářová A, Pořízka P, Modlitbová P, et al. Methodology for the implementation of internal standard to laser-induced breakdown spectroscopy analysis of soft tissues[J]. *Sensors*, 2021, 21(3): 900.
- [27] Emara E M, Song H Y, Imam H, et al. Detection of hypokalemia disorder and its relation with hypercalcemia in blood serum using LIBS technique for patients of colorectal cancer grade I and grade II[J]. *Lasers in Medical Science*, 2022, 37(2): 1081-1093.
- [28] Musyoka Wayua D, Kalambuka Angeyo H, Dehayem-Kamadjeu A, et al. Direct analysis of blood for diagnostic metals for malaria by peak-free laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) with artificial neural networks (ANN) and partial least squares (PLS) [J]. *Analytical Letters*, 2022, 55(17): 2669-2682.
- [29] Gaudiuso R, Ewusi-Annan E, Melikechi N, et al. Using LIBS to diagnose melanoma in biomedical fluids deposited on solid substrates: limits of direct spectral analysis and capability of machine learning[J]. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2018, 146: 106-114.
- [30] Chen X, Zhang Y, Li X H, et al. Diagnosis and staging of multiple myeloma using serum-based laser-induced breakdown spectroscopy combined with machine learning methods[J]. *Biomedical Optics Express*, 2021, 12(6): 3584-3596.
- [31] Eum C, Park J, Kumar S, et al. Feasibility of laser-induced breakdown spectroscopy as a direct raw bile analysis tool for screening of gallbladder cancer[J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2022, 37(4): 823-832.
- [32] Teng G E, Wang Q Q, Yang H F, et al. Pathological identification of brain tumors based on the characteristics of molecular fragments generated by laser ablation combined with a spiking neural network[J]. *Biomedical Optics Express*, 2020, 11(8): 4276-4289.
- [33] Li J J, Chen F, Huang G Q, et al. Identification of Graves' ophthalmology by laser-induced breakdown spectroscopy combined with machine learning method[J]. *Frontiers of Optoelectronics*, 2021, 14(3): 321-328.
- [34] Pyun S H, Min W, Goo B, et al. Real-time, *in vivo* skin cancer triage by laser-induced plasma spectroscopy combined with a deep learning-based diagnostic algorithm [J]. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 2022: 1166.
- [35] Cherni I, Nour R, Daoud F, et al. Fast diagnostic of osteoporosis based on hair analysis using LIBS technique [J]. *Medical Engineering & Physics*, 2022, 103: 103798.
- [36] Nour R, Cherni I, Ghalila H, et al. Early diagnosis of dental pathologies by front face fluorescence (FFF) and laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) with principal component analysis (PCA) [J]. *Instrumentation Science & Technology*, 2022, 50(5): 465-480.
- [37] Nordberg M, Nordberg G F. Trace element research-historical and future aspects[J]. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2016, 38: 46-52.
- [38] Lelièvre P, Sancey L, Coll J L, et al. The multifaceted roles of copper in cancer: a trace metal element with dysregulated metabolism, but also a target or a bullet for therapy[J]. *Cancers*, 2020, 12(12): 3594.
- [39] Chen X, Li X H, Yang S B, et al. Discrimination of lymphoma using laser-induced breakdown spectroscopy conducted on whole blood samples[J]. *Biomedical Optics Express*, 2018, 9(3): 1057-1068.
- [40] Chen X, Li X H, Yu X, et al. Diagnosis of human malignancies using laser-induced breakdown spectroscopy in combination with chemometric methods[J]. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2018, 139: 63-69.
- [41] Chu Y W, Chen F, Sheng Z Q, et al. Blood cancer diagnosis using ensemble learning based on a random

- subspace method in laser-induced breakdown spectroscopy [J]. *Biomedical Optics Express*, 2020, 11(8): 4191-4202.
- [42] Chu Y W, Chen T, Chen F, et al. Discrimination of nasopharyngeal carcinoma serum using laser-induced breakdown spectroscopy combined with an extreme learning machine and random forest method[J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2018, 33(12): 2083-2088.
- [43] Gaudio R, Ewusi-Annan E, Xia W M, et al. Diagnosis of Alzheimer's disease using laser-induced breakdown spectroscopy and machine learning[J]. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2020, 171: 105931.
- [44] Berlo K, Xia W, Zwillich F, et al. Laser induced breakdown spectroscopy for the rapid detection of SARS-CoV-2 immune response in plasma[J]. *Scientific Reports*, 2022, 12: 1614.
- [45] Chu Y W, Zhang Z J, He Q Y, et al. Half-life determination of inorganic-organic hybrid nanomaterials in mice using laser-induced breakdown spectroscopy[J]. *Journal of Advanced Research*, 2020, 24: 353-361.
- [46] Zhao Z F, Ma W P, Teng G E, et al. Accurate identification of inflammation in blood based on laser-induced breakdown spectroscopy using chemometric methods[J]. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2023, 202: 106644.
- [47] 张琨, 徐宗伟, 陈传松, 等. 激光诱导击穿光谱在疾病诊断中的应用前景[J]. *光谱学与光谱分析*, 2021, 41(6): 1961-1965.
- Zhang K, Xu Z W, Chen C S, et al. Application prospect of laser induced breakdown spectroscopy in disease diagnosis[J]. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 2021, 41(6): 1961-1965.
- [48] Wang Q Q, Xiangli W T, Teng G E, et al. A brief review of laser-induced breakdown spectroscopy for human and animal soft tissues: pathological diagnosis and physiological detection[J]. *Applied Spectroscopy Reviews*, 2021, 56(3): 221-241.
- [49] Luo M, Li X H, He Q X, et al. Elemental analysis and identification of papillary thyroid cancer tissues using laser-induced breakdown spectroscopy[J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2022, 37(4): 833-840.
- [50] Wang J, Li L, Yang P, et al. Identification of cervical cancer using laser-induced breakdown spectroscopy coupled with principal component analysis and support vector machine[J]. *Lasers in Medical Science*, 2018, 33(6): 1381-1386.
- [51] Khan M N, Wang Q Q, Idrees B S, et al. Evaluation of human melanoma and normal formalin paraffin-fixed samples using Raman and LIBS fused data[J]. *Lasers in Medical Science*, 2022, 37(5): 2489-2499.
- [52] Lin Q Y, Wei H Y, Yin P K, et al. Discrimination of elemental responsiveness to tumor chemotherapy by laser-induced breakdown spectroscopy coupled with chemometric methods[J]. *Laser Physics*, 2020, 30(10): 105701.
- [53] Panda S M, Chatterjee O, Roy L, et al. Targeting Ca²⁺ signaling: a new arsenal against cancer[J]. *Drug Discovery Today*, 2022, 27(3): 923-934.
- [54] Lin X M, Sun H R, Gao X, et al. Discrimination of lung tumor and boundary tissues based on laser-induced breakdown spectroscopy and machine learning[J]. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2021, 180: 106200.
- [55] Teng G E, Wang Q Q, Zhang H W, et al. Discrimination of infiltrative glioma boundary based on laser-induced breakdown spectroscopy[J]. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2020, 165: 105787.
- [56] Wang Q Q, Xiangli W T, Chen X H, et al. Primary study of identification of parathyroid gland based on laser-induced breakdown spectroscopy[J]. *Biomedical Optics Express*, 2021, 12(4): 1999-2014.
- [57] Cherni I, Nakkach M, Ghalila H, et al. Noninvasive diagnosis of type 2 diabetes mellitus by hair analysis using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) [J]. *Instrumentation Science & Technology*, 2023, 51(1): 16-31.
- [58] Zhang S Y, Chu Y W, Ma S X, et al. Highly accurate determination of Zn and Cu in human hair by ultrasound-assisted alkali dissolution combined with laser-induced breakdown spectroscopy[J]. *Microchemical Journal*, 2020, 157: 105018.
- [59] Zhang S Y, Hu Z L, Zhao Z F, et al. Quantitative analysis of mineral elements in hair and nails using calibration-free laser-induced breakdown spectroscopy[J]. *Optik*, 2021, 242: 167067.
- [60] Muhammed S K M, Chawla A, Mallya M, et al. Laser-induced breakdown spectroscopy-Raman: an effective complementary approach to analyze renal-calculi[J]. *Journal of Biophotonics*, 2018, 11(6): e201700271.
- [61] Liu Z K, Li S K, Xia X, et al. Recent advances in multifunctional graphitic nanocapsules for Raman detection, imaging, and therapy[J]. *Small Methods*, 2020, 4(4): 1900440.
- [62] 罗贤锋, 游利兵, 徐健, 等. 基于激光诱导击穿光谱的元素成像技术研究进展[J]. *激光技术*, 2020, 44(1): 66-73.
- Luo X F, You L B, Xu J, et al. Research progress of elemental imaging technology based on laser-induced breakdown spectroscopy[J]. *Laser Technology*, 2020, 44(1): 66-73.
- [63] Moncayo S, Duponchel L, Mousavipak N, et al. Exploration of megapixel hyperspectral LIBS images using principal component analysis[J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2018, 33(2): 210-220.
- [64] Meng Y F, Gao C H, Lin Z, et al. Nanoscale laser-induced breakdown spectroscopy imaging reveals chemical distribution with subcellular resolution[J]. *Nanoscale Advances*, 2020, 2(9): 3983-3990.
- [65] Limbeck A, Brunnbauer L, Lohninger H, et al. Methodology and applications of elemental mapping by laser induced breakdown spectroscopy[J]. *Analytica Chimica Acta*, 2021, 1147: 72-98.
- [66] Gimenez Y, Busser B, Trichard F, et al. 3D imaging of nanoparticle distribution in biological tissue by laser-induced breakdown spectroscopy[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 29936.

- [67] Moncayo S, Trichard F, Busser B, et al. Multi-elemental imaging of paraffin-embedded human samples by laser-induced breakdown spectroscopy[J]. *Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy*, 2017, 133: 40-44.
- [68] Kiss K, Šindelářová A, Krbal L, et al. Imaging margins of skin tumors using laser-induced breakdown spectroscopy and machine learning[J]. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 2021, 36(5): 909-916.
- [69] Yin P K, Hu B, Li Q, et al. Imaging of tumor boundary based on multielements and molecular fragments heterogeneity in lung cancer[J]. *IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement*, 2021, 70: 4006207.
- [70] le Guével X, Henry M, Motto-Ros V, et al. Elemental and optical imaging evaluation of zwitterionic gold nanoclusters in glioblastoma mouse models[J]. *Nanoscale*, 2018, 10(39): 18657-18664.
- [71] Busser B, Bulin A L, Gardette V, et al. Visualizing the cerebral distribution of chemical elements: a challenge met with LIBS elemental imaging[J]. *Journal of Neuroscience Methods*, 2022, 379: 109676.
- [72] Wei H Y, Zhao Z, Lin Q Y, et al. Study on the molecular mechanisms against human breast cancer from insight of elemental distribution in tissue based on laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) [J]. *Biological Trace Element Research*, 2021, 199(5): 1686-1692.
- [73] Lin Q Y, Wang S, Duan Y X, et al. *Ex vivo* three-dimensional elemental imaging of mouse brain tissue block by laser-induced breakdown spectroscopy[J]. *Journal of Biophotonics*, 2021, 14(5): e202000479.
- [74] Gardette V, Motto-Ros V, Alvarez-Llamas C, et al. Laser-induced breakdown spectroscopy imaging for material and biomedical applications: recent advances and future perspectives[J]. *Analytical Chemistry*, 2023, 95(1): 49-69.