

Оптическая диагностика злокачественных и доброкачественных новообразований кожи

Ю.А. Христофорова^а, И.А. Братченко^а, Д.Н. Артемьев^а, О.О. Мякин^а, А.А. Морятов^б,
О.И. Каганов^б, С.В. Козлов^б, В.П. Захаров^а

^а Самарский национальный исследовательский университет имени академика С.П. Королева, 443086, Московское шоссе, 34, Самара, Россия

^б Самарский государственный медицинский университет, 443099, ул. Чапаевская, 89, Самара, Россия

Аннотация

В данной работе проведено исследование оптических свойств тканей кожи с помощью комбинационного рассеяния (КР) и автофлуоресцентного (АФ) анализа. Анализ различных типов новообразований проводился на основании КР и АФ спектров, зарегистрированных при возбуждении тканей кожи лазерным источником с центральной длиной волны 785 нм. В работе были рассмотрены различные математические методы обработки спектральных данных, позволяющие наиболее эффективно классифицировать злокачественные и доброкачественные новообразования кожи. Разработанные методы анализа спектральных данных позволяют достичь точности дифференциации образований кожи на уровне 85%.

Ключевые слова: комбинационное рассеяние; автофлуоресценция; меланома; базальноклеточный рак; доброкачественные опухоли

1. Введение

Злокачественные опухоли кожи являются одними из наиболее распространенных новообразований в мире, для которых характерна ежегодная тенденция роста заболеваемости. Среди различных типов злокачественных новообразований наиболее распространенными являются меланома, базальноклеточный рак, плоскоклеточный рак. Самым агрессивным, среди перечисленных новообразований, является меланома, для которой 5-летняя выживаемость после удаления опухоли на I стадии составляет 98%. На последней стадии заболевания только 5-15% больных, несмотря на самое современное противоопухолевое лечение, переживают первое пятилетие. Для России характерны высокие, более чем на 5% в год, темпы прироста числа выявляемых опухолей кожи, один из самых высоких показателей заболеваемости меланомой регистрируется у жителей Самарской области [1]. Поэтому разработка новых эффективных методов диагностики заболевания является важнейшей задачей современной онкологии. Постановка правильного предварительного диагноза при опухолях кожи во многом зависит от уровня квалификации и профессионального опыта врача. Эффективность диагностики у врачей «первого контакта», как правило не превышает 50%. Использование современных, в том числе инструментальных методов уточняющей диагностики повышает точность предоперационного диагноза до 88% [2]. Проведенное исследование [3] продемонстрировало, что 40% поражений кожи с подозрениями на злокачественность оказались доброкачественными опухолями. Поэтому актуальным остается поиск методов ранней и уточняющей диагностики различных типов новообразований кожи.

Одним из развивающихся подходов неинвазивной оптической диагностики рака кожи является спектроскопия комбинационного рассеяния [4]. Комбинационное рассеяние (КР) отслеживает изменение длины волны падающего света после обмена энергией кванта света с рассеивающими молекулами. Принцип КР для исследования рака основан на том, что развитие опухоли сопровождается химическим и структурным изменениями тканей кожи на молекулярном уровне. Эти изменения отражаются в спектрах КР, которые уникальны для каждого молекулярного соединения. Сравнение спектров КР нормальной кожи, а также различных типов опухолей показало возможности их дифференциальной диагностики [5]. Помимо КР рассеянный свет в ближней инфракрасной области после взаимодействия с тканями кожи содержит автофлуоресцентный (АФ) сигнал, характер которого также зависит от биохимического состава исследуемой биоткани [6]. Автофлуоресценция представляет собой переизлучение света эндогенными флуорофорами (нуклеиновые кислоты, порфирины, белки, липиды, меланин и т.д.) после поглощения внешнего излучения. Таким образом, спектроскопия комбинационного рассеяния и автофлуоресцентная спектроскопия позволяют получить спектральную информацию о структуре тканей, на основании которой возможно провести идентификацию различных типов рака кожи.

Целью данной работы является изучение возможности применения оптических методов КР и АФ в ближней инфракрасной области для ранней неинвазивной дифференциальной диагностики злокачественных и доброкачественных новообразований кожи.

2. Материалы и методы

Исследование тканей кожи проводилось с использованием лабораторной установки, включающей в себя лазерный источник LML-785.ORB-04 с центральной длиной волны 785 нм (ширина спектральной линии 0,1 нм), спектрометр QE6500, включающий матричный ПЗС-детектор с термоэлектрическим охлаждением до -15°C, оптический пробник inPhotonics, ПК. Для регистрации спектров тканей кожи была установлена мощность лазерного излучения 200 мВт. Спектральное разрешение 0,2 нм. Время накопления сигнала 30 с.

Преимуществом данной спектроскопической системы является одновременная регистрация АФ и КР сигналов за счет системы фильтрации оптического пробника. Регистрация спектров проводилась в диапазоне 780-1000 нм. Для каждого участка биоткани было зарегистрировано 3 независимых измерения, для дальнейшего анализа рассматривалось их усредненное значение.

В данной работе были исследованы 37 злокачественных новообразований (19 меланом, 18 базальноклеточного рака) и 19 доброкачественных образований. Все *in vivo* исследования проводились с согласия пациентов. Все пациенты были старше 18 лет. Проводимые экспериментальные исследования были одобрены этическим комитетом Самарского государственного медицинского университета (СамГМУ).

3. Результаты и обсуждение

Результаты экспериментального исследования тканей кожи приведены на рисунке 1 в виде спектров АФ и КР. Спектр АФ, в области выше 800 нм, представляет собой нелинейную спадающую функцию. По рисунку 1а видно, что интенсивность АФ существенно отличается для различных типов патологий. значение интенсивности спектра АФ в области базальноклеточного рака снижается на 30-60% по сравнению с ее значением для доброкачественных образований, а значение интенсивности спектра АФ в области меланомы, в свою очередь, увеличивается до 170-250% по сравнению с базальноклеточным раком. При этом спектры АФ исследованных тканей кожи характеризуются наличием ярко-выраженных локальных максимумов в области 800-870 нм. Данные особенности АФ спектров связаны с более высокой концентрацией меланоцитов и кератиноцитов (содержащих меланин) в тканях меланомы и пигментных доброкачественных образований по сравнению с базальноклеточным раком. Меланин интенсивно флуоресцирует в ближней инфракрасной области [7], что и объясняет высокий уровень интенсивности АФ пигментных образований. Уровень интенсивности АФ доброкачественных образований варьируется в зависимости от конкретного типа образования.

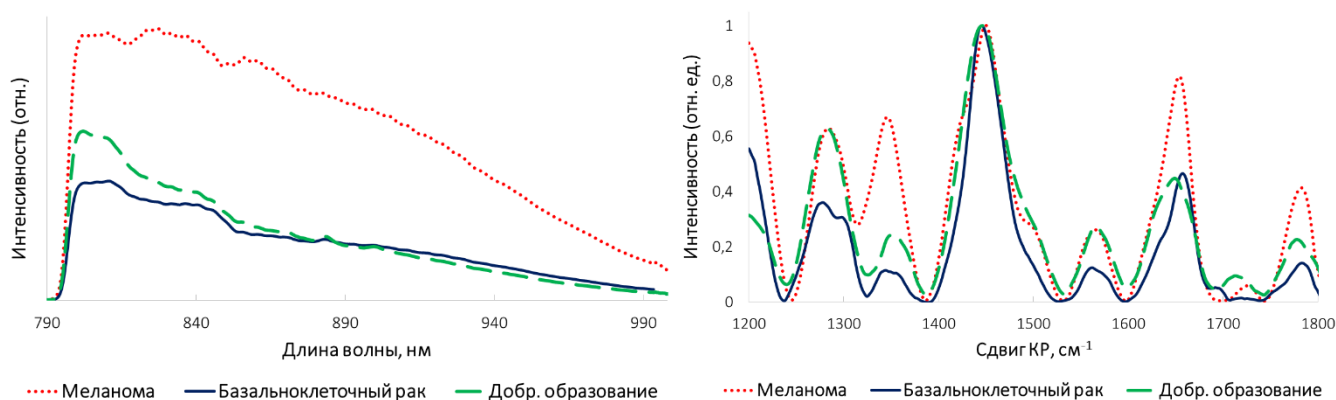


Рис.1. Спектры АФ (а) и КР (б) тканей кожи.

АФ в ближней инфракрасной области содержит информацию о количественном и качественном составе природных флуорофоров в исследуемой области биоткани, которые оказывают влияние на форму АФ кривой [6]. Учитывая различный биохимический состав меланомы, базальноклеточного рака, доброкачественных образований, в данной работе мы провели оценку формы АФ спектров новообразований в диапазоне 810-870 нм с помощью экспоненциальной аппроксимации функцией:

$$I_{ap}(\lambda) = FI_{NIR} * \exp^{FI_{NIR} \left(\frac{\lambda}{\lambda_{max}} \right)} + c$$

где коэффициент FI_{NIR} отвечает за форму аппроксимирующей функции (выпуклая/вогнутая), λ_{max} – правая граница диапазона аппроксимации 870 нм. Подробное описание расчета кривизны АФ спектра новообразований приведены в работе [8]. В качестве информативного критерия для дифференциации различных типов опухолей анализировался коэффициент FI_{NIR} , который определяет степень кривизны аппроксимирующей кривой АФ спектра.

Спектры КР (рис. 1б) характеризуются ярко-выраженными максимумами интенсивностей в полосах 1280 cm^{-1} (продольная мода $C = N$), 1320-1340 cm^{-1} (крутильные колебания, всерная мода изгибных колебаний CH_2), 1440-1460 cm^{-1} (CH_2 связь в протеинах и липидах), 1550 cm^{-1} (компоненты крови), 1640-1680 cm^{-1} (продольная мода $C = O$ Амида I). Наиболее существенные различия между меланомой, базальноклеточным раком и доброкачественными новообразованиями наблюдаются в 1320-1340 cm^{-1} , 1640-1680 cm^{-1} . Для проведения сравнительного анализа злокачественных и доброкачественных новообразований для каждого спектра КР были рассчитаны коэффициенты $I_{1320} = I_{1320}/I_{1450}$ и $I_{1650} = I_{1650}/I_{1450}$ (здесь I_i – интенсивность спектра КР i -ой на полосе).

Дифференциация различных типов новообразований проводилась с использованием бинарной логистической регрессии [9]. Данный метод позволяет определить вероятность диагноза каждого онкологического заболевания, которая рассчитывается на основании количественных признаков (I_{1320} , I_{1650} , b) при дифференциации двух классов.

При расчете вероятности диагноза из всех введенных параметров были отобраны наиболее информативные, статистическая значимость которых менее 0,05. В зависимости от классифицируемых групп значимые параметры менялись. Результаты бинарной классификации были представлены с помощью ROC-кривых и количественного параметра AUC ROC.

При дифференциации меланомы против всех новообразований наиболее значимыми параметрами были критерии I_{1320} и b . Согласно распределению апостериорных вероятностей, точность диагностики меланомы 80,4%, AUC ROC – 0,863 (рис. 2а). В случае разделения меланомы и базальноклеточного рака точность диагностики меланомы составила 85%, AUC ROC 0,923. (рис. 2б) При этом информативными параметрами были коэффициенты I_{1650} и b . Аналогичная модель была построена при дифференциации злокачественных и доброкачественных новообразований. В этой модели значимыми коэффициентами, которые позволяют достичь максимальной дифференциации между группами, стали I_{1320} , I_{1650} и b . Точность диагностики злокачественных опухолей составила 71,4%, AUC ROC – 0,848 (рис. 2 в).

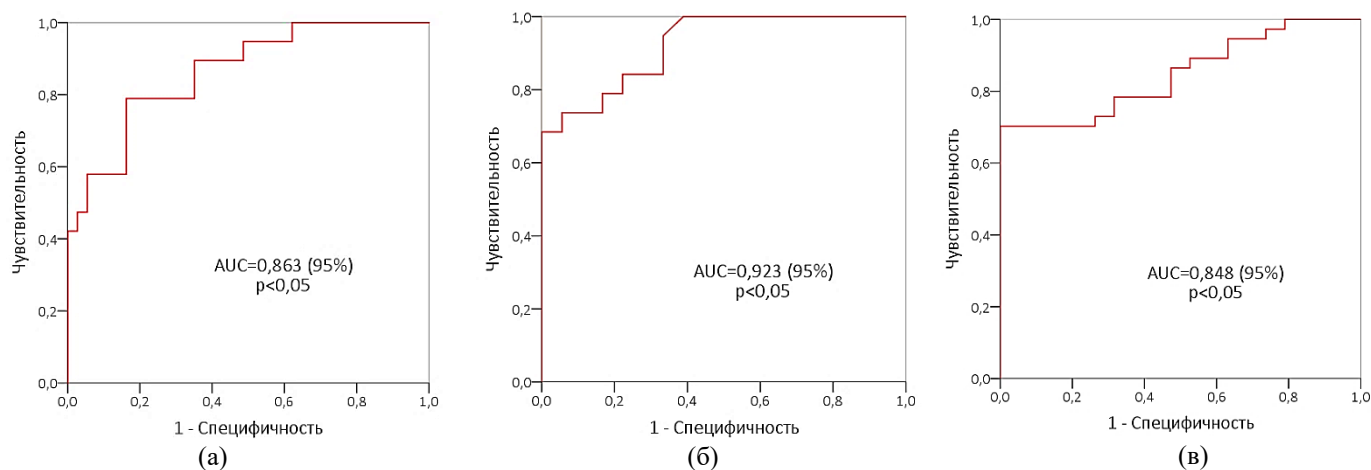


Рис.2. ROC-кривые при дифференциации (а) меланомы против всех новообразований, (б) меланомы и базальноклеточного рака, (в) злокачественных и доброкачественных образований.

Согласно проведенному исследованию, точность диагностики злокачественных и доброкачественных новообразований на 10-15% ниже точности других рассмотренных классификаций за счет низкой чувствительности. Низкая чувствительность 53% обусловлена тем, что меланома и базальноклеточный рак, которые относятся к группе злокачественных опухолей, имеют различные морфологические особенности и биохимический состав, что отражается на большом разбросе значений спектральных коэффициентов. В двух других моделях меланома и базальноклеточный рак относятся к противоположным группам, что повышает точность дифференциации меланомы до 80, 4% и 85%. При этом актуальность этих классификации обусловлена тем, что обнаружить меланому является наиболее важной задачей, поскольку ее развитие часто приводит к летальному исходу.

4. Заключение

Применение бинарной логистической регрессии к анализу коэффициентов, рассчитанных на основе зарегистрированных спектров КР и АФ, позволило добиться точности определения конкретных типов тканей кожи на уровне 70-85%. При этом точность диагностики меланомы против всех новообразований составила 80,4%, при дифференциации меланомы и базальноклеточного рака точность повысилась до 85%. Точность диагностики злокачественных новообразований против доброкачественных составила 71,4%. Учитывая, что злокачественная меланома является наиболее агрессивной формой рака, а также, что дооперационная точность диагноза меланомы составляет 29-88% [2], полученные значения следует считать важным результатом для клинической практики с учетом преимуществ используемых подходов: неинвазивности методов и высокой скорости обработки результатов. Однако в дальнейшей работе исследование новообразований кожи следует дополнить усложнением математического анализа спектральных данных для повышения точности диагностики онкологических заболеваний.

Благодарности

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ.

Литература

- [1] Козлов, С.В. Особенности заболеваемости меланомой кожи в самарской области // С.В. Козлов, Е.Ю. Неретин // Евразийский онкологический журнал. – 2014. – № 1. – С. 114.
- [2] Lin, M.J. Diagnostic accuracy of malignant melanoma according to subtype / M.J. Lin, V. Mar, C. McLean, R. Wolfe, J.W. Kelly // Australasian Journal of Dermatology. – 2012. – Vol. 55(1). – P. 35-42. DOI: 10.1111/ajd.12121.
- [3] Hallock, G.G. Prospective study of the accuracy of the surgeon's diagnosis in 2000 excised skin tumors / G.G. Hallock, D.A Lutz // Plast Reconstr Surg. – 1998. – Vol. 101. – P. 1255–61. DOI: 10.1097/00006534-199804050-00014.

- [4] Lui, H. Real-time Raman spectroscopy for in vivo skin cancer diagnosis / H. Lui, J. Zhao, D. McLean, H. Zeng // *Cancer Res.* – 2012. – Vol. 72(10). – P. 2491-2500. DOI: 10.1158/0008-5472.can-11-4061.
- [5] Козлов, С.В. Возможности спектроскопии комбинационного рассеяния для дифференциальной диагностики новообразований кожи / С. В. Козлов, В.П. Захаров, А.А. Морятков, И.А. Братченко, Д.Н. Артемьев // *Известия Самарского научного центра Российской академии наук. Социальные, гуманитарные, медико-биологические науки.* – 2015. – Т. 17, № 2-3. – С. 542-547.
- [6] Borisova, E.G. Endogenous and Exogenous Fluorescence Skin Cancer Diagnostics for Clinical Applications / E.G. Borisova, L.P. Angelova, E.P. Pavlova // *IEEE J of Selected Topics in Quantum Electronics.* – 2014. – Vol. 20(2). – 7100412. DOI: 10.1109/jstqe.2013.2280503.
- [7] Wang, S. In vivo Near-infrared Autofluorescence Imaging of Pigmented Skin Lesions: Methods, Technical Improvements and Preliminary Clinical Results / S. Wang, J. Zhao, H. Lui, Q. He, H. Zeng // *Skin Research and Technology.* – 2013. – Vol. 19. – P. 20 – 26. DOI: 10.1111/j.1600-0846.2012.00632.x.
- [8] Khristoforova, Y.A. Method of autofluorescence diagnostics of skin neoplasms in the near infrared region / Y. A. Khristoforova, I. A. Bratchenko, D. N. Artemyev, O. O. Myakinin, S. V. Kozlov, A. A. Moryatov, V. P. Zakharov // *J. Biomed. Photonics and Eng.* – 2016. – Vol. 1(3). – P. 180-185. DOI: 10.18287/jbpe-2015-1-3-186.
- [9] Frank, E. Regression Modeling Strategies: With Applications to Linear Models, Logistic Regression, and Survival Analysis / E. Frank, Jr. Harrel – New York: Springer, 2001. – P. 215-268. DOI: 10.1198/jasa.2003.s263.