

Анализ корреляции спектральных характеристик рамановского рассеяния и автофлуоресценции кожи человека в видимом и ближнем ИК диапазонах

Л.А. Шамина¹, И.А. Братченко¹, Д.Н. Артемьев¹, Ю.А. Христофорова¹,
Д.В. Корнилин¹, В.Н. Гришанов¹, В.П. Захаров¹

¹Самарский национальный исследовательский университет им. академика С.П. Королева, Московское шоссе 34, Самара, Россия, 443086

Аннотация. В настоящем исследовании проанализированы спектральные характеристики кожи человека в присутствии различных влияющих факторов с помощью рамановской спектроскопии и автофлуоресцентного анализа в видимой и ближней ИК области. Проведено сравнительное исследование экспериментальных данных рамановского рассеяния и результатов автофлуоресцентного анализа. Обработка экспериментальных данных проведена с использованием методов регрессионного анализа. В результате исследования обнаружены информативные полосы рамановского рассеяния и автофлуоресценции, которые могут использоваться в качестве предикторов общего состояния организма человека.

1. Введение

Состояние внутреннего гомеостаза человека, а именно различные физиологические и патологические состояния внутренних органов - эндокринной системы, пищеварительного тракта, нервной, кровеносной, сердечно-сосудистой и других систем, тесно связаны с состоянием кожи и влияют на ее компонентный состав. Изменения в биохимии кожи являются отражением внутреннего состояния человеческого тела [1]. Поэтому анализ изменений состава различных слоев кожи человека является одной из составных частей терапевтических дисциплин. В дополнение к методам лабораторного анализа, используемым сегодня, для изучения компонентного состава кожи человека можно успешно использовать различные физические методы. Методы рамановской спектроскопии и аутофлуоресцентного анализа могут обнаруживать изменения в компонентном составе кожи на молекулярном уровне [2]. В настоящем исследовании мы использовали рамановскую спектроскопию и аутофлуоресцентный анализ в видимой и ближней ИК-области для анализа спектральных характеристик кожи человека при наличии различных влияющих факторов.

2. Материалы и методы

2.1. Экспериментальная установка

Для исследования спектральных характеристик кожи с помощью рамановской спектроскопии спектры регистрировались цифровым спектрометром. Возбуждение регистрируемых спектров

производилось излучением лазерного модуля LuxxMaster Raman Boxx фирмы PD-LD (центральная длина волны 785 нм). Фокусировка зондирующего излучения, захват и фильтрация сигнала осуществлялись с использованием Рамановского пробника RPB785 фирмы InPhotonics. Детальное описание использованного оборудования представлено в работе [3]. Регистрация рамановского спектра кожи осуществлялась в области 780 – 950 нм при разделении на три спектральных диапазона, для каждого из которых время регистрации составляло 20 секунд. Полное время регистрации итогового спектра составляло 3 минуты. Характеристики автофлуоресцентного спектра кожи человека в видимой области регистрировались переносным диагностическим флуориметром, обеспечивающий возбуждение спектров диапазоне 350-400 нм и регистрацию интенсивности излучения в диапазоне 420-600 нм. В исследовании использован переносной флуоресцентный измеритель на основе двух фотодиодов. Один канал такого флуориметра используется для измерения интенсивности аутофлуоресценции, другой (в качестве эталона) - для измерения интенсивности упруго рассеянного излучения. Более подробное описание используемого флуориметра представлено в работе [4].

2.2. Образцы кожи

В настоящей работе исследованы *in vivo* образцы кожи человека. Для анализа влияния возрастных изменений на спектральные характеристики кожи в исследование были включены 350 добровольцев в возрасте от 16 до 86 лет. При анализе корреляции спектральных характеристик рамановского рассеяния кожи и автофлуоресцентного отклика в исследование включены 45 добровольцев, не имеющих системных заболеваний. Проведенные исследования одобрены Этическим комитетом Самарского государственного медицинского университета (Министерство здравоохранения России).

2.3. Обработка экспериментальных данных

Анализ экспериментальных данных выполнен на основе анализа с использованием *method with regression on latent structures (PLS)*. Определение информативных полос спектра при построении регрессионной модели реализовано с помощью анализа распределения *variable importance in projection (VIP)* [5]. В решаемой нами задаче распределение VIP позволяет наиболее значимые при построении регрессии.

3. Результаты и обсуждение

Существует множество факторов, таких как качество жизни, перенесенные заболевания, состояние иммунитета, и др., в течении жизни влияющих на состояние кожи человека, провоцируя изменения ее биохимических показателей. В работе [6] авторами продемонстрирован и описан подход к анализу компонентного состава кожи людей различных возрастов. Авторами с помощью рамановской микроскопической системы проанализировано 5 образцов кожи и описаны возрастные особенности каждого образца. Предложенный подход позиционируется как возможность точного определения возраста человека по спектральным особенностям рамановских спектров кожи. В настоящей работе проанализирована корреляция спектральных характеристик 350 добровольцев различных возрастов. Набор полученных спектральных данных был подвергнут PLS анализу. Многомерный анализ экспериментальных данных, полученных с применением используемого экспериментального стенда без микроскопической системы, позволил установить, что среднеквадратичная ошибка определения возраста (RMSE) составила 14.7 лет, коэффициент корреляции спектральных характеристик рамановского рассеяния кожи и возраста составил 0.54. На рисунке 1 представлены VIP-показатели матрицы рамановских спектров исследуемых образцов кожи.



Рисунок 1. VIP-показатели матрицы рамановских спектров образцов кожи при построении регрессии для анализа возрастных характеристик кожи человека.

Анализ рисунка 1 позволяет выделить наиболее информативные спектральные полосы ($870-960\text{ см}^{-1}$) ($1235-1315\text{ см}^{-1}$) ($1390-1450\text{ см}^{-1}$) ($1730-1760\text{ см}^{-1}$) при построении регрессионной модели определения возрастных изменений в коже.

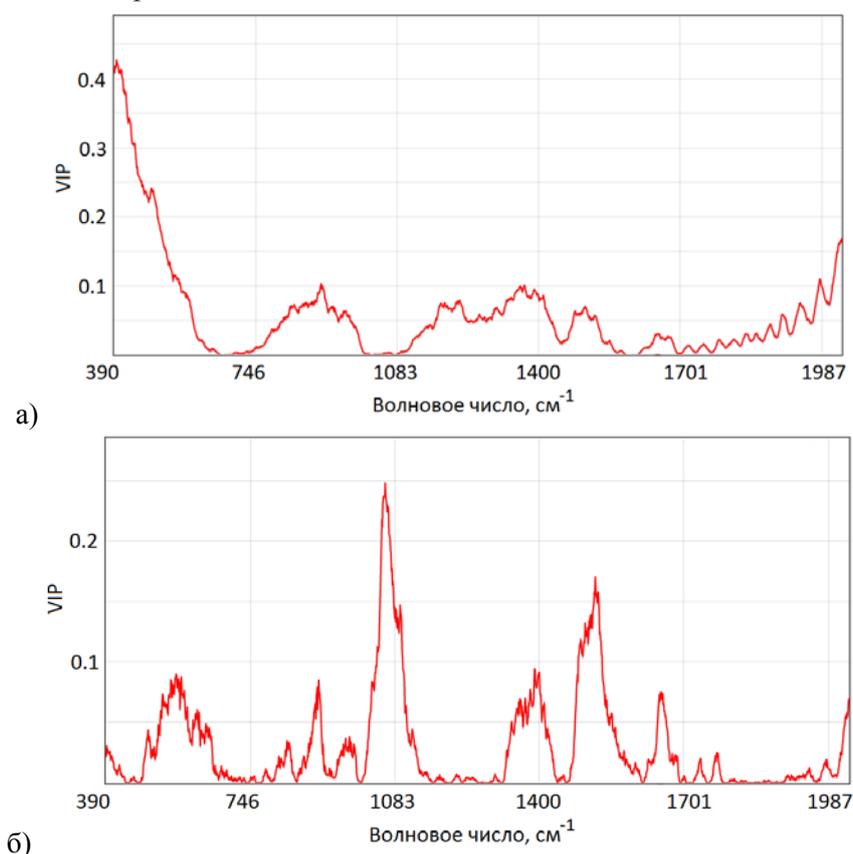


Рисунок 2. VIP показатели при построении регрессионной модели для анализа: а) при построении регрессии для анализа корреляции спектральных особенностей рамановского рассеяния кожи в ближней ИК-области и среднего арифметического значения интенсивности флуоресценции видимом регионе ($R^2=0.69$); б) при построении регрессионной модели для анализа корреляции спектральных характеристик рамановского рассеяния кожи в ближней ИК-области и интенсивности упругого рассеяния в видимом регионе ($R^2=0.70$).

В настоящее время в медицине развивается применение анализа флуоресценции кожи для диагностических целей. Исследование уровня флуоресценции кожи в диапазоне 420-600 нм позволяет установить изменения в концентрации конечных продуктов гликирования, что продемонстрировано в работе [4]. Нами проанализированы возможные корреляции полученных спектральных характеристик и флуоресценции в видимой области. На рисунке 2 (а) приведены VIP показатели матрицы спектров образцов кожи при построении регрессии для анализа корреляции спектральных особенностей рамановского рассеяния кожи в ближней ИК-области и среднего арифметического значения интенсивности флуоресценции видимом регионе ($R^2=0.69$), на рисунке 2(б) - VIP показатели при построении регрессионной модели для анализа корреляции спектральных характеристик рамановского рассеяния кожи в ближней ИК-области и интенсивности упругого рассеяния в видимом регионе ($R^2=0.70$).

4. Заключение

Выделенные и проанализированные особенности рамановских и автофлуоресцентны спектров кожи могут являться основой методов анализа физиологических процессов организма человека. Проведено сравнительное исследование экспериментальных данных рамановского рассеяния и результатов аутофлуоресцентного анализа в видимой области. В работе оценена корреляция между сигналами комбинационного рассеяния и аутофлуоресценции, а также обнаружены информационные полосы рамановского рассеяния, которые могут использоваться в качестве предикторов общего состояния организма. Эти полосы лежат в области 1170-1700 см^{-1} .

5. Благодарности

Проведенное исследование выполнено при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации и программы У.М.Н.И.К., договор No. №11672ГУ/2017 (Шамина Л.А.).

Литература

- [1] Habif, T.P. *Clinical Dermatology* / T.P. Habif. – Saunders Publisher, 2015. – 1064 p.
- [2] Tuchin, V. *Handbook of Optical Biomedical Diagnostics* / V. Tuchin. – SPIE Press Book, 2002. – 1410 p.
- [3] Bratchenko, I.A Combined Raman and autofluorescence ex vivo diagnostics of skin cancer in near-infrared and visible regions / I.A. Bratchenko, D.N. Artemyev, O.O. Myakinin, Yu.A. Khristoforova, A.A. Moryatov, S.V. Kozlov, V.P. Zakharov // *Journal of Biomedical Optics*. – 2017. – Vol. 22(2).
- [4] Kornilin, D.V. Portable fluorescence meter for medical applications / D.V. Kornilin, V.N. Grishanov // *Proceedings of SPIE-The International Society for Optical Engineering*. – 2016. – Vol. 9887.
- [5] Farrés, M. Comparison of the variable importance in projection (VIP) and of the selectivity ratio (SR) methods for variable selection and interpretation / M. Farrés, S. Platikanov, S. Tsakovski, R. Tauler // *Journal of Chemometrics*. – 2015. – Vol. 29(15). – P. 528-536.
- [6] Pezzotti, G. Raman spectroscopy of human skin: looking for a quantitative algorithm to reliably estimate human age / G. Pezzotti, M. Boffelli, D. Miyamori, T. Uemura, Yo. Marunaka, W. Zhu, H. Ikegayae // *Journal of Biomedical Optics*. – 2015. – Vol. 20(6).

Analysis of correlation between Raman and autofluorescence human skin response in visible and NIR

L.A. Shamina¹, I.A. Bratchenko¹, D.N. Artemyev¹, Y.A. Khristoforova¹, V.N. Grishanov¹, D.V. Kornilin¹, V.P. Zakharov¹

¹Samara National Research University, Moskovskoe Shosse 34, Samara, Russia, 443086

Abstract. In current study we used Raman spectroscopy and autofluorescence analysis in visible and NIR region for the analysis human skin spectral characteristics in the presence of various influencing factors. We performed the comparative research of Raman experimental data and visible autofluorescence analysis results. The processing of experimental data was performed on the bases of regression analysis. We estimated correlations between Raman and autofluorescence signals and also find informative Raman and autofluorescence bands that may be used as predictors of general condition of the body.

Keywords: Raman spectroscopy, Autofluorescence, Human skin.