**Дифференциальная диагностика новообразований кожи методом спектроскопии комбинационного рассеяния с длиной волны возбуждения 532 нм *in vitro* в диапазоне высоких волновых чисел**

***Шелыгина С.Н.1, Римская Е.Н.2, Сараева И.Н.3, Тимурзиева А.Б.4***

*1аспирант, высококвалифицированный младший научный сотрудник, 2высококвалифицированный научный сотрудник, к.т.н., 3 высококвалифицированный научный сотрудник, к.ф.-м.н., 4 старший научный сотрудник, к.м.н.*

*1-3Физический институт им. П.Н. Лебедева РАН, отделение квантовой радиофизики им. Н.Г. Басова, центр лазерных и нелинейно-оптических технологий,* *лаборатория лазерной нанофизики и биомедицины Москва, Россия*

*4ФГБНУ "Национальный НИИ общественного здоровья имени Н.А. Семашко", Москва, Россия*

*E-mail: shelyginasn@lebedev.ru*

Заболеваемость злокачественными новообразованиями кожи ежегодно растет, поэтому их ранняя неинвазивная диагностика является социально значимой проблемой. Базальноклеточная (БКК) и плоскоклеточная (ПКК) карцинома кожи – это наиболее распространенные типы немеланоцитарных злокачественных новообразований кожи во всем мире [1]. Конфокальная микроспектроскопия комбинационного рассеяния (КР) света и флуоресценции (ФЛ) является структурно чувствительным оптическим методом, позволяющим проводить неинвазивный анализ биомаркеров в тканях кожи. Также метод обладает потенциалом для диагностики злокачественных новообразований человека *in vitro* и *in vivo* различных тканей человека, включая эндоскопическую диагностику тканей внутренних органов [2]. Для более комплексной диагностики может быть использована совместно с другими методами в качестве мультимодального подхода. Данная работа является исследованием возможности дифференциации новообразований кожи методом конфокальной сканирующей КР спектроскопии в диапазоне высоких волновых чисел и продолжением нашей предыдущей работы, где данный метод использовался для диагностики в спектральном диапазоне «отпечатков пальцев» [3].

В настоящей работе были проанализированы спектры КР/ФЛ, полученные методом 2D сканирующей конфокальной микроспектроскопии КР/ФЛ от 7 образцов БКК, 5 образцов ПКК, 3 образцов папиллом (доброкачественное новообразование) и 15 образцов здоровой ткани. Вклад ФЛв диапазоне 900–3200 см-1 был вычтен из исходных спектров на основе алгоритма Ванкувера, который является оптимальным для биомедицинских образцов. Каждый спектр был сглажен по методу Савицкого-Голея. Затем спектры КР в диапазоне от 900 до 3100 см–1 были нормированы на интенсивность полосы 1442 см–1, соответствующей СН2-колебаниям белков и липидов. На рисунке 1 приведен пример обработки спектра для нормальной кожи.

Затем был предложен метод дифференциации различных опухолей кожи, основанный на спектральном критерии отношения интенсивностей спектральных полос КР различных компонентов ткани. В данном случае были выбраны следующие спектральные критерии: соотношения интенсивностей *I*2880/1445 и *I*2930/1445, которые определяются как максимум интенсивности КР в диапазонах 2875–2885 см–1 и 2925–2935 см–1 к максимуму интенсивности КР в диапазоне 1440–1450 см–1:

$$I\_{2880/1445}=I\_{2880/1445} и I\_{2930/1445}=I\_{2930/1445}.$$

Данные соотношения, построенные в координатах *I*2880/1445 от *I*2930/1445, демонстрируют кластеры точек для нормальной кожи, БКК, ПКК и папилломы. Эффективность классификации оценивалась с использованием схемы перекрестной проверки в программе MATLAB Classification Learner (R2022b, MathWorks, Natick, Массачусетс, США) и была представлена матрицами классификации и ROC-кривыми. Это позволило оценить сходство и различие между образцами тканей, а также разделить их с помощью дискриминантного анализа.



Рисунок 1. Исходный спектр КР/ФЛ, спектр сигнала ФЛ и спектр КР при длине волны возбуждения 532 нм для нормальной кожи.

Отчетливые спектральные различия были выявлены в спектрах комбинационного рассеяния света БКК и ПКК по сравнению со здоровой кожей и папилломой. Это основано на различиях колебаниях липидов клеточных мембран, используемых в качестве биомаркеров. Данные критерии позволили дифференцировать здоровую кожу от базальноклеточной карциномы, плоскоклеточной карциномы и папилломы с чувствительностью и специфичностью более 90%, продемонстрировав высокую клиническую значимость в дифференциальной диагностике новообразований кожи.

Соблюдение этических стандартов. Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией и одобрено Межвузовским этическим комитетом МГМСУ им. Евдокимова Минздрава России (Москва, Россия, код протокола 3, 16.03.2023) для исследований на человеке. Информированное согласие было получено от всех субъектов, участвовавших в исследовании.

Финансирование работы. Авторы признательны Российскому научному фонду за финансовую поддержку данных исследований в рамках проекта № 23-25-00249.

**Литература**

1. Madan, V., Lear, J.T., Szeimies, R.M. Non-melanoma skin cancer // Lancet. 2010, 375 (9715), p. 673-85.
2. Bratchenko, I., Bratchenko, L., Moryatov, A., Khristoforova, Y., Artemyev, D., Myakinin, O., Orlov, A., Kozlov, S., Zakharov, V. *In vivo* diagnosis of skin cancer with a portable Raman spectroscopic device // Experimental Dermatology. 2021, 30 (5), p. 652-663.
3. Rimskaya, E., Shelygina, S., Timurzieva, A., Saraeva, I., Perevedentseva, E., Melnik, N., Kudrin, K., Reshetov, D., Kudryashov, S. Multispectral Raman Differentiation of Malignant Skin Neoplasms *In Vitro*: Search for Specific Biomarkers and Optimal Wavelengths // International Journal of Molecular Sciences. 2023, 24 (19), p. 14748.