

## Дифференциация новообразований кожи методом спектроскопии комбинационного рассеяния с длиной волны возбуждения 532 нм в диапазоне высоких волновых чисел

© С.Н. Шелыгина<sup>1</sup>, Е.Н. Римская<sup>1</sup>, А.Б. Тимурзиева<sup>1,2</sup>, И.Н. Сараева<sup>1</sup>, К.Г. Кудрин<sup>1,3</sup>,  
А.Е. Рупасов<sup>1</sup>, А.А. Настулявичус<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Физический институт им. П.Н. Лебедева,  
119991 Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБНУ „Национальный научно-исследовательский институт общественного здоровья имени Н.А. Семашко“,  
105064 Москва, Россия

<sup>3</sup> Кафедра онкологии, лучевой терапии и реконструктивной хирургии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова,  
119991 Москва, Россия

e-mail: shelyginasn@lebedev.ru

Поступила в редакцию 11.12.2023 г.

В окончательной редакции 09.01.2024 г.

Принята к публикации 16.01.2024 г.

Конфокальная сканирующая микроспектроскопия комбинационного рассеяния света и флуоресценции является структурно чувствительным оптическим методом, позволяющим проводить неинвазивный анализ биомаркеров в тканях кожи. Отчетливые спектральные различия были замечены в спектрах комбинационного рассеяния света базальноклеточной карциномы и плоскоклеточной карциномы по сравнению со здоровой кожей и папилломой. Наш анализ спектров комбинационного рассеяния света и флуоресценции при длине волны возбуждения 532 нм позволил предложить два спектральных критерия: отношения интенсивностей для полос 2880 и 1445  $\text{cm}^{-1}$  и полос 2930 и 1445  $\text{cm}^{-1}$ . Это основано на различиях колебаний липидов клеточных мембран, используемых в качестве биомаркеров. Эти 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.

**Ключевые слова:** микроспектроскопия комбинационного рассеяния света и флуоресценции, рак кожи, неинвазивная диагностика, спектральный анализ.

DOI: 10.61011/OS.2024.01.57556.14-24

### Введение

Заболеваемость злокачественными новообразованиями кожи ежегодно растет. Рост заболеваемости, вероятно, связан с воздействием ультрафиолетового излучения, увеличения активности на свежем воздухе, изменения стиля одежды, увеличения продолжительности жизни, истощения озонового слоя, генетики и т. д.

Базальноклеточная (БКК) и плоскоклеточная карцинома (ПКК) кожи — наиболее распространенные типы немеланоцитарных злокачественных новообразований во всем мире, поэтому их ранняя неинвазивная диагностика является социально значимой проблемой. Более распространенной формой является БКК, которая обычно медленно растет и местно инвазивна. ПКК является второй по распространенности формой немеланоцитарного рака кожи, на долю которого приходится примерно от 20 до 30% случаев [1–3].

Устоявшимся „золотым стандартом“ диагностики новообразований является гистопатологическое исследование удаленного материала. Его недостатком является инвазивность, высокие требования к квалификации медицинского персонала и временные затраты [4–7]. Неин-

вазивные методы диагностики, а именно дерматоскопия, конфокальная микроскопия, мультиспектральная визуализация и оптическая когерентная томография имеют свои ограничения [8–10].

Дерматоскопия — неинвазивный метод визуальной диагностики, позволяющий диагностировать злокачественное заболевание кожи на ранних стадиях. Метод обладает чувствительностью и специфичностью 93.7% и 87.8% соответственно. Ограничением метода является небольшая глубина визуализации (уровень дермы), разрешение изображения и требуемый высокий уровень квалификации персонала [11]. Конфокальная микроскопия на отражение обеспечивает получение изображений с высоким разрешением, близким к гистологическому, но ограничена глубиной 200–300  $\mu\text{m}$  (соответствующей сосочковой дерме) [12].

Мультиспектральная визуализация представляет собой портативный сканер, который получает 10 цифровых мультиспектральных изображений в диапазоне длин волн от видимого до ближнего ИК диапазона (430–950 нм), излучение проникает примерно на 2.5 мм под кожу. Метод обладает высокой чувствительностью — 98.3%, но низкой специфичностью — 9.9%,

поэтому используется как диагностика, предварительная биопсии [13].

Оптическая когерентная томография, основанная на низкокогерентной интерферометрии в ближнем ИК диапазоне длин волн (700–1300 nm), обеспечивает визуализацию кожи с высоким (близким к гистологическому) пространственным разрешением, составляющим несколько микрометров, и глубиной проникновения 1–3 mm. Метод обеспечивает структурную визуализацию биотканей, дает возможность визуализации микроциркуляции без использования контрастных агентов, за счет чего востребован в ряде медицинских применений [14]. Однако метод не позволяет различать отдельные клетки [15–17].

Высокие показатели чувствительности и специфичности демонстрируют мультимодальные методы. Например, в [18] предложен алгоритм машинного обучения на основе данных (полученных с помощью мультимодального метода скрининга, сочетающего в себе спектроскопию диффузного отражения, оптическую когерентную томографию и высокочастотный ультразвук) классификации различных форм БКК и доброкачественных новообразований *in vivo*. Алгоритм обеспечил чувствительность  $70.6 \pm 17.3\%$ , специфичность  $95.9 \pm 2.5\%$ , точность  $72.6 \pm 14.2\%$ . Для дифференциации базалиомы и доброкачественных новообразований без учета клинической формы методом достигнута чувствительность  $89.1 \pm 8.0\%$ , специфичность  $95.1 \pm 0.7\%$ .

Спектроскопия комбинационного рассеяния света (КР) обладает потенциалом для диагностики и изучения эволюции злокачественных новообразований человека как *in vitro*, так и *in vivo* в пищеводе, желудке, легких, предстательной железе, артериях, на коже [19–22]. Метод обладает высокой чувствительностью и специфичностью (95%) для диагностики новообразований кожи [23]. Конфокальная спектроскопия КР света позволяет анализировать материал на различной глубине. Так, в работе [24] изучено распределение меланина в коже методом КР-микроспектроскопии с длинами волн возбуждения 785 и 671 nm на глубине до 60  $\mu\text{m}$ . В работе [25] *ex vivo* изучено содержание воды в коже свиньи на глубине до 200  $\mu\text{m}$  методом конфокальной КР-микроспектроскопии с длиной волны возбуждения 671 nm.

Лазерное излучение различных длин волн имеет различную глубину проникновения в кожу, что также позволяет анализировать состав ткани на различной глубине [26]. В работе [27] выполнена *in vivo* диагностика новообразований кожи с помощью портативного спектрометра КР света с длиной волны 785 nm путем анализа сочетания спектров КР и автофлуоресценции (АФ) в ближней ИК области (300–1800  $\text{cm}^{-1}$ ). Анализ спектроскопических данных проводился на основе PLS-DA. Использование сигнала КР в сочетании с АФ демонстрирует наилучшие результаты при дифференциации меланомы и новообразований с пигментом (себорейного кератоза и невусов: чувствительность и специфичность составляют 90 и 26%, меланомы и себорейного кератоза:

чувствительность и специфичность 90 и > 40%, а также злокачественных и доброкачественных новообразований: чувствительность и специфичность 90 и 32). Точность данного подхода меньше, чем для приборов с глубоким охлаждением, а также опытных дерматологов, но превышает точность врачей общей практики и стажеров.

Активно развивается применение КР-спектроскопии с поверхностным усилением для задач биомедицины. Например, в работе [28] представлен метод ратиометрической КР-спектроскопии с поверхностным усилением (SETRS) для *in vivo* неинвазивной локализации и периоперационной навигации глубоких сторожевых лимфатических узлов у живых крыс. Для усиления сигнала КР использованы ультраяркие SERS-активные наночастицы. Метод позволяет точно определить глубину фантомных поражений в тканях крысы *ex vivo* со средней абсолютной погрешностью 11.8% и достичь точной локализации подколенного лимфатического узла крысы глубиной 6 mm.

В предыдущей работе [29] мы исследовали метод микроспектроскопии КР света и флуоресценции (ФЛ) с длинами волн возбуждения 532, 785 и 1064 nm для *in vitro* диагностики различных злокачественных новообразований кожи. Были обнаружены отчетливые различия в спектрах КР света в диапазоне от 900 до 1800  $\text{cm}^{-1}$  БКК и ПКК по сравнению со здоровой кожей. Нами были предложены два новых спектральных критерия, не зависящих от длины волны (соотношения интенсивностей для полос 1302 и 1445  $\text{cm}^{-1}$ , 1745 и 1445  $\text{cm}^{-1}$ ), связанных с характеристическими колебаниями мембранных липидов, что было подтверждено методом разрешения многомерных кривых (MCR). Критерии позволили дифференцировать здоровую кожу, БКК и ПКК с чувствительностью и специфичностью более 95%.

В вышеупомянутом исследовании анализ выполнялся в спектральном диапазоне 900–1800  $\text{cm}^{-1}$  — так называемой области „отпечатков пальцев“. Спектральный диапазон более высоких волновых чисел 2800–3100  $\text{cm}^{-1}$  обладает дополнительной информацией и также может представлять практический интерес для диагностики тканей и поиска биомаркеров. В настоящей работе с помощью метода микроспектроскопии КР/ФЛ исследован спектральный диапазон 2800–3100  $\text{cm}^{-1}$  на наличие характеристических биомаркеров для *in vitro* диагностики злокачественных и доброкачественных новообразований.

## Экспериментальная часть

Образцы свежей ткани забирали у пациентов во время хирургических операций. Сразу после удаления опухолевых тканей из образцов были выделены небольшие фрагменты ткани размером до  $3 \times 3$  mm, которые включали участок опухоли в пределах окружающей его интактной ткани. Образцы помещали в герметично закрытые пробирки с физиологическим раствором и уникальным номером. Материал для исследования был

взят таким образом, чтобы не исказить их последующее гистологическое исследование. Время с момента взятия образцов до начала получения спектров составляло не более 1.5 h.

В настоящем исследовании были проанализированы спектры КР/ФЛ, собранные путем сканирования от 7 образцов БКК, 5 образцов ПКК (для каждого образца опухоли также регистрировался сигнал от окружающей здоровой ткани), а также образцов 3 папиллом (доброкачественное новообразование) и 15 образцов здоровой кожи от разных пациентов (примерно равное количество мужчин и женщин в возрасте 30–60 лет). Согласно данным микроскопической биопсии, все случаи БКК и ПКК были классифицированы как опухоли на ранней стадии (степень рака: G1 (хорошо дифференцированный) и G2 (умеренно дифференцированный)).

Спектры КР/ФЛ образцов были получены методом 2D сканирующей конфокальной микроспектроскопии КР/ФЛ с использованием микроскопа–спектрометра Confotec MR520 (SOL instruments, Минск, Беларусь) с длиной волны возбуждения 532 nm при комнатной температуре (25°C). Лазерное излучение фокусировалось на поверхности образца объективом N Plan 50/0.50 (Leica, Германия), обратное излучение собиралось этим же объективом. Спектры были получены при времени экспозиции 2 s, в плоскости образца мощность лазерного излучения составляла менее 20 mW, диаметр пучка ~ 1 μm. Чтобы охватить максимальную площадь образца, были получены спектры КР/ФЛ с 10–20 независимых участков каждого образца.

Вклад ФЛ в диапазоне 900–3100 см<sup>-1</sup> был вычтен из исходных спектров на основе алгоритма Ванкувера, который является оптимальным для биомедицинских образцов. Каждый спектр был сглажен по методу Савицкого–Голея. Затем все спектры КР с удаленной ФЛ в диапазоне от 900 до 3100 см<sup>-1</sup> были нормированы на интенсивность полосы 1442 см<sup>-1</sup>, соответствующей СН<sub>2</sub>-колебаниям белков и липидов и являющейся наиболее стабильной, поскольку разные группы пациентов имеют разную концентрацию веществ в тканях.

## Результаты и обсуждение

Спектральный диапазон больших волновых чисел 2800–3550 см<sup>-1</sup> содержит колебания СН-групп белков и липидов в диапазоне 2700–3100 см<sup>-1</sup>, симметричные NH-колебания белков находятся на 3329 см<sup>-1</sup>, OH-колебания воды — на 3350–3550 см<sup>-1</sup> [30]. Детальная расшифровка представлена в таблице. Данный диапазон меньше зависит от вклада ФЛ, чем диапазон „отпечатков пальцев“.

Спектр КР/ФЛ предоставляет информацию о морфологической структуре ткани. На рис. 1 представлены исходные спектры КР/ФЛ в диапазоне 900–3100 см<sup>-1</sup> для образцов здоровой кожи, БКК, ПКК и папиллом при длине волны возбуждения 532 nm. Спектральные полосы КР соответствуют различным молекулярным

Расшифровка полос КР в диапазоне 2850–3061 см<sup>-1</sup>

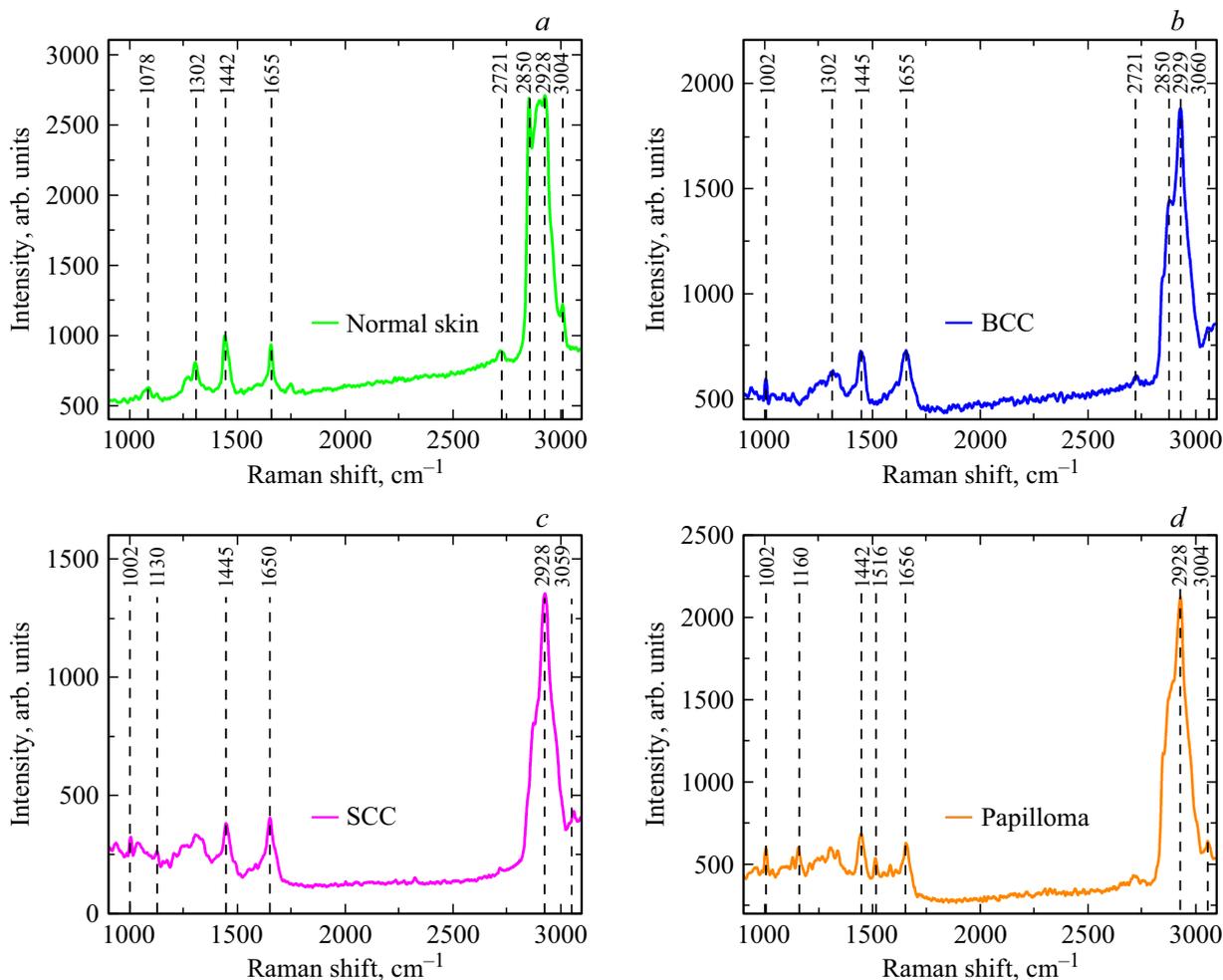
Волновое число, см <sup>-1</sup>	Колебания	Номер ссылки
2850	Симметричные валентные СН <sub>2</sub> -колебания липидов и жирных кислот	[30]
2876–2919	Асимметричные валентные СН <sub>2</sub> -колебания липидов и белков	[30]
2929–2940	Симметричные валентные СН <sub>2</sub> -колебания преимущественно белков и липидов	[33]
3005	Колебание молекул воды, тесно связанных с водородом (DAA–OH, одиночный донор, двойной акцептор)	[25,31]
3059–3061	СН колебания алифатических и олефиновых групп липидов	[34]

компонентах кожи. Волновые числа основных полос КР в диапазоне высоких волновых чисел от 2500 до 3100 см<sup>-1</sup> для нормальной кожи: 2721, 2850, 2881, 2928, 3004, 3062 см<sup>-1</sup>, для БКК: 2721, 2850, 2876, 2929, 3063 см<sup>-1</sup>, для ПКК: 2722, 2846, 2869, 2928, 3059 см<sup>-1</sup> и для папиллом: 2850, 2879, 2931, 3058 см<sup>-1</sup>.

Спектры, полученные при длине волны возбуждения 532 nm, обладают высоким уровнем ФЛ, вычитание которого необходимо для корректного анализа данных. Наиболее часто используемым методом вычитания сигнала ФЛ при измерениях биологических тканей является ванкуверский алгоритм [31]. После вычитания сигнала ФЛ спектр был нормирован на интенсивность полосы КР с волновым числом 1445 см<sup>-1</sup>. Полоса 1445 см<sup>-1</sup>, связанная с деформациями СН<sub>2</sub> белков и липидов [30], относительно нечувствительна к конформации, является характерной для спектров КР как здоровой кожи, так и новообразований, поэтому она была предложена в качестве стандарта интенсивности. Пример вычитания сигнала ФЛ с помощью ванкуверского алгоритма и полученные спектры КР, сглаженные методом Савицкого–Голея и нормированные на интенсивность полосы 1445 см<sup>-1</sup>, показаны на рис. 2.

Спектры КР в диапазоне 2700–3100 см<sup>-1</sup> после вычитания сигнала ФЛ, сглаживания и деления на интенсивность полосы 1445 см<sup>-1</sup> представлены на рис. 3. Спектры КР представляют собой набор накладывающихся друг на друга полос колебаний в основном СН-групп белков и липидов.

В отличие от образцов опухолей в спектре нормальной кожи разрешается колебание с волновым числом 2850 см<sup>-1</sup>, соответствующее СН<sub>2</sub>-колебаниям липидов и жирных кислот [29], а также присутствует колебание с волновым числом 3004 см<sup>-1</sup>, соответствующее коле-



**Рис. 1.** Исходные спектры КР/ФЛ при длине волны возбуждения 532 nm для нормальной кожи (a), БКК (b), ПКК (c) и папилломы (d).

баниям молекул воды, тесно связанным с водородом (DAA–OH) [25,31].

В спектрах КР ПКК и папиллом разрешаются полосы с волновыми числами 2928 и 2931  $\text{cm}^{-1}$ , соответствующие  $\text{CH}_2$ -колебаниям белков и липидов [32]. В спектре КР БКК разрешаются полосы колебаний с волновыми числами 2876 и 2929  $\text{cm}^{-1}$ , соответствующие асимметричным  $\text{CH}_2$ -колебаниям липидов и белков. Полоса 2850  $\text{cm}^{-1}$ , соответствующая жирам, разрешается слабо. У всех четырех образцов также присутствуют полосы в диапазоне 3059–3061  $\text{cm}^{-1}$ , соответствующие  $\text{CH}$ -колебаниям алифатических и олефиновых групп липидов [34].

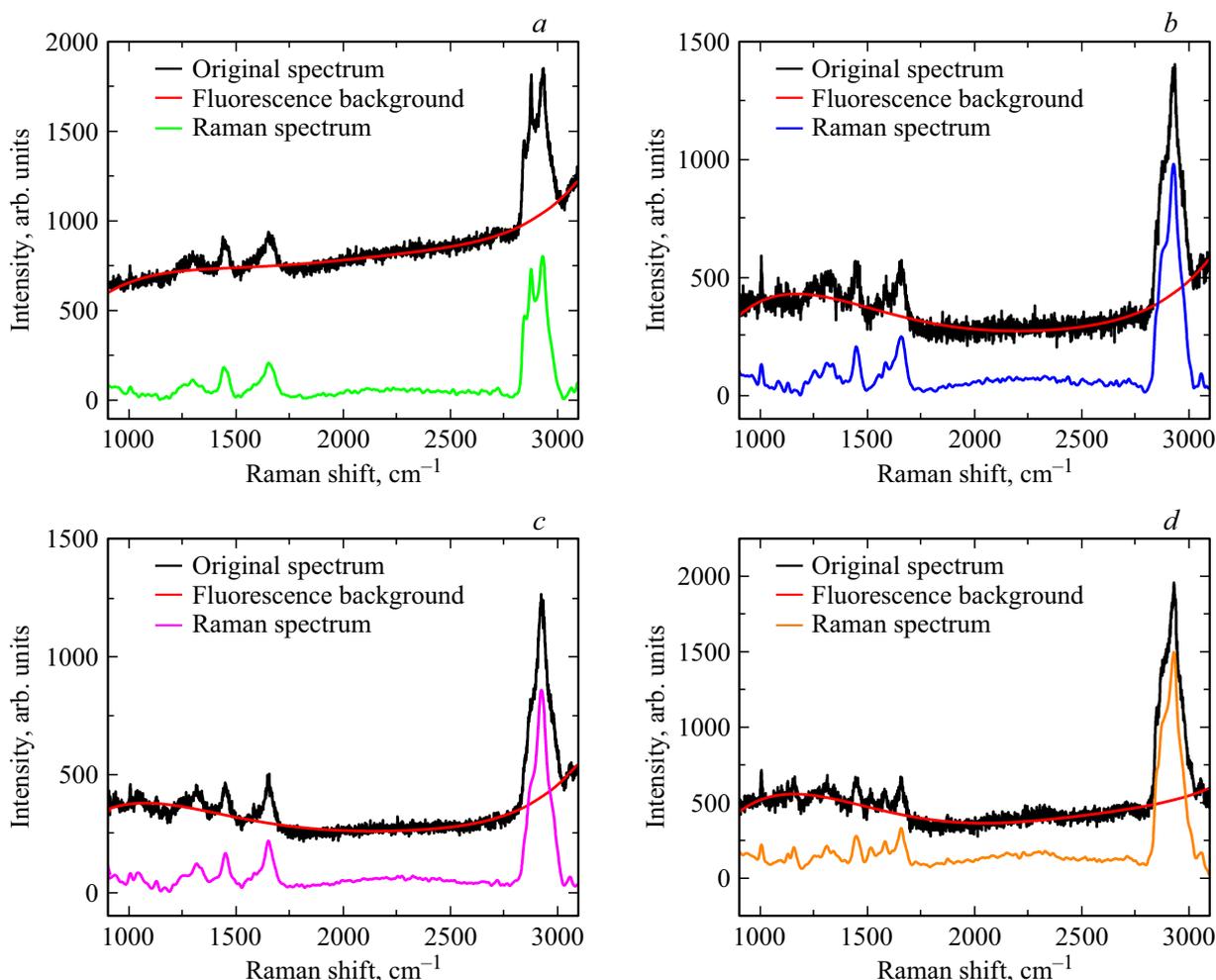
Таким образом, спектры КР нормальной кожи и опухолей различаются соотношением интенсивностей полос, соответствующих колебаниям  $\text{CH}_2$ -групп белков и липидов, а также присутствием в спектре нормальной ткани колебания молекул воды, тесно связанным с водородом (DAA–OH) с волновым числом 3004  $\text{cm}^{-1}$  [25,31].

Нормированные спектры КР с интервалами среднеквадратичного отклонения (СКО) (серые области) показаны на рис. 4. Более широкие интервалы СКО в

определенных диапазонах указывают на большее разнообразие индивидуальных свойств образцов от разных пациентов и их распределение по каждому образцу. Наиболее широкие интервалы СКО наблюдаются для спектров КР нормальной кожи для волновых чисел 2850, 2881 и 2928  $\text{cm}^{-1}$  и БКК для волновых чисел 2850, 2876 и 2929  $\text{cm}^{-1}$ . СКО для спектра КР БКК больше, чем для нормальной кожи. Спектры КР ПКК и папиллом демонстрируют меньшие интервалы СКО для волновых чисел 2846, 2869, 2928 и 2850  $\text{cm}^{-1}$ , 2879 и 2931  $\text{cm}^{-1}$  соответственно.

### Спектральные критерии для дифференциальной диагностики

Различия в спектрах КР нормальной кожи и опухолей позволяют дифференцировать данные ткани с помощью КР/ФЛ микроспектроскопии. Здесь мы предлагаем метод дифференциации различных опухолей кожи, основанный на спектральном критерии отношения интенсивностей спектральных полос КР различных компонентов ткани.



**Рис. 2.** Исходный спектр КР/ФЛ, спектр сигнала ФЛ и спектр КР при длине волны возбуждения 532 nm для нормальной кожи (a), БКК (b), ППК (c) и папилломы (d).

Поскольку было показано, что объединение спектров КР света и сигнала ФЛ повышает чувствительность и специфичность обнаружения опухолей, были рассчитаны критерии для спектров КР света с сигналом ФЛ и спектров без вычитания сигнала ФЛ и произведено сравнение результатов. 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  $2875\text{--}2885\text{ cm}^{-1}$  и  $2925\text{--}2935\text{ cm}^{-1}$  к максимуму интенсивности КР в диапазоне  $1440\text{--}1450\text{ cm}^{-1}$ :

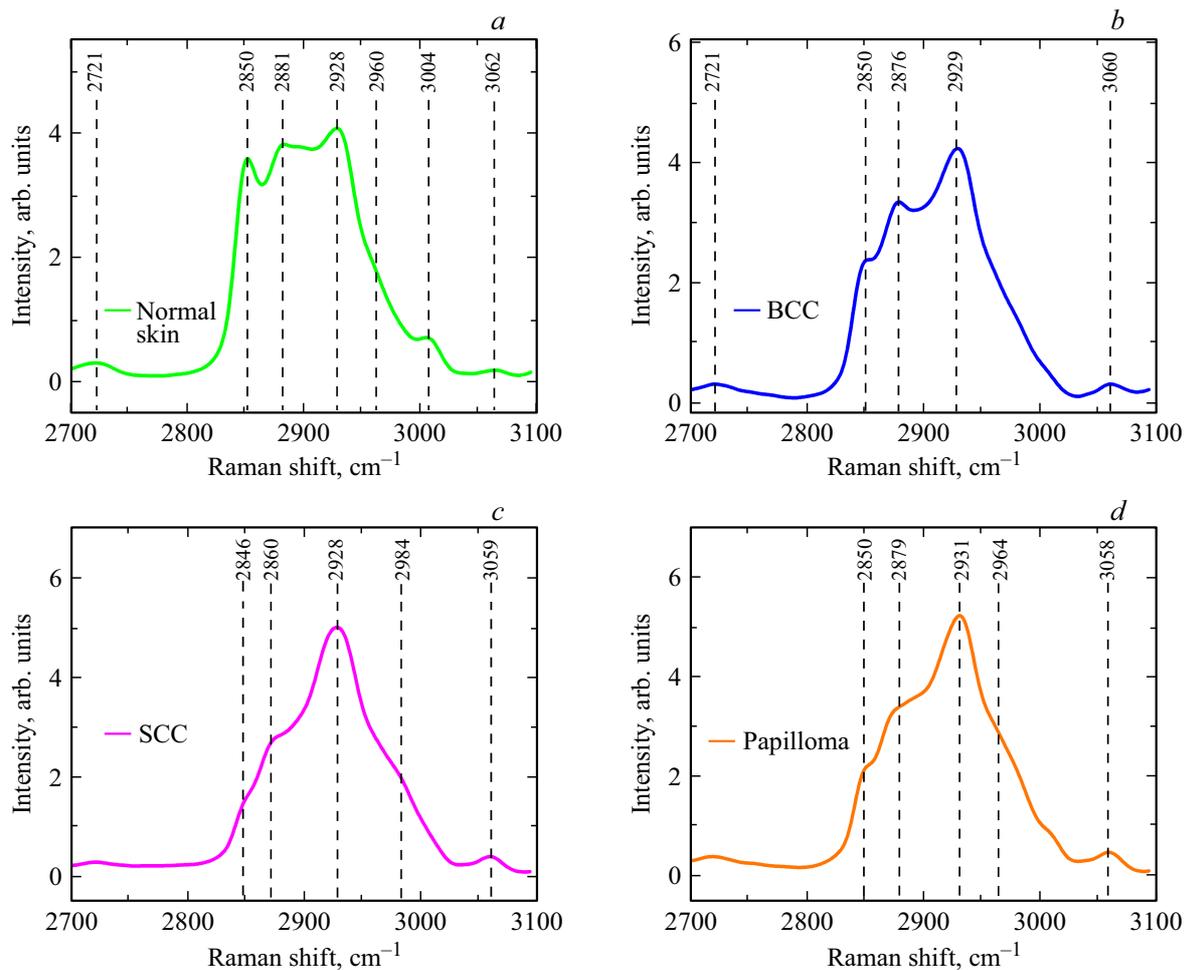
$$I_{2880/1445} = I_{2880}/I_{1445} \text{ и } I_{2930/1445} = I_{2930}/I_{1445}.$$

Спектральные полосы выбраны в соответствии со спектром КР нормальной кожи. Данные соотношения, построенные в координатах  $I_{2880/1445}$  от  $I_{2930/1445}$ , демонстрируют кластеры точек для нормальной кожи, БКК, ППК и папилломы. Полоса  $1445\text{ cm}^{-1}$ , соответствующая деформационным  $\text{CH}_2$ -колебаниям белков и липидов, нечувствительна к конформациям, присутствует во всех образцах тканей и считается стандартом интенсивно-

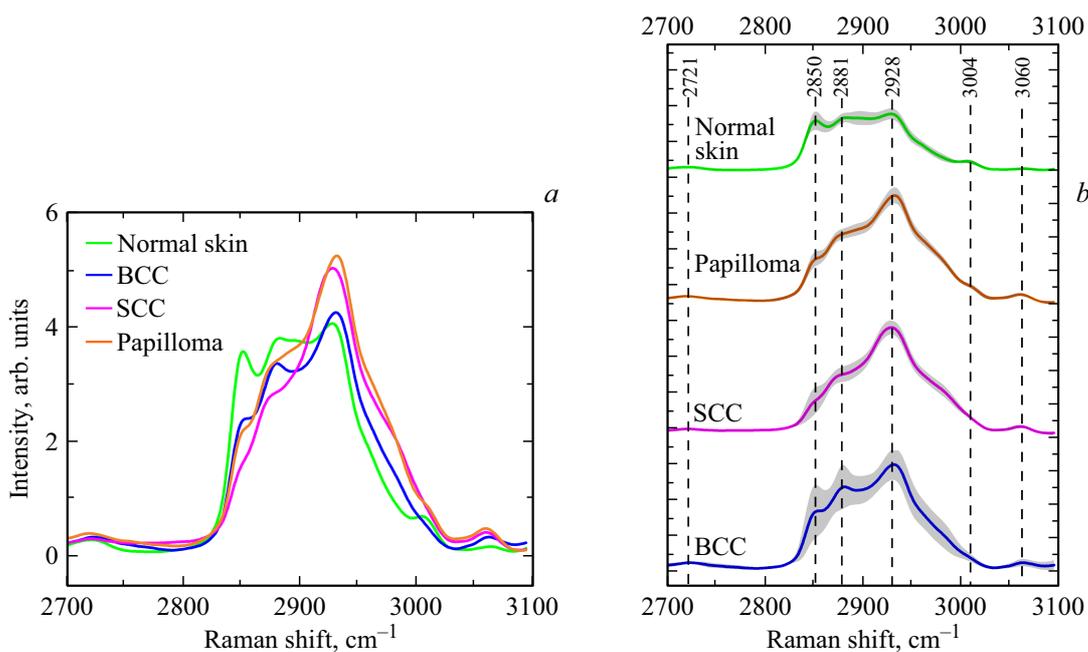
сти. Полоса  $2880\text{ cm}^{-1}$  относится к симметричным валентным  $\text{CH}_2$ -колебаниям липидов и белков. Полоса  $2930\text{ cm}^{-1}$  относится к  $\text{CH}_2$ -колебаниям липидов и белков.

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.

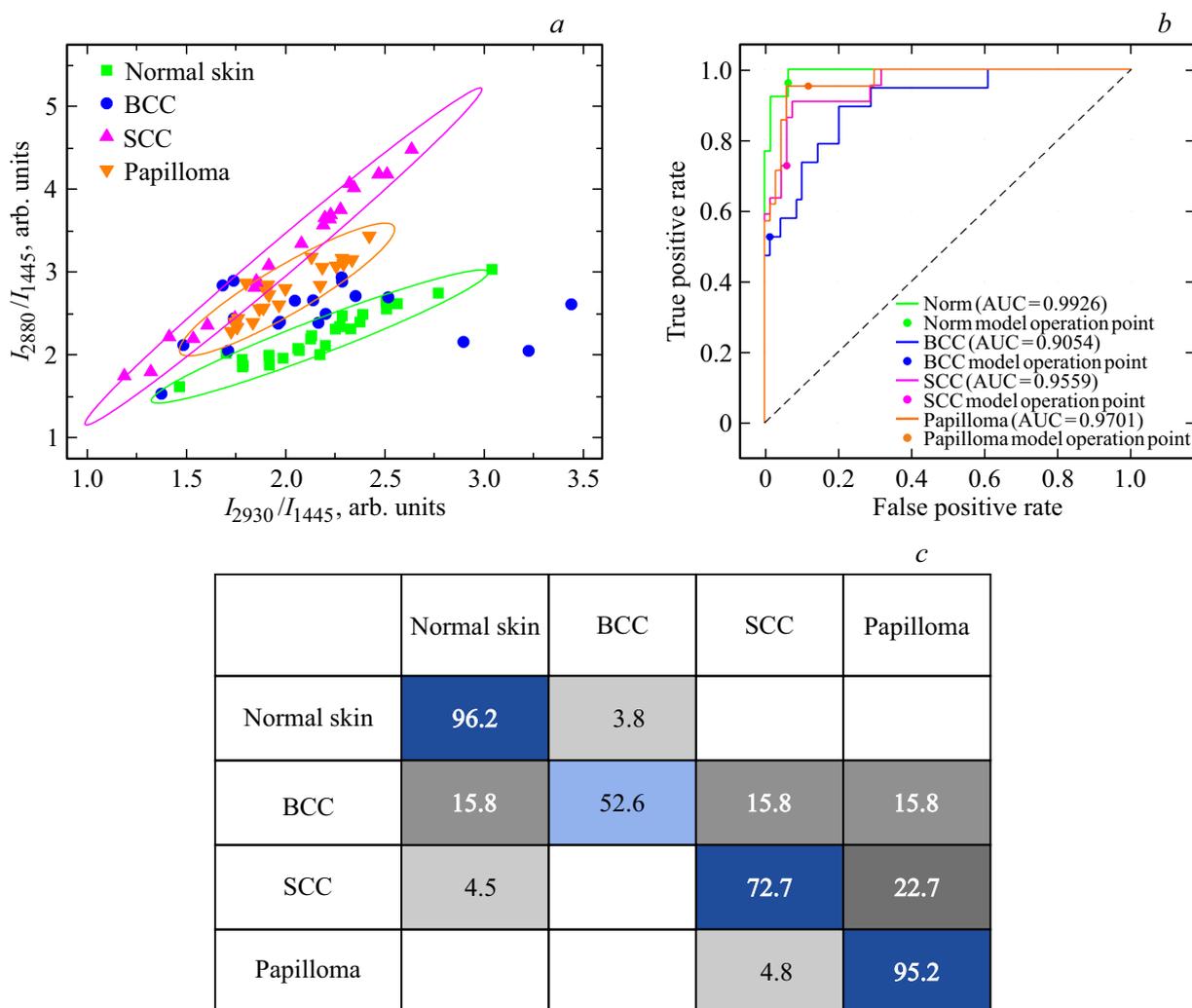
На рис. 5, a показано распределение спектральных критериев и рассчитанные границы между нормальной кожей, доброкачественными (папилломы) и злокачественными новообразованиями (БКК и ППК) кожи. ROC-кривые для четырех классов образцов тканей (рис. 5, b) отображают соотношение истинного положительного результата и ложноположительного результата для каждого класса. Кроме того, показатели ROC AUC (площадь под кривой) были рассчитаны в качестве показателя эффективности. Таким образом, значения



**Рис. 3.** Нормированные спектры КР при длине волны возбуждения 532 nm для нормальной кожи (a), БКК (b), ПКК (c) и папилломы (d) в диапазоне 2700–3100 см<sup>-1</sup>. Значения полос [25,30–34].



**Рис. 4.** Нормированные спектры КР на длине волны возбуждения 532 nm для нормальной кожи, ПКК, БКК и папиллом (a) с интервалами среднеквадратичного отклонения (серые области) (b).



**Рис. 5.** Классификация образцов нормальной кожи, БКК, ПКК и папилломы *in vitro* при возбуждении лазером с длиной волны 532 nm с помощью квадратичного дискриминантного анализа (a); ROC-кривые со значениями AUC для нормальной кожи, БКК, ПКК и папилломы (b); матрица классификации в процентах для всех данных (c).

ROC AUC для квадратичного дискриминантного анализа нормальной кожи, БКК, ПКК и папиллом составили 0.99, 0.90, 0.95 и 0.97. Коэффициент классификации с использованием квадратичного дискриминантного анализа нормальной кожи составил 96.2%, для ПКК — 72.7% и для папилломы — 95.2%. Для БКК показатель заметно ниже и составляет 52.6%, и, таким образом, разделение БКК и нормальной ткани кожи затруднено.

С экспертной точки зрения интересно посмотреть на точность классификации всех опухолей по сравнению с нормальной кожей. Чувствительность и специфичность квадратичного дискриминантного анализа составила 96% и 90%, что является очень хорошим результатом для дифференциальной диагностики опухолей.

## Заключение

В настоящей работе был проведен КР-анализ *in vitro* здоровой кожи, БКК, ПКК и папиллом с помощью

конфокальной сканирующей микроспектроскопии КР и ФЛ с длиной волны возбуждения 532 nm в диапазоне 2800–3100  $\text{cm}^{-1}$ . После унифицированных процедур коррекции базовой линии и сглаживания полученные спектры КР выглядели довольно похоже, причем их основные сильные полосы соответствовали различным модам колебаний мембранных липидов, выбранных в качестве биомаркеров. Их соотношение интенсивностей продемонстрировало четкую дифференциацию между здоровой кожей, злокачественными и доброкачественными новообразованиями кожи.

В частности, используя длину волны возбуждения 532 nm, мы добились надежного распознавания нормальной кожи, БКК, ПКК и папиллом, для которых показатели классификации составили 96.2, 52.6, 72.7 и 95.2% соответственно. Чувствительность (96%) и специфичность (90%) при обнаружении всех опухолей (по сравнению с нормальной кожей) были аналогичны результатам, полученным экспертами-дерматологами при дифферен-

циации опухолей и другими методами (термометрия, ультразвуковое сканирование кожи, кроссполаризационная оптическая когерентная томография, спектроскопия и визуализация в терагерцовом диапазоне).

### 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.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

### Список литературы

- [1] T. Diepgen, V. Mahler. Br.J. Dermatol., **146** (61), 1–6 (2002). DOI: 10.1046/j.1365-2133.146.s61.2.x
- [2] V. Madan, J.T. Lear, R.M. Szeimies. Lancet, **375** (9715), 673–85 (2010). DOI: 10.1016/S0140-6736(09)61196-X
- [3] O. Jones, C. Ranmuthu, P.N. Hall, G. Funston, F.M. Walter. Adv Ther., **37** (1), 603–616 (2020). DOI: 10.1007/s12325-019-01130-1
- [4] *Handbook of Optical Biomedical Diagnostics*, ed. by V.V. Tuchin, 2nd ed. (SPIE Press, Bellingham, WA, USA, 2016).
- [5] P. Gerami, J.P. Alsobrook, T.J. Palmer, H.S. Robin. J. Am. Acad. Dermatol., **71** (2), 237–44 (2014). DOI: 10.1016/j.jaad.2014.04.042
- [6] L.K. Ferris, B. Jansen, J. Ho, K.J. Busam, K. Gross, D.D. Hansen, J.P. Alsobrook 2nd, Z. Yao, G.L. Peck, P. Gerami. JAMA Dermatol., **153** (7), 675–80 (2017). DOI: 10.1001/jamadermatol.2017.0473
- [7] C.J. Cockerell, J. Tschen, S.D. Billings, C. Rock, B. Evans, L. Clarke. J. Am. Acad. Dermatol., **72** (5), AB3–AB3 (2015). DOI: 10.1016/j.jaad.2015.02.020
- [8] H. Skvara, L. Teban, M. Fiebiger, M. Binder, H. Kittler. Arch. Dermatol., **141** (2), 155–160 (2005).
- [9] H.D. Heibel, L. Hooey, C.J. Cockerell. Am. J. Clin. Dermatol., **21** (4), 513–524 (2020). DOI: 10.1007/s40257-020-00517-z
- [10] *Handbook of Non-Invasive Methods and the Skin*, 2nd ed., ed. by J. Serup, G.B.E. Jemec, G.L. Grove (CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 2006).
- [11] Н.Н. Потеекаев, Е.К. Шугинина, Т.С. Кузьмина, Л.С. Арутюнян. *Дерматоскопия в клинической практике. Руководство для врачей* (МДВ, М., 2011).
- [12] A. Haroon, S. Shaf, B.K. Rao. Dermatol. Clin., **35** (4), 457–64 (2017). DOI: 10.1016/j.det.2017.06.007
- [13] G. Monheit, A.B. Coggnetta, L. Ferris, H. Rabinovitz, K. Gross, M. Martini, J.M. Grichnik, M. Mihm, V.G. Prieto, P. Googe, R. King, A. Toledano, N. Kabelev, M. Wojton, D. Gutkowitz-Krusin. Arch. Dermatol., **147** (2), 188–94 (2011). DOI: 10.1001/archdermatol.2010.302
- [14] L. Matveev, V. Zaitsev, G. Gelikonov, A. Matveyev, A. Moiseev, S. Ksenofontov, V. Gelikonov, M. Sirotkina, N. Gladkova, V. Demidov, A. Vitkin. Optics Lett., **40** (7), 1472–1475 (2015). DOI: 10.1364/OL.40.001472
- [15] S.A. Alawi, M. Kuck, C. Wahrlich, S. Batz, G. Mckenzie, J.W. Fluhr, J. Lademann, M. Ulrich. Exp. Dermatol., **22** (8), 547–51 (2013). DOI: 10.1111/exd.12196
- [16] L. Themstrup, C.A. Banzhaf, M. Mogensen, G.B.E. Jemec. Photodiagn Photodyn Ther., **11** (1), 7–12 (2014). DOI: 10.1016/j.pdpdt.2013.11.003
- [17] *Multimodal optical diagnostics of cancer*, ed. by V.V. Tuchin, J. Popp, V.P. Zakharov (Springer Nature Switzerland AG, Basel, 2020).
- [18] Y. Surkov, I. Serebryakova, Y. Kuzinova, O. Konopatskova, D. Safronov, S. Kapralov, E. Genina, V. Tuchin. Diagnostics, **14** (2), 202 (2024). DOI: 10.3390/diagnostics14020202
- [19] C. Kendall, J. Hutchings, H. Barr, N. Shepherd, N. Stone. Faraday Discuss, **149** (1), 279–90 (2011). DOI: 10.1039/c005379a
- [20] Z. Huang, S.K. Teh, W. Zheng, K. Lin, K. Y. Ho, M. Teh, K.G. Yeoh. Biosens Bioelectron, **26** (2), 383–9 (2010). DOI: 10.1016/j.bios.2010.07.125
- [21] N.D. Magee, J.R. Beattie, C. Carland, R. Davis, K. McManus, I. Bradbury, D.A. Fennell, P.W. Hamilton, M. Ennis, J.J. McGarvey, J.S. Elborn. J. Biomed. Opt., **15** (2), 026015 (2010). DOI: 10.1117/1.3323088
- [22] J.F. Brennan, T.J. Romer, R.S. Lees, A.M. Tercyak, J.R. Kramer Jr., M.S. Feld. Circulation, **96** (1), 99–105 (1997). DOI: 10.1161/01.cir.96.1.99
- [23] J. Zhang, Y. Fan, Y. Song, J. Xu. Medicine, **97** (34), e12022 (2018). DOI: 10.1097/MD.00000000000012022
- [24] B. Yakimov, E. Shirshin, J. Schleusener, A. Allenova, V. Fadeev, M. Darvin. Sci. Rep., **10** (1), 14374 (2020). DOI: 10.1038/s41598-020-71220-6
- [25] A. Sdobnov, M. Darvin, J. Schleusener, J. Lademann, V. Tuchin. J. Biophotonics, **12** (5), e201800283 (2018). DOI: 10.1002/jbio.201800283
- [26] A. Cios, M. Ciepielak, Ł. Szymański, A. Lewicka, S. Cierniak, W. Stankiewicz, M. Mendrycka, S. Lewicki. Int. J. Mol. Sci., **22** (5), 2437 (2021). DOI: 10.3390/ijms22052437
- [27] I. Bratchenko, L. Bratchenko, A. Moryatov, Y. Khristoforova, D. Artemyev, O. Myakinin, A. Orlov, S. Kozlov, V. Zakharov. Experimental Dermatology, **30** (5), 652–663 (2021). DOI: 10.1111/exd.14301
- [28] Z. Wu, B. Deng, Y. Zhou, H. Xie, Y. Zhang, L. Lin, J. Ye. Advanced Science, **10** (24), 2301721 (2023). DOI: 10.1002/advs.202301721
- [29] E. Rimskaya, S. Shelygina, A. Timurzieva, I. Saraeva, E. Perevedentseva, N. Melnik, K. Kudrin, D. Reshetov, S. Kudryashov. Int. J. Mol. Sci., **24** (19), 14748 (2023). DOI: 10.3390/ijms241914748
- [30] Z. Movasaghi, S. Rehman, I.U. Rehman. Appl. Spectroscopy Rev., **42** (5), 493–541 (2007). DOI: 10.1080/05704920701551530
- [31] C. Choe, J. Lademann, M.E. Darvin. Analyst, **141** (22), 6329–6337 (2016). DOI: 10.1039/C6AN01717G

- [32] F. León-Bejarano, M.O. Méndez, M.G. Ramírez-Elías, A. Alba. *Appl. Spectrosc.*, **73** (12), 1436–1450 (2019).  
DOI: 10.1177/0003702819860121
- [33] N.J. Kline, P.J. Treado. *J. Raman Spectroscopy*, **28** (2–3), 119–124 (1997). DOI: 10.1002/(SICI)1097-4555(199702)28:2/3<119::AID-JRS73>3.0.CO;2-3
- [34] C. Camerlingo, I. Delfino, G. Perna, V. Capozzi, M. Lepore. *Sensors*, **11** (9), 8309–8322 (2011).  
DOI: 10.3390/s110908309