

# Обработка спектров комбинационного рассеяния света новообразований кожи методом лоренцевой аппроксимации: пилотные исследования<sup>1)</sup>

И. Н. Сараева<sup>+2)</sup>, Е. Н. Римская<sup>+</sup>, А. Б. Тимурзиева<sup>+\*</sup>, А. В. Горевой<sup>+</sup>, С. Н. Шелыгина<sup>+</sup>, В. И. Попадюк<sup>×</sup>,  
Е. В. Переведенцева<sup>+</sup>, С. И. Кудряшов<sup>+</sup>

<sup>+</sup> Физический институт им. П. Н. Лебедева РАН, 119991 Москва, Россия

<sup>\*</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение  
“Национальный научный исследовательский институт общественного здоровья имени Н. А. Семашко”,  
105064 Москва, Россия

<sup>×</sup> Российский университет дружбы народов им. П. Лулумбы, 117198 Москва, Россия

Поступила в редакцию 22 декабря 2023 г.

После переработки 7 марта 2024 г.

Принята к публикации 7 марта 2024 г.

Конфокальная микроспектроскопия комбинационного рассеяния света предоставляет возможность диагностики рака путем количественного анализа спектральных особенностей и выявления основных биохимических изменений. Была проведена дифференциация злокачественных новообразований кожи (базальноклеточной карциномы кожи, плоскоклеточной карциномы), доброкачественных новообразований кожи (папиллома) и здоровой кожи путем получения спектров комбинационного рассеяния света *in vitro* при возбуждении на длинах волн 532 и 785 нм. Нами представлен новый метод анализа параметров спектральных полос, основанный на расчете второй производной и лоренцевой аппроксимации спектров. В результате использования данного метода на малой выборке новообразований кожи было установлено, что процессы в опухолях кожи могут вызывать деформацию вторичной структуры белков, приводящую к деградации и смещению соответствующих полос ( $972\text{ см}^{-1}$ ,  $1655\text{ см}^{-1}$ ) в область низких частот. Полосы, соответствующие липидам, в новообразованиях кожи либо расширяются и увеличиваются, либо расщепляются на два пика (полосы  $1061$ ,  $1127$ ,  $1297$ ,  $1439$ ,  $1745\text{ см}^{-1}$ ). Нарушение структуры липидов, также обозначенное в нескольких полосах как сдвиг в сторону меньших волновых чисел, возможно, обусловлено повышенной текучестью клеточной мембраны в опухолях. Результаты исследования могут быть полезны для разработки методов оптической биопсии для ранней диагностики опухолей.

DOI: 10.31857/S1234567824070139, EDN: BAPYKS

**1. Введение.** Дифференциация доброкачественных и злокачественных новообразований кожи изучается уже несколько лет как *in vitro*, так и *in vivo* [1–7]. Рак вызывает изменения в структуре клеток ткани, которые можно обнаружить с помощью микроспектроскопии. Наиболее часто используемые методы пост-анализа спектров включают стандартный анализ главных компонент (PCA) [8, 9], анализ разрешения многомерных кривых (MCR) [3, 5], дискриминантный анализ частичных наименьших квадратов (PLS/DA) [8–13] и другие, позволяющие выявлять базальноклеточную карциному (БКК) и плоскоклеточную карциному (ПКК). Процессы в опухолях приводят к увеличению ядерно-

цитоплазматического отношения (отношения площади ядра и цитоплазмы), нарушению структуры хроматина, изменению содержания липидов и белков [14]. С помощью конфокальной микроспектроскопии КР авторы одной из работ [15] продемонстрировали, что вклад нуклеиновых кислот, гистонов и белков в КР спектры ядер опухолевых клеток отличается от такового в нормальных эпидермальных клетках. Установлено, что дерма вблизи границ опухоли испытывает дефицит коллагена и имеет признаки структурных изменений.

В данной работе мы предлагаем использовать метод дифференцирования, основанный на анализе второй производной спектров КР, полученных при возбуждении на длинах волн 532 и 785 нм [9, 16, 17]. Поиск скрытых пиков методом расчета второй производной широко применяется при анализе спектров инфракрасного (ИК)-Фурье пропуска-

<sup>1)</sup>См. дополнительный материал к данной статье на сайте нашего журнала [www.jetpletters.ac.ru](http://www.jetpletters.ac.ru)

<sup>2)</sup>e-mail: [saraevain@lebedev.ru](mailto:saraevain@lebedev.ru)

ния/отражения, например, для изучения процессов, протекающих при воздействии тех или иных антибактериальных агентов [18, 19]. Тем не менее, в спектроскопии комбинационного рассеяния он применяется реже [20–26], а именно, для анализа новообразований кожи – впервые в нашей статье.

Анализ второй производной спектров КР позволяет обнаружить различия в параметрах спектральных полос, таких как волновое число, ширина полосы на уровне 0.5 от максимума (FWHM) и площадь, которые содержат важную информацию о конформационном порядке/беспорядке соответствующей молекулярной связи и помогают понять принципиальные изменения, возникающие при формировании опухоли. Так, уширение амидных полос часто связывают с возникающим нарушением вторичной структуры белков, которое может быть вызвано повреждением или мутацией клеток. Подобного рода анализ спектральных полос эффективнее всего проводить с помощью лоренцевой аппроксимации спектров, где разница между контролем (здоровая кожа) и патологией более отчетливо видна на спектрах второй производной.

В данной работе мы приводим сравнительный анализ БКК, ПКК, папилломы и здоровой кожи путем расчета спектров вторых производных и определения параметров пика (спектрального положения, полосы пропускания, площади под кривой).

**2. Техника и методика эксперимента.** Образцы здоровой кожи и опухолей были получены путем хирургического удаления. Предварительный диагноз ставил врач дерматолог-онколог, а точный диагноз после удаления новообразования был получен с помощью гистологических исследований (“золотой стандарт” диагностики). Каждую опухоль вместе с интактной тканью помещали в физраствор. Спектры КР были зарегистрированы для семи образцов БКК, пяти ПКК, трех папиллом и пяти образцов здоровой кожи, от 10 до 20 спектров в разных точках каждого образца. Всего был исследован 21 образец новообразований кожи пациентов обоих полов, в возрасте от 37 до 73 лет. Образцы соответствовали диагностированным случаям папилломы, карциномы, рака кожи и здоровой кожи. Все образцы хранились в одинаковых условиях (NaCl раствор 0.9 %). Более подробные сведения приведены в табл. S1 дополнительных материалов.

Спектры КР были получены с помощью спектрометра Renishaw inVia Basis (inVia InSpect, Renishaw, Лондон, Великобритания) при возбуждении на длине волны 785 нм, энергии до 45 мВт, времени сбора данных 10 с с использованием 50-кратного объекти-

ва (NPlan 50/0.50 Leica, Wetzlar, Германия), а также спектрометра Confotec MR520 (SOL Instruments, Минск, Беларусь) при длине волны лазера 532 нм, мощности лазера 15 мВт, времени накопления 2 с, с использованием 40-кратного объектива (MPlanFL, Nikon, Токио, Япония) с числовой апертурой 0.75 и рабочим расстоянием 0.66 мм.

Фоновый сигнал флуоресценции удаляли из зарегистрированных спектров с помощью алгоритма Ванкувера, который представляет собой улучшенный мультиполимодалый метод удаления базовой линии, оптимизированный для флуоресценции биомедицинских образцов (использовался полином 5 степени) [27]. Полученные спектры были сглажены и нормированы на наиболее интенсивные полосы КР в диапазоне 1200–1800 см<sup>-1</sup> [16].

Усредненные обработанные спектры для каждого образца аппроксимировались с помощью Лоренцева приближения с использованием программного обеспечения OriginPro (OriginPro 2019b 9.6.5.169) согласно отработанной методике [18, 19]. Процедура аппроксимации заключается в приближении формы пиков в обработанных спектрах КР к форме Лоренцева контура:

$$y = y_0 + \frac{2A}{\pi} \frac{w}{4(x - x_c)^2 + w^2}, \quad (1)$$

где  $H = 2 \cdot A / (\pi \cdot w)$  – высота пика;  $A$  – площадь под кривой;  $w$  – ширина полосы (FWHM);  $x_c$  – положение максимума (центральная частота в см<sup>-1</sup>);  $y_c$  и  $y_0$  – максимальный и фоновый сигнал соответственно (рис. 1).

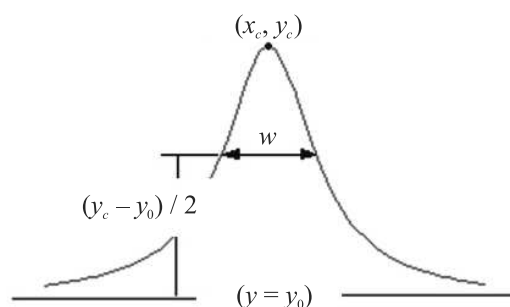


Рис. 1. (Цветной онлайн) Схематичное изображение Лоренцева контура, согласно которому осуществляется аппроксимация спектров КР

Обнаружение полос КР (скрытых пиков) осуществлялось путем определения локальных максимумов второй производной со сглаживанием Савицкого–Голея. Найденные значения (положения максимумов второй производной  $x_c$ ) фиксировались, после чего все пики аппроксимировались

Лоренцевым приближением (1), в результате чего были получены значения ширины полосы  $w$  и площади под кривой  $A$ . Разброс данных значений (стандартное отклонение) оценивался программой в соответствии с оценкой уровня шума и величиной остаточной ошибки.

### 3. Результаты и обсуждение.

**3.1. Вторые производные спектров КР.** Усредненные спектры КР для здоровой кожи, БКК, ПКК и папилломы, полученные при возбуждении на длинах волн 532 и 785 нм (далее обозначены в тексте как  $\lambda_{532}$  и  $\lambda_{785}$ ), и их вторые производные представлены на рис. 2.

Параметры спектральных полос были получены методом Лоренцева приближения, описанным в разделе 2. Данные значения отображены в табл. S2, S3, где каждая ячейка включает до трех строк, соответствующих положению максимума, ширине полосы (FWHM) и площади под кривыми со стандартными ошибками (табл. S2, расшифровка спектральных полос дана по данным [9, 28–35]; табл. S1, доступны в дополнительных материалах).

**3.1.1. ДНК/РНК.** Полоса  $1085\text{ см}^{-1}$ , отнесенная к валентным колебаниям  $\text{PO}_2$  в нуклеиновых кислотах [28, 34, 35], смещается в сторону более высоких волновых чисел в спектрах БКК и папилломы при  $\lambda_{785}$ , и для всех опухолей – к более низким волновым числам при  $\lambda_{532}$  (см. рис. 2 и табл. S2). При  $\lambda_{532}$  площадь под кривой существенно уменьшается в спектрах ПКК, а ширина полосы увеличивается в спектрах новообразований, уменьшаясь для всех опухолей при  $\lambda_{785}$ . О падении интенсивности и сдвиге в сторону меньших волновых чисел сообщалось ранее [36], и подобное отклонение может быть вызвано одно- и двухцепочечным разрывом ДНК [37]. Другая полоса, связанная с  $\text{PO}_2$ , появляется во всех злокачественных опухолях на обеих длинах волн возбуждения в области  $\sim 1100\text{--}1104\text{ см}^{-1}$  [38]. Возможно, эта полоса является результатом избыточной репликации ДНК при росте новообразований [31]. Полоса  $1175\text{ см}^{-1}$ , связанная с цитозином (C) и гуанином (G) [39], смещается в сторону больших волновых чисел для БКК и папилломы и наоборот – для ПКК (рис. 2 и табл. S3). Для  $\lambda_{785}$  она сдвигается к более высоким волновым числам во всех спектрах опухолей.

Площадь для полосы ДНК/РНК с центром  $1344\text{ см}^{-1}$  [40] увеличивается в спектрах ПКК и папилломы на обеих длинах волн возбуждения (рис. 2 и табл. S2). Уширение полос на  $\lambda_{785}$  может быть результатом разрушения нуклеиновых кислот [28, 31, 37]. В спектрах папилломы площадь полос значительно увеличивается, что можно объяснить

более интенсивной репликацией ДНК при злокачественных новообразованиях [28, 37].

Кольцевые симметричные (breathing) моды в аденине (A), G отображаются в спектрах в виде полосы на  $1490\text{ см}^{-1}$  [41–43]. Эта полоса обнаружена только в спектрах ПКК и папилломы при  $\lambda_{532}$  и во всех образцах, кроме папилломы при  $\lambda_{785}$  (рис. 1, табл. S2).

**3.1.2. Повреждение мембраны.** Полоса с центром  $1031\text{ см}^{-1}$ , соответствующая молекулярным колебаниям фосфолипидов, сужается для ПКК и расширяется для папилломы на обеих длинах волн возбуждения; ее интенсивность возрастает в спектрах папиллом при  $\lambda_{532}$  (рис. 2 и табл. S2) и в спектрах ПКК при  $\lambda_{785}$ . Валентные колебания C-C-цепи липидов клеточной стенки приводят к появлению пика при  $1063\text{ см}^{-1}$  [28, 44], который расширяется в спектрах БКК, и его площадь увеличивается. Пик отсутствует в ПКК и папилломе. При  $\lambda_{785}$  пик увеличивается, и его площадь растет во всех спектрах опухолей. Полоса  $1127\text{ см}^{-1}$ , которую можно отнести к липидам, в спектрах новообразований сужается при  $\lambda_{532}$ , хотя соответствующая ей площадь увеличивается. При  $\lambda_{785}$  не наблюдается сильного изменения ширины полосы или площади.

**3.1.3. Липиды.** Полоса  $1301\text{ см}^{-1}$ , связанная с колебаниями  $\text{CH}_2$  в насыщенных липидах, чувствительна к нарушению конформационной упорядоченности в клетках [28–30, 45]. Ее положение смещается в сторону более высоких частот в спектрах ПКК и папилломы при  $\lambda_{532}$  и в спектрах всех образцов опухолей – при  $\lambda_{785}$  (рис. 2, табл. S2). Пик уширяется в БКК и ПКК, его площадь увеличивается на обеих длинах волн возбуждения. Сдвиг в сторону более высоких волновых чисел свидетельствует о деформации молекулярной структуры липидов (более высоким содержанием gauche-конформеров) [28, 39, 45]. Полоса с центром  $1398\text{ см}^{-1}$ , обусловленная колебаниями  $\text{CH}_3$ , в спектрах новообразований кожи смещается в сторону меньших волновых чисел (рис. 2, табл. S2), а ее интенсивность существенно возрастает в спектрах ПКК и папилломы (рис. 2а, б) на  $\lambda_{532}$ , в то время как на  $\lambda_{785}$  данный пик обнаруживается только для ПКК и папилломы (рис. 2с, д). Колебания  $\text{CH}_2$  соответствуют пику на  $1438\text{ см}^{-1}$  [46], который уширяется в опухолях на обеих длинах волн возбуждения. Его площадь уменьшается для БКК и ПКК и увеличивается для папилломы на  $\lambda_{532}$ , увеличивается в БКК и остается неизменной в ПКК и папилломе на  $\lambda_{785}$ . Об аналогичном уменьшении площади под кривой сообщалось ранее [36]. Пик демонстрирует значительный сдвиг в сторону более высоких волновых чисел в спектрах новообразований для обе-

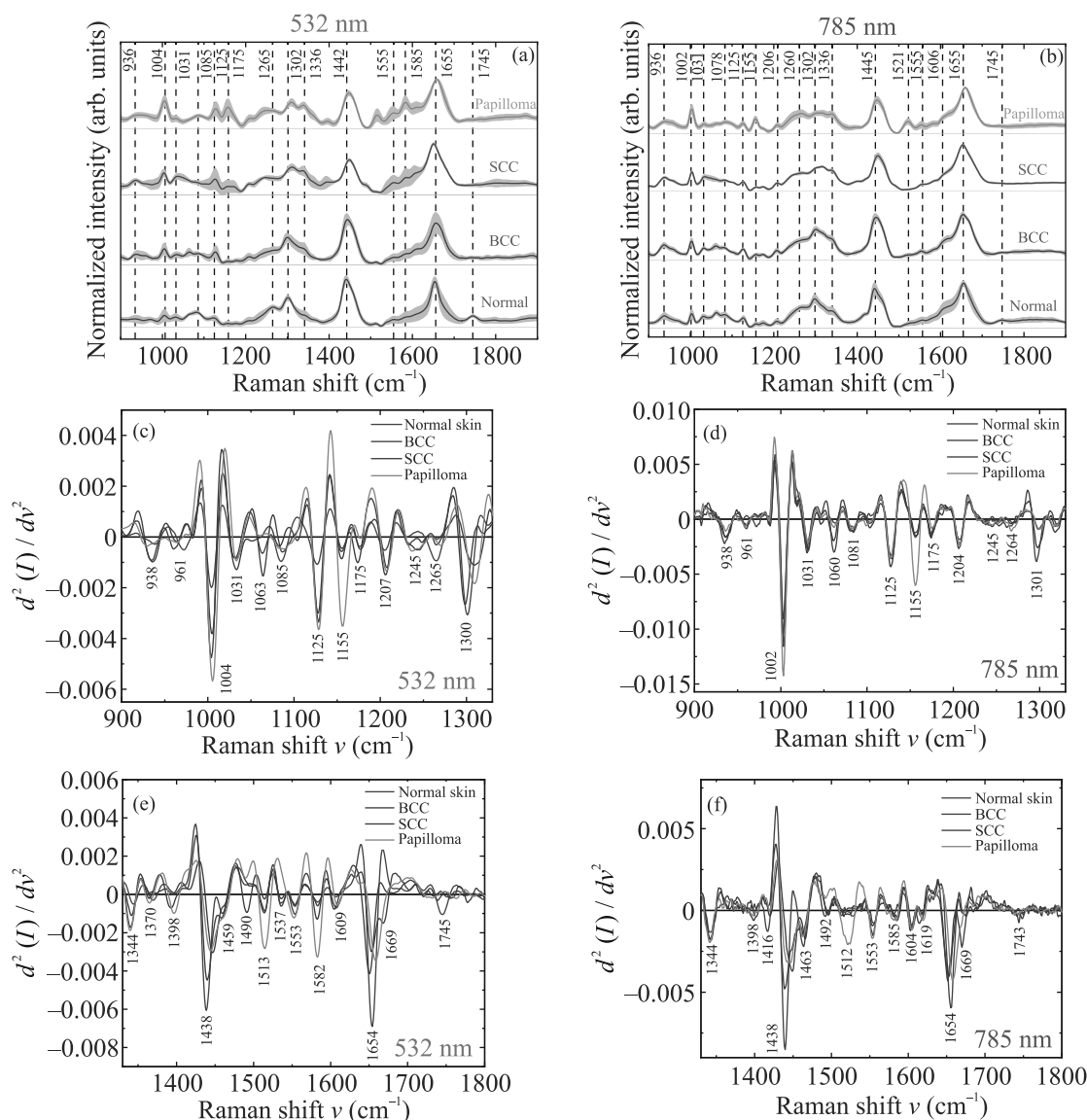


Рис. 2. (Цветной онлайн) Усредненные спектры КР здоровой кожи (normal skin, зеленая линия) и новообразований (базальноклеточная карцинома (БСК), синяя линия; плоскоклеточная карцинома (СКК), фиолетовая линия; папиллома (papilloma) оранжевая линия), полученные при двух длинах волн возбуждения: 532 нм (а) и 785 нм (б). Серой полутенью обозначено среднее квадратичное отклонение. Соответствующие спектры второй производной, полученные при двух длинах волн возбуждения: 532 нм (с), (е) и 785 нм (д), (ф), представлены в двух областях: (с), (д) от 900 до 1330 см<sup>-1</sup> и (е), (ф) от 1330 до 1800 см<sup>-1</sup>

их длин волн возбуждения, причем изменение более выражено для плоскоклеточного рака и папилломы, что можно объяснить более явным нарушением молекулярной структуры липидов.

Другая полоса, с центром 1416 см<sup>-1</sup>, соответствует колебаниям в керамиде III (рис. 2, табл. S2). Керамиды также присутствуют в клеточной мембране, поэтому наблюдаемый сдвиг полосы в сторону более высоких волновых чисел для всех новообразований кожи на обеих длинах волн возбуждения может

быть обусловлен нарушением молекулярной структуры липидов в злокачественных новообразованиях кожи [28, 31]. Его интенсивность возрастает в БСК и ПКК при  $\lambda_{532}$  и уменьшается для всех опухолей при  $\lambda_{785}$  согласно спектрам второй производной (рис. 2).

Полоса 1459 см<sup>-1</sup> относится как к белкам, так и к липидам [28, 31], причем соответствующая ей площадь уменьшается в ПКК и папилломе (в большей степени в ПКК), и увеличивается в БСК для обеих длин волн возбуждения (рис. 2, табл. S2).

Интересно, что изначально одиночная полоса с центром  $1744\text{ см}^{-1}$  в спектрах здоровой кожи, отнесенная к эфирным колебаниям в липидах [47], в спектрах опухолей разделилась на две слабые полосы при  $\lambda_{532}$  (рис. 2, табл. S2). Такой тенденции не наблюдалось для  $\lambda_{785}$ , где пик на  $1745\text{ см}^{-1}$  смещался в сторону более высоких волновых чисел в спектрах ПКК и более низких – в спектрах папиллом, уширяясь во всех образцах опухолей. Причиной этого может быть высокий уровень шума, из-за которого изменения становятся незаметными.

**3.1.4. Белки.** Линия  $937\text{ см}^{-1}$  относится к коллагену [29, 39, 46], и в спектрах новообразований она демонстрирует уширение и увеличение площади при  $\lambda_{532}$ , сужение и уменьшение площади – при  $\lambda_{785}$  (рис. 2, табл. S2). Полоса  $971\text{ см}^{-1}$ , также соответствующая белкам [39], в опухолях расщепляется на две полосы, практически исчезая в папилломах при  $\lambda_{532}$ . В спектрах злокачественных новообразований обнаруживается только одна из полос при  $\lambda_{785}$ . Пики, расположенные на  $961\text{ см}^{-1}$  и  $983\text{ см}^{-1}$ , иллюстрируют молекулярные колебания  $\alpha$ -спиралей и  $\beta$ -листов в белках, соответственно. Подобное расщепление может быть вызвано возможными изменениями кератиноцитов, имеющих атипичные ядра (увеличенные, неравномерные, гиперхромные) в ПКК [48]. Вторичная структура гистонов состоит в основном из  $\alpha$ -спиралей, тогда как в фибрине преимущественно существуют  $\beta$ -листы, что позволяет предположить, что наблюдаемое увеличение интенсивности полосы  $983\text{ см}^{-1}$  вызвано фибрином, окружающим раковые клетки и образующим структуру, защищающую опухоли от клеток иммунной системы, который был обнаружен внутри и вокруг различных типов опухолей в ряде работ [49–52].

Полоса  $1004\text{ см}^{-1}$  соответствует колебаниям фенилаланина (Phe) [28, 34], и в спектрах опухолей она сужается при  $\lambda_{532}$  и расширяется при  $\lambda_{785}$  (рис. 2, табл. S2). Предположительно Phe также представлен полосами на  $1582\text{ см}^{-1}$  и  $1605\text{ см}^{-1}$  [53]. Ширина и площадь полосы на  $1582\text{ см}^{-1}$  существенно увеличиваются в спектрах ПКК и папиллом (рис. 2, табл. S2), но уменьшаются в БКК при  $\lambda_{532}$ , и наоборот – при  $\lambda_{785}$ . Полоса с центром  $1605\text{ см}^{-1}$  [54] существенно сужается в ПКК и папилломе при  $\lambda_{532}$ , но уширяется при  $\lambda_{785}$ . Соответствующая ей площадь уменьшается в спектрах ПКК при  $\lambda_{532}$  и остается неизменной при  $\lambda_{785}$ ; однако следует учитывать также вклад тирозина и цитозина в интенсивность данной полосы. О значительном увеличении площади для полосы  $1605\text{ см}^{-1}$  в новообразованиях сообщалось ранее [55]. Площадь пика в БКК и папилломе увеличивается

для обеих длин волн возбуждения (рис. 2, табл. S2). Полоса  $1609\text{--}1615\text{ см}^{-1}$  связана с тирозином; в ПКК она смещается в сторону меньших волновых чисел при  $\lambda_{532}$ , а во всех новообразованиях – наоборот при  $\lambda_{785}$ . Она становится более выраженной в опухолях на всех длинах волн возбуждения, что может указывать на ее сужение. Согласно спектрам второй производной, ее интенсивность увеличивается в новообразованиях кожи при  $\lambda_{532}$ , но площадь уменьшается при  $\lambda_{785}$ . Линия  $1204\text{ см}^{-1}$ , связанная с белками, в спектрах опухолей смещается в сторону более высоких волновых чисел при  $\lambda_{532}$ ; соответствующая ей площадь увеличивается для обеих длин волн возбуждения (рис. 2).

Полоса  $1537\text{ см}^{-1}$  относится к амиду II [56]. Ее интенсивность для  $\lambda_{532}$  несколько снижается в спектрах ПКК, и она полностью отсутствует в папилломе (рис. 2); при  $\lambda_{785}$  полоса не обнаруживается.

Линия амида III ( $\beta$ -листы) в здоровой коже расположена с центром  $1264\text{ см}^{-1}$ . Согласно литературным данным, его разупорядоченное состояние дает еще одну полосу  $\sim 1245\text{ см}^{-1}$  [10, 28], и данную тенденцию мы наблюдали на спектрах всех образцов опухолей (рис. 2, табл. S2). Полоса  $1264\text{ см}^{-1}$  в спектрах злокачественных новообразований имеет меньшую площадь и ширину (табл. S2). Сдвиг пика в сторону более высоких волновых чисел наблюдался ранее [57] и вызван возникающим нарушением вторичной структуры белков. Еще один пик  $1252\text{ см}^{-1}$  появляется в спектрах БКК для обеих длин волн возбуждения, тогда как в папилломе данный пик виден только при  $\lambda_{785}$ . Возможно, данный пик также отображает вклад неупорядоченного состояния вторичной структуры белков. Полоса  $1264\text{ см}^{-1}$  ранее наблюдалась только в здоровых клетках и отсутствовала в клетках злокачественных новообразований [55]. В нашей работе выраженный пик на  $1264\text{ см}^{-1}$  становится слабее в БКК, ПКК и папилломе, а пик на  $1245\text{ см}^{-1}$  становится более интенсивным. Подобная вариация вторичной структуры белков указывает на изменения структуры кожи при возникновении патологии – например, повышенное содержание фибрина [55, 57].

Полоса амида I с центром  $1654\text{ см}^{-1}$  смещается в сторону меньших волновых чисел в БКК и ПКК и более высоких – в папилломах; ее ширина в опухолях увеличивается для обеих длин волн возбуждения. Подобная тенденция ранее отмечалась в ряде работ [28, 36]. Площадь пика уменьшается в БКК и увеличивается в ПКК и папилломе. Об уменьшении интенсивности полос в БКК ранее сообщалось в работах [58]. Данные изменения можно объяснить тем,

что в норме вторичная структура гистонов представляет собой преимущественно  $\alpha$ -спирали, и их содержание в раковых клетках снижено, или нарушена структура нуклеиновых кислот [55]. Другая полоса амида I,  $1690\text{ см}^{-1}$ , видна только при  $\lambda_{785}$  и в ПКК и папилломе наблюдается увеличение ее ширины и площади.

Колебания C=C, N-H и C-N амида II соответствуют линии  $1553\text{ см}^{-1}$  [59], ширина и площадь которого увеличивается в ПКК и папилломе на  $\lambda_{532}$  (рис. 2, табл. S2). На  $\lambda_{785}$  полоса сужается в спектрах ПКК и папилломы. Данный пик также приписывают триптофану, и авторы в одной из работ [60] наблюдали его увеличение в БКК и ПКК.

Полоса  $1513\text{ см}^{-1}$  была отнесена к каротиноидам [32, 33]. Ее интенсивность увеличивается в спектрах папиллом и снижается в ПКК, оставаясь неизменной в БКК. Несмотря на то, что в одной из работ содержание каротиноидов в БКК было выше, чем в нормальной коже [39], в нашей работе подобной тенденции не наблюдалось. Кроме того, содержание каротиноидов может зависеть от индивидуальных особенностей пациентов, а также от их образа жизни (курение, хроническая усталость, заболевания и т.д.) [42].

Формирование БКК часто связано с изменением формы ядра до овальной или удлинённой с конденсированным хроматином [58, 61]. Уплотнение структуры хроматина, состоящего из ДНК и белков, приводит к сужению полос КР, связанных с ДНК и белками. Согласно спектрам второй производной, сужение наблюдается в полосах  $1030$ ,  $1615$  и  $1655\text{ см}^{-1}$ , соответствующих белкам и ДНК (справедливо для обеих использованных длин волн возбуждения).

В спектрах БКК и ПКК мутации белка p53 в основном относятся к типу C  $\rightarrow$  T и CC  $\rightarrow$  TT, и являются мутациями, спровоцированными ультрафиолетовым (УФ) излучением [62]. Подобный переход может приводить к снижению концентрации C. Площадь полосы  $1260\text{ см}^{-1}$ , которая отражает вклад C, уменьшается в спектрах всех опухолей: БКК, ПКК и папилломы. Полосы КР, отнесенные к T, согласно данным литературы [63] расположены на  $936\text{ см}^{-1}$  (увеличивается в БКК, ПКК);  $1063\text{ см}^{-1}$  (увеличивается в БКК и ПКК);  $1104\text{ см}^{-1}$ ,  $1174\text{ см}^{-1}$ ,  $1489\text{ см}^{-1}$ ,  $1550\text{ см}^{-1}$  (увеличивается в ПКК);  $1232\text{--}1239\text{ см}^{-1}$ ,  $1340\text{ см}^{-1}$  (увеличивается во всех опухолях).

**4. Заключение.** В данной работе была проведена дифференциация новообразований кожи (базальноклеточный рак, плоскоклеточный рак, папиллома) и здоровой кожи путем анализа параметров спектральных полос комбинационного рассеяния света на основе второй производной и лоренцевой приближе-

ния спектров. Установлено, что опухоли кожи могут спровоцировать деформацию вторичной структуры белков, в результате чего полоса на  $972\text{ см}^{-1}$  либо расщепляется на два пика, либо смещается в сторону меньших волновых чисел. Другая полоса, относящаяся к  $\alpha$ -спиралям в белках ( $1655\text{ см}^{-1}$ ), демонстрирует увеличение ширины и площади в ПКК и папилломе и уменьшение – в БКК. Кроме того, в опухолях появляется полоса, соответствующая неупорядоченному состоянию амида III. Подобные изменения содержания  $\alpha$ -спиралей можно объяснить нарушением их молекулярной структуры в опухолях. В то же время в опухолях полосы, отражающие содержание липидов ( $1061$ ,  $1127$ ,  $1297$ ,  $1439$ ,  $1745\text{ см}^{-1}$ ), демонстрируют уширение и/или увеличение площади. Другой особенностью, связанной с липидами, является расщепление полосы на  $1744\text{ см}^{-1}$  на два пика при возбуждении на длине волны  $532\text{ нм}$  и ее значительное уширение при  $785\text{ нм}$ . Нарушение структуры липидов, также обозначенное в нескольких полосах как “красный” сдвиг волновых чисел, наряду с увеличением их содержания, возможно, связано с повышенной текучестью клеточной мембраны.

Исследование спектров папиллом носит предварительный характер и может быть не вполне объективным из-за малого размера выборки. Основной целью работы являлась апробация метода анализа спектров КР с помощью Лоренцева приближения. Результаты применения данного метода для анализа спектров новообразований кожи показали его перспективность для выявления характерных биомаркеров злокачественных новообразований и происходящих изменений в структуре клеток, что может быть основой для дифференциации в ранней диагностике.

**5. Финансирование работы.** Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда, грант # 23-25-00249.

**6. Соблюдение этических стандартов.** Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией и одобрено Межвузовским этическим комитетом Московского государственного медико-стоматологического университета 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.

**7. Конфликт интересов.** Конфликт интересов отсутствует.

- 
1. V. V. Tuchin, *Handbook of Optical Biomedical Diagnostics*, 2nd ed., SPIE Press, Bellingham, WA, USA (2016), p. 1410.

2. V. Tuchin, J. Popp, and V. Zakharov, *Multimodal Optical Diagnostics of Cancer*, 1st ed., Springer, Cham, Switzerland (2020), p. 597; <https://doi.org/10.1007/978-3-030-44594-2>.
3. В. П. Захаров, К. В. Ларин, С. В. Козлов, А. А. Моряттов, И. А. Братченко, О. О. Мякинин, Д. Н. Артемьев, Ю. А. Христофорова, *Физика волновых процессов и радиотехнические системы* **16**(3), 73 (2013).
4. С. В. Козлов, В. Захаров, А. А. Моряттов, И. А. Братченко, Д. Н. Артемьев, *Известия Самарского научного центра Российской академии наук* **17**(2–3), 542 (2015).
5. I. A. Bratchenko, D. N. Artemyev, O. O. Myakinin, Y. A. Khristoforova, A. A. Moryatov, S. V. Kozlov, and V. P. Zakharov, *J. Biomed. Opt.* **22**(2), 027005 (2017).
6. I. A. Bratchenko, L. A. Bratchenko, A. A. Moryatov, Y. A. Khristoforova, D. N. Artemyev, O. O. Myakinin, A. E. Orlov, S. V. Kozlov, and V. P. Zakharov, *Experimental Dermatology* **30**(5), 652 (2021).
7. A. N. Bashkatov, V. P. Zakharov, A. B. Bucharskaya, E. G. Borisova, Y. A. Khristoforova, E. A. Genina, V. V. Tuchin, *Optical Diagnostics of Cancer* **3**, 106 (2020).
8. R. Haydock, *Multivariate Analysis of Raman Spectroscopy Data. Ph. D. Thesis*, University of Nottingham, Nottingham, UK, December (2015).
9. A. Synytsya, M. Judexova, D. Hoskovec, M. Miskovicova, and L. Petruzella, *J. Raman Spectrosc.* **45**, 903 (2014); <https://doi.org/10.1002/jrs.4581>.
10. I. Matveeva, I. Bratchenko, Y. Khristoforova, L. Bratchenko, A. Moryatov, S. Kozlov, O. Kaganov, and V. Zakharov, *Sensors* **22**, 9588 (2022); <https://doi.org/10.3390/s22249588>.
11. M. Larion, T. Dowdy, V. Ruiz-Rodado, M. W. Meyer, H. Song, W. Zhang, D. Davis, M. R. Gilbert, and A. Lita, *Biosensors* **9**, 5 (2019); <https://doi.org/10.3390/bios9010005>.
12. A. N. Kuzmin, A. Pliss, A. Rzhetskii, A. Lita, and M. Larion, *Biosensors* **8**, 106 (2018); <https://doi.org/10.3390/bios8040106>.
13. G. F. Silveira, D. M. Strottmann, L. de Borba, D. S. Mansur, N. I. T. Zanchin, and J. Bordignon, *Clin. Exp. Immunol.* **183**(1), 114 (2016); <https://doi.org/10.1111/cei.12701>.
14. M. D. Keller, E. M. Kanter, and A. Mahadevan-Jansen, *Spectroscopy* **21**(11), 33 (2006).
15. M. A. Short, H. Lui, D. McLean, H. Zeng, A. Alajlan, and X. K. Chen, *J. Biomed. Opt.* **11**(3), 034004 (2006); <https://doi.org/10.1117/1.2209549>.
16. E. Rimskaya, S. Shelygina, A. Timurzieva, I. Saraeva, E. Perevedentseva, N. Melnik, K. Kudrin, D. Reshetov, and S. Kudryashov, *Int. J. Mol. Sci.* **24**, 14748 (2023); <https://doi.org/10.3390/ijms241914748>.
17. A. Cios, M. Ciepielak, L. Szymanski, A. Lewicka, S. Cierniak, W. Stankiewicz, M. Mendrycka, and S. Lewicki, *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 2437 (2021); <https://doi.org/10.3390/ijms22052437>.
18. I. Saraeva, D. Zayarny, E. Tolordava, A. Nastulyavichus, R. Khmelnitsky, D. Khmelenin, S. Shelygina, and S. Kudryashov, *Chemosensors* **11**(7), 361 ((2023)); <https://doi.org/10.3390/chemosensors11070361>.
19. I. Saraeva, E. Tolordava, S. Sheligyna, A. Nastulyavichus, R. Khmelnitskii, N. Pokryshkin, D. Khmelenin, S. Kudryashov, A. Ionin, and A. Akhmatkhanov, *Int. J. Mol. Sci.* **24**(6), 5119 (2023); <https://doi.org/10.3390/ijms24065119>.
20. X. Lu, Q. Liu, J. A. Benavides-Montano, A. V. Nicola, D. E. Aston, B. A. Rasco, and H. C. Aguilar, *J. Virol.* **87**(6), 3130 2013; <https://doi.org/10.1128/jvi.03220-12>.
21. A. O'Grady, A. C. Dennis, D. Denvir, J. J. McGarvey, and S. E. Bell, *Anal. Chem.* **73**(9), 2065 (2001).
22. M. N. Kinalwa, E. W. Blanch, and A. J. Doig, *Anal. Chem.* **82**(15), 6347 (2010).
23. C. A. Tellez Soto, L. P. Medeiros-Neto, L. dos Santos, A. B. Santos, I. Ferreira, P. Singh, R. Canevari, and A. A. Martin, *J. Raman Spectrosc.* **49**(7), 1165 (2018); <https://doi.org/10.1002/jrs.5370>.
24. C. E. E. Grace, M. B. Mary, S. Vaidyanathan, and S. Srisudha, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* **270**, 120830 (2022).
25. L. Chrit, X. S. Hadjur, C. Morel, G. Sockalingum, G. Lebourdon, F. Leroy, and M. Manfait, *J. Biomed. Opt.* **10**(4), 044007 (2005).
26. C. A. T'ellez-Soto, M. G. P. Silva, L. dos Santos, T. D. O. Mendes, P. Singh, S. A. Fortes, P. Favero, and A. A. Martin, *Vib. Spectrosc.* **112**, 103196 (2021).
27. J. Zhao, H. Lui, D. I. McLean, and H. Zeng, *Appl. Spectrosc.* **61**(11), 1225 (2007).
28. X. Feng, A. J. Moy, H. T. Nguyen, J. Zhang, M. C. Fox, K. R. Sebastian, J. S. Reichenberg, M. K. Markey, and J. W. Tunnell, *Biomed. Opt. Express* **8**, 2835 (2017); <https://doi.org/10.1364/BOE.8.002835>.
29. P. J. Caspers, G. W. Lucassen, R. Wolthuis, H. A. Bruining, and G. J. Puppels, *Biospectroscopy* **4**(4S), S31 (1998); [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1520-6343\(1998\)4:5+<S31::AID-BSPY4>3.0.CO;2-M/](https://doi.org/10.1002/(SICI)1520-6343(1998)4:5+<S31::AID-BSPY4>3.0.CO;2-M/).
30. M. Gniadecka, P. A. Philipsen, S. Sigurdsson, O. F. Nielsen, D. H. Christensen, J. Hercogova, K. Rossen, H. K. Thomsen, and L. K. Hansen, *J. Invest. Dermatol.* **122**, 443 (2004); <https://doi.org/10.1046/j.0022-202X.2004.22208.x>.
31. J. Anastassopoulou, M. Kyriakidou, E. Malesiou, M. Rallis, and T. Theophanides, *Infrared and Raman Spectroscopic Studies of Molecular Disorders in Skin Cancer* **33**, 567 (2019); <https://doi.org/10.21873/invivo.11512>.

32. M.E. Darvin, W. Sterry, J. Lademann, and T. Vergou, The Role of Carotenoids in Human Skin. *Molecules* **16**, 10491 (2011); <https://doi.org/10.3390/molecules161210491>.
33. A. Morovati, M.A. Ansari, and V.V. Tuchin, J. Biophotonics **13**, e202000124 (2020); <https://doi.org/10.1002/jbio.202000124>.
34. K. Maquelin, C. Kirschner, L.P. Choo-Smith, N. van der Braak, H.P. Endtz, D. Naumann, and G.J. Puppels, J. Microbiol. Methods **51**, 255 (2002); [https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(02\)00127-6](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(02)00127-6).
35. S. Bashir, H. Nawaz, M.I. Majeed, M. Mohsin, S. Abdullah, S. Ali, N. Rashid, M. Kashif, F. Batool, M. Abubakar, S. Ahmad, and A. Abdulraheem, Photodiagn. Photodyn. Ther. **34**, 102280 (2021); <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2021.102280>.
36. Y. Choi, J.W. Yoon, J.K. Hong, Y. Ryu, and S.H. Song, Commun. Phys. **3**, 1 (2020); <https://doi.org/10.1038/s42005-020-00409-y>.
37. Y. Chen, J. Dai, X. Zhou, Y. Liu, W. Zhang, and G. Peng, PLoS One **9**(4), e93906 (2014); <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093906>.
38. G.F. Silveira, D.M. Strottmann, L. de Borba, D.S. Mansur, N.I.T. Zanchin, J. Bordignon, C.N. Duarte dos Santos, **183**(1), 114 (2016); <https://doi.org/10.1111/cei.12701>.
39. S. Tfaili, C. Gobinet, G. Josse, J.F. Angiboust, M. Manfait, and O. Piot, Analyst **137**, 3673 (2012); <https://doi.org/10.1039/C2AN16292J>.
40. Y. Li, Z.N. Wen, L.J. Li, M.L. Li, N. Gao, and Y.Z. Guo, J. Raman Spectrosc. **41**, 142 (2010); <https://doi.org/10.1002/jrs.2421>.
41. S. Rauniyar, K. Pansare, A. Sharda, S.R. Singh, P. Saha, M.K. Chilakapati, and S. Gupta, ACS Omega **8**(6), 5522 (2023); <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c06787>.
42. N. Kourkouvelis, I. Balatsoukas, V. Moulia, A. Elka, G. Gaitanis, and I.D. Bassukas, Int. J. Mol. Sci. **16**, 14554 (2015); <https://doi.org/10.3390/ijms160714554>.
43. M. Kashif, M.I. Majeed, M.A. Hanif, and A. ur Rehman, Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc. **242**, 118729 (2020); <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118729>.
44. X.Y. Liu, P. Zhang, L. Su, L.M. Wang, X.D. Wei, H.Q. Wang, and T.F. Lin, J. Nanosci. Nanotechnol. **18**, 6776 (2018); <https://doi.org/10.1166/jnn.2018.15510>.
45. R. Vyumvuhore, A. Tfaïli, H. Duplan, A. Delalleau, M. Manfait, and A. Baillet-Guffroy, Analyst **138**, 4103 (2013); <https://doi.org/10.1039/C3AN00716B>.
46. D. Lunter, V. Klang, D. Kocsis, Z. Varga-Medveczky, S. Berko, and F. Erdo, Experimental Dermatology **31**(9), 1311 (2022); <https://doi.org/10.1111/exd.14645>.
47. P. Rekha, P. Aruna, E. Brindha, D. Koteeswaran, M. Baludavid, and S. Ganesan, J. Raman Spectrosc. **47**(7), 763 (2016); <https://doi.org/10.1002/jrs.4897>.
48. V. Ratushny, M.D. Gober, R. Hick, T.W. Ridky, and J.T. Seykora, J. Clin. Investig. **122**(2), 464 (2012); <https://doi.org/10.1172/JCI57415>.
49. R. Vilar, R.J. Fish, and A. Casini, Haematologica **105**(2), 284 (2020); <https://doi.org/10.3324/haematol.2019.236901>.
50. A. Collen, S.M. Smorenburg, E. Peters, F. Lupu, P. Koolwijk, C. van Noorden, and V.W. van Hinsbergh, Cancer Res. **60**, 6196 (2000).
51. H.F. Dvorak, D.R. Senger, and A.M. Dvorak, Cancer Metastasis Rev. **2**, 41 (1983); <https://doi.org/10.1007/BF00046905>.
52. T.M. Niers, L.W. Bruggemann, C.P. Klerk, F.J.M. Muller, T. Buckle, P.H. Reitsma, D.J. Richel, C.A. Spek, O. van Telling, and C.J.F. van Noorden, Clinical & Experimental Metastasis **26**, 171 (2009); <https://doi.org/10.1007/s10585-008-9227-6>.
53. Z.Q. Wen, X. Cao, and A. Vance, J. Pharm. Sci. **97**, 2228 (2008); <https://doi.org/10.1002/jps.21191>.
54. H. Jayan, H. Pu, and D.W. Sun, Spectrochim. Acta, Part A **276**, 121217 (2022); <https://doi.org/10.1016/j.saa.2022.121217>.
55. Y. Chen, J. Dai, X. Zhou, Y. Liu, W. Zhang, and G. Peng, PLoS One **9**(4), e93906 (2014); <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093906>.
56. A. Fălămaș, S.A. Cinta-Pinzaru, C. Dehelean, C.H. Krafft, and J. Popp, Rom. J. Biophys **20**(1), 1 (2010).
57. N. Kourkouvelis, I. Balatsoukas, V. Moulia, G. Gaitanis, and I.D. Bassukas, Int. J. Mol. Sci. **16**, 14554 (2015); <https://doi.org/10.3390/ijms160714554>.
58. M. Gniadecka, H.C. Wulf, N. Nymark Mortensen, O. Faurskov Nielsen, and D.H. Christensen, J. Raman Spectrosc. **28**, 125 (1997); [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4555\(199702\)28:2/3<125::AID-JRS65>3.0.CO;2-%23](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4555(199702)28:2/3<125::AID-JRS65>3.0.CO;2-%23).
59. D. Predoi, S.L. Iconaru, M. Albu, C.C. Petre, and G. Jiga, Polym. Eng. Sci. **57**, 537 (2017); <https://doi.org/10.1002/pen.24553>.
60. C.A. Lieber, S.K. Majumder, D. Billheimer, D.L. Ellis, and A. Mahadevan-Jansen, J. Biomed. Opt. **13**, 024013 (2008); <https://doi.org/10.1117/1.2899155>.
61. E.B. Souto, R. da Ana, V. Vieira, J.F. Figueiro, J. Dias-Ferreira, A. Cano, A. Zielinska, A.M. Silva, R. Staszewski, and J. Karczewski, Neoplasia **30**, 100810 (2022); <https://doi.org/10.1016/j.neo.2022.100810>.
62. S. Bolshakov, C.M. Walker, S.S. Strom, M.S. Selvan, G.L. Clayman, A. El-Naggar, S.M. Lippman, M.L. Kripke, and H.N. Ananthaswamy, Clinical Cancer Research **9**(1), 228 (2003).
63. N. Leopold, S. Cinta-Pinzaru, M. Baia, E. Antonescu, O. Cozar, W. Kiefer, and J. Popp, Vib. Spectrosc. **39**(2), 169 (2005); <https://doi.org/10.1016/j.vibspec.2005.02.019>.