



УДК 616-006
DOI: 10.35693/2500-1388-2023-8-3-205-209



Применение рамановской спектроскопии для неинвазивной оптической диагностики новообразований кожи

© О.И. Каганов, Ю.Г. Логинова, А.А. Моряттов, С.В. Козлов

ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России (Самара, Россия)

Аннотация

Цель – предложить принципиальную схему нового предсерийного прибора, который может стать массовым и использоваться в лечебных учреждениях любого профиля для активной диагностики новообразований кожи.

Материал и методы. Выполнено исследование более 600 пациентов с различными новообразованиями кожи. В качестве объектов исследований были использованы образцы различных новообразований кожи человека, полученные после хирургического лечения в отделениях Самарского областного клинического онкологического диспансера. Обследование проводили с помощью предложенной оригинальной экспериментальной установки для лазерной спектроскопии комбинационного рассеяния. Анализ полученного сигнала проводили с применением собственного алгоритма, в том числе с элементами искусственного интеллекта.

Результаты. Полученные результаты показали эффективность предложенного способа диагностики с показателями чувствительности 89% и специфичности 93%. В результате нами обоснована технологическая возможность создания портативной недорогой спектроскопической техники с применением нейросетевого классификатора. Прибор позволяет сформировать предварительный диагноз без привлечения врача-специалиста и лишен субъективных критериев анализа.

Ключевые слова: меланома кожи, ранняя диагностика новообразований кожи, оптические методы анализа, рамановская спектроскопия, спектроскопия комбинационного рассеяния.

Конфликт интересов: не заявлен.

Для цитирования:

Каганов О.И., Логинова Ю.Г., Моряттов А.А., Козлов С.В. **Применение рамановской спектроскопии для неинвазивной оптической диагностики новообразований кожи.** *Наука и инновации в медицине.* 2023;8(3):205-209. doi: 10.35693/2500-1388-2023-8-3-205-209

Сведения об авторах

Каганов О.И. – д-р мед. наук, доцент, заведующий кафедрой онкологии.

ORCID: 0000-0003-1765-6965 E-mail: o.i.kaganov@samsmu.ru

Логинова Ю.Г. – ассистент кафедры онкологии.

ORCID: 0000-0001-5020-7374 E-mail: julenka.rus@yandex.ru

Моряттов А.А. – канд. мед. наук, доцент кафедры онкологии.

ORCID: 0000-0001-7414-5710 E-mail: a.a.moryatov@samsmu.ru

Козлов С.В. – д-р мед. наук, профессор кафедры онкологии.

ORCID: 0000-0001-8800-1670 E-mail: s.v.kozlov@samsmu.ru

Автор для переписки

Каганов Олег Игоревич

Адрес: Самарский государственный медицинский университет, ул. Чапаевская, 89, г. Самара, Россия, 443099.

E-mail: o.i.kaganov@samsmu.ru

ЗНО – злокачественные новообразования; ДНО – доброкачественные новообразования; МК – меланома кожи; РК – рак кожи, КР – комбинационное рассеяние; АФ – автофлуоресценция.

Рукопись получена: 07.06.2023

Рецензия получена: 10.07.2023

Решение о публикации принято: 11.07.2023

Raman spectroscopy in noninvasive optical diagnostics of skin neoplasms

© Oleg I. Kaganov, Yuliya G. Loginova, Aleksandr A. Moryatov, Sergei V. Kozlov

Samara State Medical University (Samara, Russia)

Abstract

Aim – to propose a schematic design of a new prototype having a potential for mass production and use in medical institutions for routine diagnostics of skin neoplasms.

Material and methods. The study included more than 600 patients with various skin neoplasms. We studied the samples of various skin neoplasms obtained after surgical treatment in the departments of the Samara Regional Clinical Oncology Center. For this purpose, we used the proposed original experimental device for Raman laser spectroscopy. The received signal was processed with a designed algorithm using artificial intelligence.

Results. The proposed diagnostic method reached the 89% sensitivity and 93% specificity proving to be effective. As a result, we have substantiated the technological possibility of creating a portable cost-saving spectroscopic technique with a neural network classifier. The device allows to perform preliminary diagnostics without the involvement of a specialist doctor and is devoid of subjective analysis criteria.

Keywords: skin melanoma, skin neoplasms early diagnosis, optical analysis methods, Raman spectroscopy.

Conflict of interest: nothing to disclose.

Citation

Kaganov OI, Loginova YuG, Moryatov AA, Kozlov SV. **Raman spectroscopy in noninvasive optical diagnostics of skin neoplasms.** *Science and Innovations in Medicine.* 2023;8(3):205-209. doi: 10.35693/2500-1388-2023-8-3-205-209

Information about authors

Oleg I. Kaganov – PhD, Associate professor, the Head of the Department of Oncology.

ORCID: 0000-0003-1765-6965 E-mail: o.i.kaganov@samsmu.ru

Yuliya G. Loginova – assistant of the Department of Oncology.

ORCID: 0000-0001-5020-7374 E-mail: julenka.rus@yandex.ru

Aleksandr A. Moryatov – PhD, Associate professor of the Department of Oncology.

ORCID: 0000-0001-7414-5710 E-mail: a.a.moryatov@samsmu.ru

Sergei V. Kozlov – PhD, Professor of the Department of Oncology.

ORCID: 0000-0001-8800-1670 E-mail: s.v.kozlov@samsmu.ru

Corresponding Author

Oleg I. Kaganov

Address: Samara State Medical University, 89 Chapayevskaya st., Samara, Russia, 443099.

E-mail: o.i.kaganov@samsmu.ru

Received: 07.06.2023

Revision Received: 10.07.2023

Accepted: 11.07.2023

■ АКТУАЛЬНОСТЬ

Рак считается ведущей причиной смерти и важным препятствием на пути увеличения продолжительности жизни во всех странах мира. Заболеваемость злокачественными новообразованиями (ЗНО) кожи значительно выросла в последние десятилетия, что, безусловно, связано с развитием специализированной техники и совершенствованием диагностики ЗНО. По оценкам ВОЗ, в 2020 году в мире было зарегистрировано 19,3 млн новых случаев рака и почти 10,0 млн смертей от ЗНО [1]. Это заболевание является важной причиной заболеваемости и смертности во всем мире. Половина всех случаев и 58,3% смертей от рака приходится на Азию, где проживает 59,5% населения мира. Самые высокие показатели заболеваемости и смертности относительно численности населения приходятся на Европу – 22,8% всех случаев ЗНО и 19,6% смертей от рака, при этом население составляет 9,7% от мирового. За ней следуют американский континент – 20,9% заболеваемости и 14,2% смертности во всем мире. В отличие от других регионов, доля смертей от рака в Азии (58,3%) и Африке (7,2%) выше, чем доля заболеваемости (49,3% и 5,7% соответственно) из-за различного распределения типов рака и более высокой заболеваемости и смертности в этих регионах [1].

Одной из самых опасных опухолей является меланома кожи (МК). Наибольшая заболеваемость регистрируется в странах Европы (46,4%), Северной Америки (32,4%), Австралии и Океании (5,9%), наименьшая – в странах Африки (2,1%). МК является причиной более 300 000 новых случаев и 57 000 смертей во всем мире в 2020 году [2].

В Российской Федерации ЗНО составляют 13,8% в структуре онкозаболеваемости. Из них на МК приходится 1,96%, а это более 4000 человек, что составляет 7,82 случая новых заболеваний на 100 тыс. населения. Для России характерна тенденция с высоким уровнем ежегодного прироста заболеваемости. Среднегодовой темп прироста составил 2,69%, а общий прирост заболеваемости – 31,62%. Разница заболеваемости по различным регионам колеблется от 14,59 (Нижегородская область) до 0,30 (Республика Тыва) на 100 тыс. населения [1]. За 2021 год максимальное число заболеваний МК приходится на возрастную группу 65–69 года (15,2%). Средний возраст умерших от МК – 67 лет у женщин и 64,5 у мужчин [3].

В Самарской области в 2021 году показатели заболеваемости ЗНО составили 460,91 на 100 тыс. (397,91 в России). На первом месте в структуре заболеваемости находится новообразование кожи (13,5%), включая МК, с показателем заболеваемости 8,97, что составляет 1,64% всей выявляемой онкопатологии [3]. Ежегодно меланомой заболевает почти 300 (282 за 2021 год) человек, при этом заболевание выявляется в 1-2 стадиях у 86,1% больных. Одногодичная летальность достигает 8,4% [4].

На рисунке 1 представлена заболеваемость и смертность от ЗНО кожи в Самарской области в период с 2011 по 2021 год. При этом женщины болеют чаще мужчин. В структуре заболеваемости преобладает рак кожи (РК), в структуре смертности преобладает МК. Также отмечается тенденция к снижению обоих показателей за последние 3 года. Основной возраст пациентов – старше 50 лет. Доля выявляемости МК на 1-2 стадиях выросла с 67,8% до 86,1%. Удельный вес запущенных случаев (3-4 стадии) уменьшился с 31,2% в 2011 году до 13,2% в 2021 году. Прогноз и исход заболевания зависят от многочисленных факторов, характеризующих как первичную опухоль, так и организм больного.

■ ЦЕЛЬ

Предложить принципиальную схему нового предсерийного прибора, который может стать массовым и использоваться в лечебных учреждениях любого профиля для активной диагностики новообразований кожи.

■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для диагностики новообразований кожи чаще в первую очередь используют клинические способы исследования новообразований. Однако МК – это уникальная опухоль, для которой характерно многообразие клинических проявлений, особенно сложно дифференцировать меланому с другими новообразованиями кожи в начальных стадиях заболевания. Классические клинические признаки знакомы всем врачам. При этом использование правила ABCDE не исключает множества субъективных оценок и не имеет достаточной специфичности.

Методом уточняющей диагностики, как правило, становится дерматоскопия, ее чувствительность и

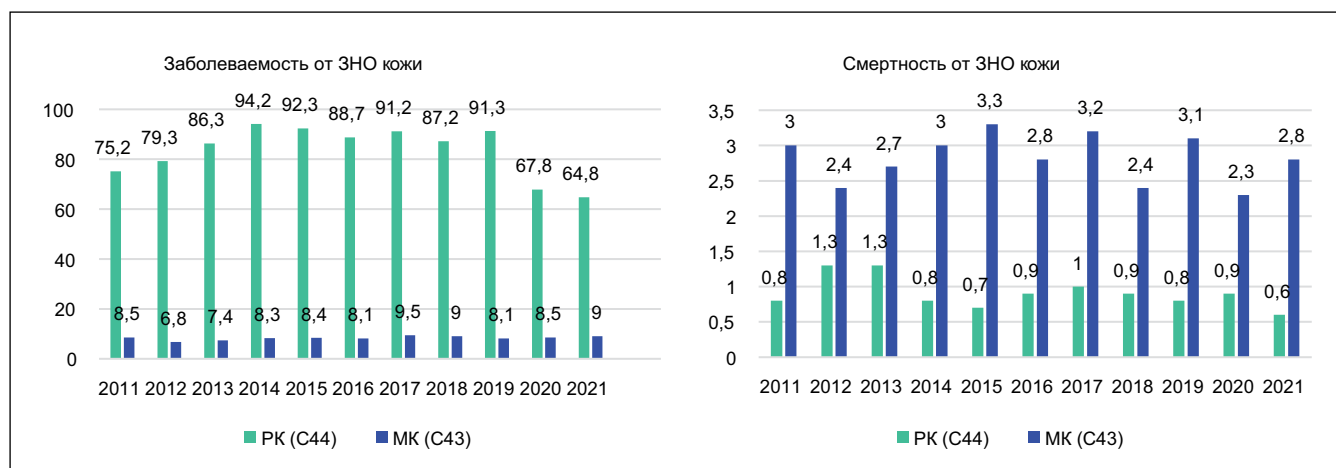


Рисунок 1. Заболеваемость и смертность в Самарской области от ЗНО кожи на 100 тыс. населения.

Figure 1. Morbidity and mortality in the Samara region from skin cancer per 100 thousand population.

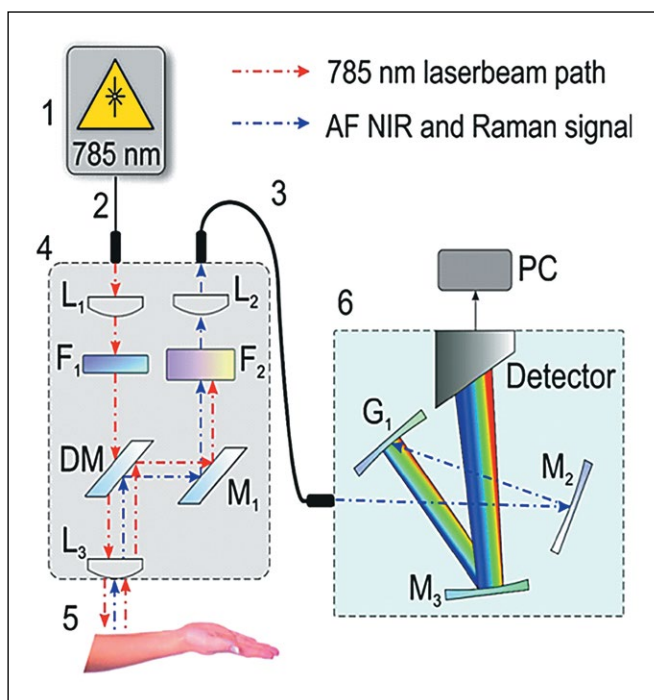


Рисунок 2. Портативная рамановская система для *in vivo* исследований кожи человека: 1 – лазерный модуль, 2 – рамановский зонд, 3 – спектрометр, 4 – ПК, 5 – волокно возбуждения, 6 – собирающее волокно.

Figure 2. Portable Raman system for *in vivo* human skin examination: 1 – laser module, 2 – Raman probe, 3 – spectrometer, 4 – PC, 5 – excitation fiber, 6 – collecting fiber.

специфичность достаточно высока. Однако этот метод требует наличия высококвалифицированных специалистов, имеющих навыки ранней диагностики [5], его эффективность напрямую зависит от опыта и специализации врачей и от частоты встречаемости таких новообразований в их повседневной практике. Существует целый ряд уточняющих методов диагностики, такие как ультразвуковое исследование, флуоресцентная диагностика, радиофосфорная индикация опухоли, радиотермометрия и другие. В частности, на клинической базе СОКОД нами изучались возможности флуоресцентной диагностики новообразований кожи, были получены высокие показатели чувствительности и специфичности [6]. Однако большинство из приведенных методов технологически сложны, они требуют применения расходных материалов и достаточно дороги в реализации, не могут применяться для исследований большого числа пациентов.

Однако самый сложный этап диагностики при подозрении на МК, особенно на ранней стадии заболевания, – это верификация, реализация которой сопряжена с риском диссеминации при инвазивном способе получения биопсийного материала. Таким образом, эффективная дифференциальная и уточняющая диагностика новообразований кожи с последующим обоснованным и правильным решением о лечении возможна только на базе крупных специализированных центров.

Анализ существующих эпидемиологических и диагностических результатов выявляет наличие таких проблем, как недостаточная эффективность активной диагностики и мониторинга новообразований кожи; трудности организации экспертной диагностики новообразований кожи;

сложности с верификацией диагноза на дооперационном этапе; необходимость уточняющей диагностики распространенности новообразования.

Указанные проблемы диктуют необходимость поиска способа повысить эффективность ранней диагностики новообразований кожи. На наш взгляд, для этого необходимо изучать возможности новых оптических методов анализа строения тканей человека.

В качестве основного способа нами был выбран способ рамановской спектроскопии. Спектроскопия комбинационного рассеяния (КР) представляет собой метод анализа отраженного сигнала с учетом не только химического состава, но и пространственного структурного расположения биологических молекул. В результате мы получаем спектр, характерный для различных видов доброкачественных новообразований (ДНО) и ЗНО нормальной ткани [6]. Данная методика разрабатывается на кафедре онкологии уже более 10 лет [7–9].

Результатом применения методики стало создание экспериментальной установки. Принципиальная схема приборов, которая реализует эти принципы, представлена на схеме (рисунок 2). Экспериментальная установка обладает высокими разрешающими способностями, являясь при этом абсолютно безопасной в применении [6].

В 2015–2018 гг. проведено исследование, в которое было включено более 600 человек. В качестве объектов исследований были использованы образцы различных новообразований кожи человека, полученные после хирургического лечения в отделениях Самарского областного клинического онкологического диспансера. Регистрацию спектра КР выполняли, располагая рабочую часть спектрометра непосредственно над исследуемой областью на расстоянии 3–4 мм, последовательно проводили регистрацию спектра с патологически измененного участка, далее с участка здоровой кожи. Время обследования одного случая составляло не более 3–5 минут [6].

Для сравнения и оценки природы новообразований пациенты были поделены на 4 группы: с ДНО – пигментными и беспигментными и ЗНО – с РК и МК (N=617).

■ РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенная серия экспериментальных испытаний позволила установить потенциально высокую чувствительность и специфичность методики, что послужило основой для создания способа неинвазивной дифференциальной диагностики новообразований кожи [10].

Взаимодействие света с биологической тканью представляет собой сложный процесс многократного рассеяния и поглощения фотонов в многослойной структуре кожи, в состав которой входит множество органических молекул, в том числе и флуорофоров. Основными поглотителями оптического излучения здоровой кожи являются гемоглобин, вода, липиды и меланин [11]. Структурные элементы клетки – мембраны, ядра, органеллы, меланиновые гранулы – являются основными объектами рассеяния тканей кожи. ЗНО изменяют структурный, химический компонентный состав тканей кожи, а также приводят к увеличению размера ядер клетки и ее показателя преломления [12]. Среднее значение диаметра нормального клеточного ядра составляет 10–12 мкм, а для опухолевых тканей – около 20–50

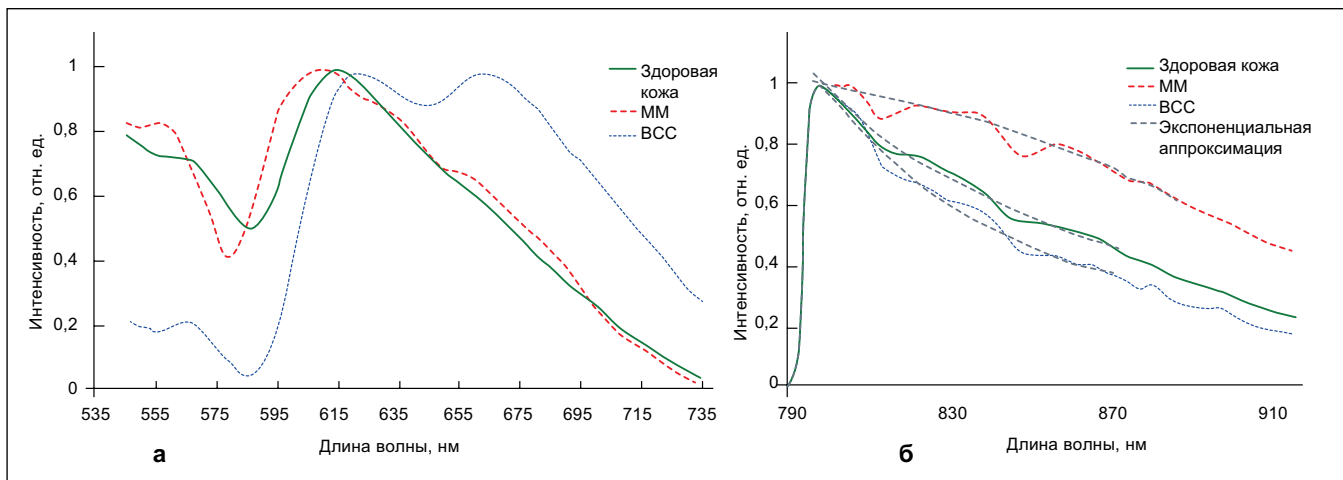


Рисунок 3. Нормализованные *ex vivo* спектры АФ нормальной ткани кожи, меланомы (ММ) и базальноклеточного рака (ВСС), стимулированные лазером 457 нм (а) и лазером 785 нм (б).

Figure 3. Normalized *ex vivo* autofluorescence spectra of normal skin tissue, melanoma (MM) and basal cell carcinoma (BCC) stimulated by a 457 nm laser (a) and a 785 nm laser (b).

мкм. Таким образом, измерение автофлуоресценции (АФ) может быть использовано для мониторинга химического состава биологических тканей и в качестве диагностического инструмента для идентификации неоплазии.

Были исследованы интенсивность и форма АФ, стимулированной лазерами 457 и 785 нм, чтобы выявить различия в составе и концентрациях хромофоров в злокачественных и нормальных тканях кожи [13]. Типичные нормализованные спектры флуоресценции от кожных тканей представлены на рисунке 3. Таким образом, положения и интенсивности максимумов в спектрах АФ могут предоставить информацию о химическом составе исследуемых образцов и изменениях патологических образований по сравнению со здоровой кожей. Локальный максимум спектров АФ, наблюдаемый при 555 нм, характеризуется наличием флавинов и липо пигментов в тканях кожи, а порфирины определяют форму спектров АФ в красной области спектров.

Существующие различия в интенсивностях КР пиков для нормальной кожи и различных видов новообразований кожи могут объясняться структурными нарушениями тканей при развитии ЗНО либо изменением концентрации отдельных биологических молекул в опухолевых клетках. Основные спектральные различия между здоровой кожей и ЗНО зарегистрированы как *in vivo*, так и *ex vivo* в полосах 1300 и 1750–1780 cm^{-1} . Наличие существенных различий в КР спектрах исследуемых образцов новообразований и здоровой кожи позволяет провести дифференциацию типов данных тканей с использованием КР-спектроскопии. Метод основывается на одновременном использовании данных автофлуоресцентного анализа и рамановской спектроскопии и позволяет проводить неинвазивную оптическую биопсию тканей кожи с точностью 0.92 (0.89 чувствительность, 0.93 специфичность).

■ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют о том, что системы комбинационного рассеяния света могут быть использованы при массовом скрининге для сокращения необходимого времени диагностики новообразований специалистами и врачами общей практики. Оценка типа новообразования может быть проведена при минимальной подготовке персонала к работе со спектроскопическими приборами, поскольку анализ спектроскопических данных выполняется автоматически на основе баз данных, суммирующих ранее измеренные оптические свойства тканей кожи. Быстрая и точная оценка типа новообразования с помощью метода оптической биопсии может значительно сэкономить время пациента и снизить ненужное беспокойство по поводу неопределенного диагноза.

Однако необходимы дальнейшие многоцентровые исследования для оптимизации применения систем комбинационной оптической биопсии в клинических условиях. Такие исследования должны основываться на применении идентичных систем комбинационного рассеяния света и включать анализ различных классов тканей в каждом участвующем медицинском центре для получения окончательной информации о точности оптической биопсии на основе комбинационного рассеяния света [14].

■ ВЫВОДЫ

1. Доказана технологическая возможность создания портативной недорогой спектроскопической техники, в том числе с применением нейросетевого классификатора. Предложенный прибор позволяет сформировать предварительный диагноз без привлечения врача-специалиста и лишен субъективных критериев анализа.

2. Предложена принципиальная схема нового прототипного прибора, который может пойти в серию, стать массовым и использоваться в лечебных учреждениях любого профиля для активной диагностики новообразований кожи.

Конфликт интересов: все авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021;71(3):209-249. doi: 10.3322/caac.21660
2. Worldwide Incidence for Melanoma of the Skin – Statistics from GLOBOCAN 2020.
3. *Malignant neoplasms in Russia in 2021 (morbidity and mortality)*. Ed. by Kaprin AD, Starinskii VV, Shahzadova AO. М., 2022. (In Russ.). [Злокачественные новообразования в России в 2021 году (заболеваемость и смертность). Под ред. А.Д. Каприна, В.В. Старинского, А.О. Шахзадовой. М., 2022]. ISBN 978-5-85502-280-3
4. Kaprin AD, Starinsky VV, Shakhzadova AO. *The state of oncological care for the population of Russia in 2021*. М., 2022. (In Russ.). [Каприн А.Д., Старинский В.В., Шахзадова А.О. *Состояние онкологической помощи населению России в 2021 году*. М., 2022]. ISBN 978-5-85502-275-9
5. *Melanoma of the skin and mucous membranes*. Clinical recommendations (In Russ.). [Меланома кожи и слизистых оболочек. Клинические рекомендации]. Available at: https://cr.minzdrav.gov.ru/schema/546_1
6. Kozlov SV, Zakharov VP, Moryatov AA, et al. Possibility backscattering spectrometry for diagnostics of skin neoplasms. *Izvestia of Samara Scientific Center of the Russian Academy of Sciences.* 2015;17(2-3):542-547. (In Russ.). [Козлов С.В., Захаров В.П., Моряттов А.А., и др. Возможности спектроскопии комбинационного рассеяния для дифференциальной диагностики новообразований кожи. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук.* 2015;17(2-3):542-547].
7. Pence I, Mahadevan-Jansen A. Clinical instrumentation and applications of Raman spectroscopy. *Chem Soc Rev.* 2016;45:1958-1979. doi: 10.1039/C5CS00581G
8. Bratchenko IA, Khristoforova YA, Bratchenko LA, et al. Optical biopsy of amelanotic melanoma with Raman and autofluorescence spectra stimulated by 785 nm laser excitation. *J Biomed Photonics Eng.* 2021;7(2):020308. doi: 10.18287/JBPE21.07.020308
9. Ali SM. In vivo confocal Raman spectroscopic imaging of the human skin extracellular matrix degradation due to accumulated intrinsic and extrinsic aging. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2021;37:140-152. doi: 10.1111/phpp.12623
10. Kozlov SV, Zakharov VP, Moryatov AA, et al. *Non-invasive differential diagnostic technique for skin growths*. Patent RU №2551978 C1 publ. 10.06.2015. (In Russ.). [Козлов С.В., Захаров В.П., Моряттов А.А., и др. *Способ неинвазивной дифференциальной диагностики новообразований кожи*. Патент №2551978 C1, опубл. 10.06.2015].
11. Zakharov VP, Bratchenko IA, et al. *Multimodal Optical Biopsy and Imaging of Skin Cancer*. In: *Neurophotonics and Biomedical Spectroscopy*. 2019:449-476. doi: 10.1016/B978-0-323-48067-3.00017-2
12. Baletic N, et al. Advantages and limitations of the autofluorescent diagnostics of the laryngeal cancer and precancerosis. *European archives of oto-rhino-laryngology.* 2010;267(6):925-931. doi: 10.1007/s00405-009-1150-1
13. Pozhar VE, Machikhin AS, Bratchenko IA, et al. *Application of AcoustoOptical Hyperspectral Imaging for Skin Cancer Diagnostics*. In: *Multimodal Optical Diagnostics of Cancer*. 2020:505-536. doi: 10.1007/978-3-030-44594-2_14
14. Bratchenko LA, Moryatov AA, Bratchenko IA. Raman-based optical biopsy shortens the clinical pathway of the patient: example of pigmented skin neoplasms diagnosis. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.* 2023;39(2):169-171. doi: 10.1111/phpp.12862