

# Разложение *in vivo* рамановских спектров кожи методом разрешения многомерных кривых

И.А. Матвеева  
Самарский национальный  
исследовательский университет им.  
академика С.П. Королева  
Самара, Россия  
m-irene-a@yandex.ru

О.О. Мякинин  
Самарский национальный  
исследовательский университет им.  
академика С.П. Королева  
Самара, Россия  
myakole@gmail.com

И.А. Братченко  
Самарский национальный  
исследовательский университет им.  
академика С.П. Королева  
Самара, Россия  
iabratchenko@gmail.com

**Аннотация**—В последние годы для исследования биологических тканей и жидкостей все чаще используется рамановская спектроскопия. Целью исследования является изучение возможностей метода разрешения многомерных кривых для анализа *in vivo* рамановских спектров кожи. Проведено разложение рамановских спектров здоровой кожи и кожи с кератозом, базальноклеточной карциномой, злокачественной меланомой и пигментным невусом. В результате разложения экспериментальных рамановских спектров получены рамановские спектры, соответствующие вкладу оптической системы и компонентов кожи: меланина, белков, липидов, воды и др. Результаты демонстрируют возможность выделения нескольких спектрально близких компонентов с помощью метода разрешения многомерных кривых даже из зашумленных экспериментальных рамановских спектров. Классификация рамановских спектров разных нозологий (злокачественные и доброкачественные новообразования, злокачественная меланома и пигментные новообразования) по вкладу их отдельных компонентов показывает точность классификации около 70%.

**Ключевые слова**— доброкачественное новообразование, злокачественное новообразование, классификация, метод разрешения многомерных кривых, рамановская спектроскопия.

## 1. ВВЕДЕНИЕ

При развитии заболевания в организме пациента происходят метаболические изменения, что приводит к изменению биохимического состава биологических тканей и жидкостей. В последние годы для исследования этих изменений все чаще используется спектроскопия рамановского рассеяния [1]. Однако входящие в состав биологической ткани вещества имеют перекрывающиеся рамановские полосы, и из анализируемого рамановского спектра кожной ткани трудно выделить отдельные компоненты. Кроме того, при большинстве используемых сейчас методов анализа рамановских спектров невозможна физическая интерпретация результатов. Целью данного исследования является изучение возможностей метода разрешения многомерных кривых (MCR) [2] для анализа рамановских спектров кожи, зарегистрированных *in vivo* с использованием портативной спектроскопической установки [3].

## 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использованы 1000 рамановских спектров: 540 спектров здоровой кожи, 113 кератоза (К), 122 базальноклеточного рака (БСР), 67 злокачественной меланомы (ММ) и 158 пигментного невуса (ПН).

Рамановские спектры кожи регистрировались *in vivo* с помощью портативной спектроскопической установки [3]. Спектры обрезаны в диапазоне от 860 до 920 нм, что соответствует  $1114-1874 \text{ см}^{-1}$  и подвергнуты предварительной обработке с удалением базовой линии и сглаживанием [4].

Для разложения рамановских спектров методом MCR использован протокол *Felten et al.* [5]. Основная идея метода MCR заключается в разложении матрицы рамановских спектров  $D$  на более мелкие матрицы  $C$  и  $S^T$ , где  $C$  представляет собой профили концентраций для каждого компонента кожи, а  $S^T$  представляет собой матрицу рамановских спектров компонентов. После того, как для матрицы  $C$  дана начальная оценка, она итеративно оптимизируется с использованием метода чередующихся наименьших квадратов (ALS) до тех пор, пока не будет достигнута сходимость.

## 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате разложения рамановских спектров кожи методом MCR выделены несколько компонентов, отражающих вклад оптической системы регистрации и некоторых групп веществ (см. Рис. 1).

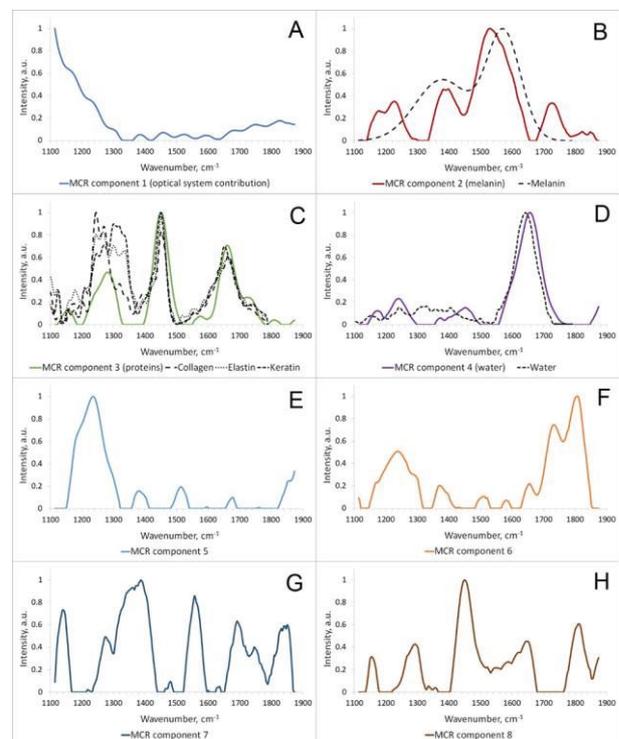


Рис. 1. Рамановские спектры компонентов кожи (сплошные линии – спектры, полученные в данном исследовании, штриховые линии – спектры, полученные в [19])

Компонент 1 (Рис. 1, А) соответствует вкладу оптической системы [6]. В спектре компонента 2 (Рис. 1, В) пики 1390 и 1520  $\text{cm}^{-1}$  соответствуют меланину [6, 7]. В спектре компонента 3 (Рис. 1, С) пик 1280  $\text{cm}^{-1}$  – это амид III, 1450  $\text{cm}^{-1}$  – вклад кератина, коллагена и эластина, а 1660  $\text{cm}^{-1}$  – вклад коллагена [7]. В спектре компонента 4 (Рис. 1, D) наиболее интенсивный пик 1650  $\text{cm}^{-1}$  соответствует вкладу воды [7]. Спектр компонента 5 (Рис. 1, E) может соответствовать вкладу липидов, а также натурального увлажняющего фактора [6, 7]. Кроме того, в спектрах компонентов 5 и 6 (Рис. 1, E, F) виден интенсивный пик при 1240  $\text{cm}^{-1}$ , соответствующий белкам. Спектр компонента 6 (Рис. 1, F) также может соответствовать вкладу липидов [7]. В спектре компонента 7 (Рис. 1, G) можно отметить пики натурального увлажняющего фактора, липидов, меланина и коллагена [6, 7]. В спектре компонента 8 (Рис. 1, H) видны интенсивные пики 1450 и 1650  $\text{cm}^{-1}$ , которые являются вкладом белков и воды, соответственно.

Далее для некоторых случаев классификации была применена логистическая регрессия (см. Рис. 2).

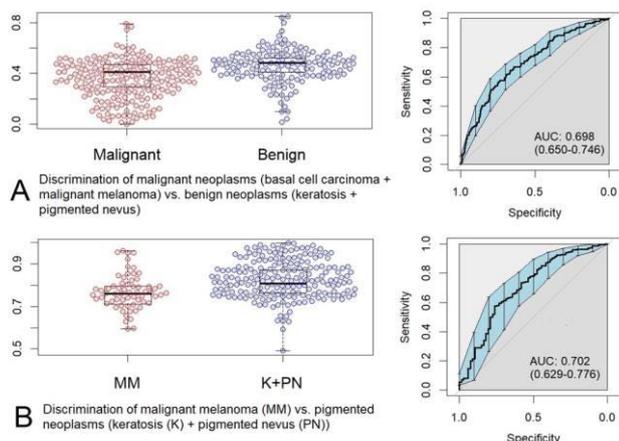


Рис. 2. Диаграммы размаха и ROC-кривые предсказанных значений, полученных в результате логистической регрессии: А – злокачественные новообразования (BCC + MM) и доброкачественные новообразования (K + PN), В – злокачественная меланома (MM) и пигментные новообразования (K + PN)

Как видно из Рис. 2, в случае классификации злокачественных (MM, BCC;  $n = 189$ ) и доброкачественных (K, PN;  $n = 271$ ) новообразований ROC AUC составляет 0,698 (0,650-0,746, 95% CI), а в случае классификации MM ( $n = 67$ ) и пигментных новообразований (K, PN;  $n = 271$ ) ROC AUC составляет 0,702 (0,629–0,776, 95% CI).

В [3] данные обрабатывались с использованием дискриминантного анализа методом частичных наименьших квадратов (PLS-DA), и AUC аналогичных моделей классификации составили 0,75 (0,71-0,79) и 0,61 (0,53-0,69) соответственно. В результате сравнения можно сделать вывод, что PLS-DA (применительно к рамановским спектрам [3]) и анализ методом MCR с последующей логистической регрессией дают примерно одинаковые результаты точности классификации.

#### 4. ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты показывают, что анализ рамановских спектров методом MCR позволяет получить новую информацию о биохимическом составе кожной ткани. Такая информация может быть использована в медицинской диагностике и скрининге населения, когда регистрация рамановских спектров производится с низким отношением сигнал/шум.

Помимо первоначальной задачи анализа рамановских с целью их классификации, также выявлена возможность использования метода MCR для выделения паразитного сигнала, связанного со вкладом оптической системы регистрации спектров.

Среди недостатков метода MCR можно выделить сложность разделения спектрально похожих веществ. Поэтому выделение спектров отдельных белков или липидов по-прежнему остается сложной задачей.

Тем не менее, несмотря на некоторые ограничения метода MCR, получен удовлетворительный результат классификации некоторых заболеваний. Дальнейшие исследования планируется посвятить дополнению используемой методики другими методами анализа рамановских спектров, например, с помощью нейронных сетей.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 21-75-10097.

#### ЛИТЕРАТУРА

- [1] Popp, J. Modern Raman spectroscopy for biomedical applications: A variety of Raman spectroscopic techniques on the threshold of biomedical applications / J. Popp, C. Krafft, T. Mayerhöfer // *Optik & Photonik*. – 2011. – Vol. 6(4). – P. 24-28.
- [2] De Juan, A. Multivariate Curve Resolution: 50 years addressing the mixture analysis problem—A review / A. de Juan, R. Tauler // *Analytica Chimica Acta*. – 2021. – Vol. 1145. – P. 59-78. DOI: 10.1016/j.aca.2020.10.051.
- [3] Bratchenko, I.A. In vivo diagnosis of skin cancer with a portable Raman spectroscopic device / I.A. Bratchenko, L.A. Bratchenko, A.A. Moryatov, Y.A. Khristoforova, D.N. Artemyev, O.O. Myakinin, A.E. Orlov, S.V. Kozlov, V.P. Zakharov // *Experimental Dermatology*. – 2021. – Vol. 30(5). – P. 652-663. DOI: 10.1111/exd.14301.
- [4] “TPT-cloud” chemometrics toolbox [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://tptcloud.com/#/> (07.12.2021).
- [5] Felten, J. Vibrational spectroscopic image analysis of biological material using multivariate curve resolution–alternating least squares (MCR-ALS) / J. Felten, H. Hall, J. Jaumot, R. Tauler, A. De Juan, A. Gorzsás // *Nature protocols*. – 2015. – Vol. 10(2). – P. 217-240. DOI: 10.1038/nprot.2015.008.
- [6] Yakimov, B.P. Blind source separation of molecular components of the human skin in vivo: non-negative matrix factorization of Raman microspectroscopy data / B.P. Yakimov, A.V. Venets, J. Schleusener, V.V. Fadeev, J. Lademann, E.A. Shirshin, M.E. Darwin // *Analyst*. – 2021. – Vol. 146(10). – P. 3185-3196. DOI: 10.1039/d0an02480e.
- [7] Feng, X. Raman active components of skin cancer / X. Feng, A.J. Moy, H.T. Nguyen, J. Zhang, M.C. Fox, K.R. Sebastian, J.S. Reichenberg, M.K. Markey, J.W. Tunnell // *Biomedical Optics Express*. – 2017. – Vol. 8(6). – P. 2835-2850. DOI: 10.1364/BOE.8.002835.