

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ «САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ
ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ИМЕНИ Н.Г. ЧЕРНЫШЕВСКОГО»

На правах рукописи



Серебрякова Изабелла Анатольевна

**Развитие нового подхода к диагностике и мониторингу новообразований кожи на основе
оптического просветления**

Специальность 1.5.2. – Биофизика

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата физико-математических наук

Научный руководитель:
д.ф.-м.н., профессор Э.А. Генина

Саратов
2026

СОДЕРЖАНИЕ

Список сокращений и условных обозначений	5
Введение.....	6
Глава 1. Обзор литературы.....	16
1.1 Морфофункциональная организация кожи и ее оптические свойства	16
1.2 Новообразования кожи: клинко-морфологические особенности	18
1.3 Современные методы диагностики новообразований кожи	21
1.3.1 Инвазивные методы	21
1.3.2 Дерматоскопия	22
1.3.3 Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия	23
1.3.4 Мультиспектральная оптоакустическая томография	23
1.3.5 Спектроскопические методы	24
1.3.6 Оптическая когерентная томография.....	24
1.3.7 Высокочастотное ультразвуковое исследование	26
1.3.8 Ограничения существующих методов и нерешенные задачи	27
1.4 Текстуальный анализ медицинских изображений.....	28
1.5 Машинное обучение в диагностике новообразований кожи	29
1.6 Мультимодальные подходы в диагностике новообразований кожи.....	30
1.7 Оптическое просветление биологических тканей	31
1.8 Выводы	33
Глава 2. Сравнение эффективности оптического просветления кожи человека II и VI фототипов при комбинированном методе оптического просветления.....	34
2.1 Методы и материалы.....	35
2.2 Результаты.....	37
2.2.1 Анализ данных ОКТ интактной светлой кожи и кожи с повышенной меланиновой пигментацией.....	37
2.2.2 Оптимизация времени микродермабразии	39
2.2.3 Влияние микродермабразии и сонофореза на амплитуду сигнала ОКТ по отдельности и в комбинации	42
2.2.4 Влияние олеиновой кислоты на амплитуду сигнала ОКТ по отдельности и в комбинации с микродермабразией и ультразвуком	43
2.2.5 Кинетика изменения амплитуды сигнала ОКТ при оптическом просветлении кожи.....	45

2.2.6	Физически обусловленное оптическое просветление темной кожи.....	46
2.3	Обсуждение.....	48
2.4	Выводы.....	51
Глава 3.	Мониторинг меланоцитарных новообразований методами мультимодальной визуализации.....	52
3.1	Материалы и методы.....	54
3.1.1	Работа с лабораторными животными	54
3.1.2	Высокочастотное ультразвуковое исследование меланоцитарных новообразований.....	54
3.1.3	ОКТ визуализация меланоцитарных новообразований	55
3.1.4	Спектроскопия диффузного отражения меланоцитарных новообразований.....	55
3.1.5	Оптоакустическая визуализация меланоцитарных новообразований	55
3.1.6	Микроскопия меланоцитарных новообразований.....	56
3.1.7	Оценка содержания меланина в новообразовании	56
3.2	Результаты.....	57
3.2.1	Мультимодальный метод исследования структурных и оптических изменений меланоцитарных новообразований.....	57
3.2.2	Оценка содержания меланина в меланоцитарном новообразовании	67
3.3	Выводы.....	72
Глава 4.	Мультимодальный метод для дифференциации доброкачественных новообразований, базальноклеточного рака и его клинических форм <i>in vivo</i>	73
4.1	Материалы и методы.....	74
4.1.1	Схема исследования.....	74
4.1.2	Текстурный анализ ОКТ-изображений.....	77
4.1.3	Анализ спектральных характеристик новообразований по СДО.....	80
4.1.4	Анализ геометрических и структурных особенностей новообразований по ВЧУЗИ-изображениям.....	82
4.1.5	Предобработка данных и анализ главных компонент.....	84
4.1.6	Машинное обучение для классификации ДН и ЗН на основе одномодальных классификаторов.....	85
4.1.7	Машинное обучение для классификации ДН и ЗН на основе мультимодального классификатора.....	87

4.1.8	Машинное обучение для классификации ДН и различных клинических форм БКР на основе мультимодального классификатора	88
4.2	Результаты.....	90
4.2.1	Анализ главных компонент.....	93
4.2.2	Одномодальные классификаторы.....	99
4.2.3	Мультимодальный классификатор.....	103
4.2.4	Мультимодальный классификатор клинических форм БКР	105
4.3	Выводы.....	110
Глава 5.	Оптическое просветление доброкачественных новообразований кожи с применением мультимодального контактного геля	112
5.1	Материалы и методы.....	113
5.1.1	Компонентный состав МКГ	114
5.1.2	Схема исследования.....	115
5.2	Результаты.....	116
5.3	Выводы.....	123
	Заключение	124
	Благодарности.....	126
	Список литературы	127

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АГК — анализ главных компонент

БКР — базальноклеточный рак

ВЧУЗИ — высокочастотное ультразвуковое исследование

ГК — главная компонента (ГК1, ГК2, ... — первая, вторая и т. д. главные компоненты)

ДН — доброкачественные новообразования

ЗН — злокачественные новообразования

КР — комбинационное рассеяние

МКГ — мультимодальный контактный гель

ОА — оптоакустика (фотоакустика)

ОИ — область интереса

ОК — олеиновая кислота

ОКТ — оптическая когерентная томография

ОП — оптическое просветление

ОПА — оптический просветляющий агент

СДО — спектроскопия диффузного отражения

УЗИ — ультразвуковое исследование

ЦДК — цветовое доплеровское картирование

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы

Новообразования кожи относятся к числу наиболее распространенных патологий, требующих раннего выявления, дифференциальной диагностики и динамического наблюдения [1, 2]. Ключевая практическая проблема современной онкодерматологии состоит в том, что клинические и дерматоскопические признаки ряда доброкачественных новообразований (ДН) и злокачественных новообразований (ЗН) могут частично перекрываться, особенно на ранних стадиях, а также при атипичных клинических вариантах базальноклеточного рака (БКР) и различиях фототипа кожи [3–5]. В результате сохраняется высокая степень зависимости от морфологической верификации, которая является инвазивной, требует времени и ограничивает возможность мониторинга одного и того же очага [6–8].

Развитие неинвазивных методов визуализации и спектроскопии (оптическая когерентная томография (ОКТ) [9–13], спектроскопия диффузного отражения (СДО) [14–16], высокочастотное ультразвуковое исследование (ВЧУЗИ) [17–19], оптоакустическая (ОА) визуализация [20–22] и др.) существенно расширило диагностический инструментарий, однако физические ограничения (многократное рассеяние и поглощение в коже), вариабельность условий контакта и фототипические различия приводят к снижению воспроизводимости количественных признаков [23–27]. Одним из перспективных путей преодоления данных ограничений является оптическое просветление (ОП) как управляемый этап подготовки ткани, направленный на снижение рассеяния, увеличение эффективной глубины зондирования и повышение контрастности диагностически значимых структур [28–32]. В сочетании с мультимодальной регистрацией и количественным анализом данных ОП создает предпосылки для построения воспроизводимых диагностических критериев и алгоритмов, пригодных как для дифференциальной диагностики, так и для мониторинга изменений во времени [33–35].

Таким образом, актуальность настоящего исследования определяется необходимостью разработки неинвазивного, воспроизводимого и клинически применимого подхода к диагностике и мониторингу новообразований кожи, основанного на технологиях оптического просветления и мультимодальной регистрации данных с последующей количественной обработкой.

Степень разработанности темы

В отечественной и зарубежной литературе подробно описаны морфологические и клинические признаки ДН, меланомы и БКР, а также возможности современных инструментальных методов диагностики [6, 36, 37]. Показано, что отдельные методы визуализации и спектроскопии обеспечивают повышение диагностической информативности по сравнению с клиническим осмотром, однако сохраняются ограничения по глубине, контрасту и

воспроизводимости [9, 14, 17]. В последние годы активно развиваются мультимодальные подходы и методы машинного обучения, ориентированные на интеграцию комплементарных признаков различных модальностей [38–41]. Вместе с тем вопросы стандартизации протоколов регистрации, учета фототипа, а также интеграции оптического просветления как этапа, улучшающего физические условия измерений, остаются недостаточно полно решенными [31, 42, 43]. Это определяет научную и практическую необходимость комплексного исследования, объединяющего биофизическое обоснование ОП, его персонализацию и построение мультимодальных алгоритмов диагностики и мониторинга *in vivo*.

Целью диссертационной работы является разработка и биофизическое обоснование мультимодального подхода к диагностике и мониторингу новообразований кожи, включающего оптическое просветление как способ повышения информативности оптических измерений и количественную интеграцию данных неинвазивной визуализации.

Для достижения поставленной цели были сформулированы и решены следующие **задачи**:

1. Исследовать влияние физических методов повышения проницаемости кожи и оптического просветляющего агента на глубину зондирования и амплитуду сигнала оптической когерентной томографии *in vivo*.
2. Оценить влияние фототипа кожи и барьерных свойств эпидермиса на кинетику и выраженность оптического просветления и обосновать параметры персонализированного протокола просветления кожи.
3. Разработать и апробировать мультимодальный протокол мониторинга меланоцитарных новообразований, основанный на совместном применении оптической когерентной томографии, высокочастотного ультразвукового исследования, спектроскопии диффузного отражения и оптоакустической визуализации, с выделением количественных признаков роста новообразования.
4. Сформировать набор количественных структурных, спектральных и морфометрических признаков новообразований кожи и разработать алгоритм их интеграции для дифференциации доброкачественных новообразований и базальноклеточного рака кожи *in vivo*, а также его клинических форм.
5. Разработать мультимодальный контактный гель, совмещающий свойства оптического просветляющего агента и акустической контактной среды, и оценить его влияние на условия регистрации оптических, спектроскопических и ультразвуковых данных при исследовании доброкачественных новообразований кожи *in vivo*.

Научная новизна

1. Показано, что сонофорез без применения просветляющего агента способен увеличивать глубину оптического зондирования кожи *in vivo*; для оптической когерентной томографии с центральной длиной волны 930 нм увеличение составляет не менее 1.5 раза.
2. Разработан комбинированный протокол оптического просветления кожи II и VI фототипов с использованием микродермабразии, олеиновой кислоты и сонофореза.
3. Показано, что у кожи с повышенной меланиновой пигментацией оптическое просветление сопровождается статистически значимым увеличением сигнала оптической когерентной томографии (центральная длина волны 930 нм) на глубине 400 мкм, однако эффект ограничен более поверхностными слоями по сравнению с кожей II фототипа.
4. Для экспериментальных меланоцитарных новообразований установлена линейная зависимость ($r = 0.997$) между массой меланина и объемом новообразования.
5. Разработан мультимодальный алгоритм дифференциации доброкачественных новообразований кожи и базальноклеточного рака, допускающий неполный набор модальностей и обеспечивающий точность не менее 96% при внутренней апробации.
6. Разработан мультимодальный контактный гель, совмещающий функции оптического просветляющего агента и контактной акустической среды для оптического и ультразвукового исследования кожи.

Теоретическая значимость работы состоит в развитии биофизических представлений о контролируемом изменении оптических свойств кожи при оптическом просветлении *in vivo*, включая учет фототипа и барьерных свойств кожи, а также в обосновании принципов повышения диагностической информативности за счет интеграции оптического просветления с мультимодальной визуализацией. Полученные результаты расширяют представления о влиянии оптического просветления на глубину зондирования и воспроизводимость количественных параметров, извлекаемых из данных ОКТ, СДО, ВЧУЗИ и ОА-визуализации, и формируют основу для построения мультимодальных диагностических критериев, объединяющих структурные, спектральные и морфометрические признаки.

Практическая значимость работы определяется тем, что предложенные протоколы оптического просветления и стандартизированной мультимодальной регистрации данных, а также разработанные методы количественного анализа и алгоритмы машинного обучения могут быть использованы:

- для повышения информативности неинвазивного обследования новообразований кожи и улучшения визуализации диагностически значимых структур;

- для минимизации доли необоснованных инвазивных вмешательств посредством внедрения строгих критериев отбора клинических случаев, требующих морфологической верификации результатов;
- для динамического наблюдения новообразований и оценки признаков прогрессирования без травматизации ткани;
- при разработке программных модулей поддержки принятия решений и создании мультимодальных диагностических комплексов для клинического скрининга.

Практическая значимость подтверждается внедрением результатов в научно-исследовательскую деятельность и оформлением результатов интеллектуальной собственности.

Достоверность результатов обеспечивается корректным применением современных методов неинвазивной визуализации и спектроскопии и стандартизированных протоколов регистрации данных; воспроизводимостью измерений и использованием повторных наблюдений; сопоставлением результатов, полученных различными методами (ОКТ, СДО, ВЧУЗИ, ОА-визуализация), и их согласованностью; применением методов статистической обработки и критериев значимости; корректной процедурой обучения и валидации моделей машинного обучения с контролем переобучения; а также апробацией основных результатов на научных конференциях и публикацией в рецензируемых изданиях.

Апробация результатов

Результаты, изложенные в диссертации, были получены в рамках выполнения программ научно-исследовательских работ, поддержаны Правительством РФ № 14.Z50.31.0044 и фондами РФФИ №20-52-56005, РНФ №23-14-00287, РНФ №24-44-00082, РНФ №22-73-10194, РНФ №22-65-00096.

Основные результаты диссертации были представлены на научных всероссийских и международных конференциях:

1. Международная конференция по лазерной оптике «International Conference Laser Optics» (ICLO), Санкт-Петербург, Россия, 2024, 2026;
2. Ежегодная Международная Конференция «Saratov Fall Meeting», Саратов, Россия, 2018-2025;
3. Всероссийская научная школа-семинар «Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами», Саратов, Россия, 2020-2025;
4. Международная конференция «Advanced Laser Technologies» (ALT), Самара, Россия, 2021-2023, 2025;

5. Международной конференции по голографии и прикладным оптическим технологиям «Холозэкспо», Уфа, Россия, 2025;
6. Симпозиум «High Resolution Molecular Spectroscopy» (HighRus), озеро Байкал, Иркутск, Россия, 2023;
7. Международная конференция «Laser Applications in Life Sciences» (LALS), Нанси, Франция, 2022;
8. Китайско-российский семинар по биофотонике и биомедицинской оптике «Chinese-Russian Workshop on Biophotonics and Biomedical Optics», Саратов, Россия, 2022–2024;
9. Семинар БРИКС по биофотонике «BRICS Workshop on Biophotonics», Саратов, Россия, 2021;
10. XIX Всероссийский молодежный Самарский конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике, Самара, Россия, 2021;
11. Ежегодная Всероссийская научная школа-семинар «Методы компьютерной диагностики и искусственного интеллекта в медицине и биофизике», Саратов, Россия, 2020–2021.

По теме диссертации опубликовано **29 научных работ**, из них **3 статьи** в рецензируемых международных журналах, индексируемых Scopus и Web of Science:

1. E. A. Genina, Y. I. Surkov, **I. A. Serebryakova**, A. N. Bashkatov, V. V. Tuchin, V. P. Zharov / Rapid ultrasound optical clearing of human light and dark skin // IEEE Transactions on Medical Imaging. — 2020. — Vol. 39, No. 10. — P. 3198–3206. — DOI: 10.1109/TMI.2020.2989079.
2. Y. I. Surkov, **I. A. Serebryakova**, Y. K. Kuzinova, O. M. Konopatskova, D. V. Safronov, S. V. Kapralov, E. A. Genina, V. V. Tuchin / Multimodal Method for Differentiating Various Clinical Forms of Basal Cell Carcinoma and Benign Neoplasms *In vivo* // Diagnostics. — 2024. — Vol. 14, No. 2. — Art. 202. — DOI: 10.3390/diagnostics14020202.
3. **I. A. Serebryakova**, Y. I. Surkov, E. A. Genina, Y. K. Kuzinova, O. M. Konopatskova, V. V. Tuchin / Multimodal Ultrasound/Optical Method for Basal Cell Carcinoma Recognition Using Machine Learning // IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics. — 2026. — Vol. 32. — P. 1–9. — DOI: 10.1109/JSTQE.2026.3670391.

Патент:

Способ дифференциальной диагностики формы базальноклеточного рака кожи, № RU 2 834 804 C1, Опубликовано: 14.02.2025, Бюл. № 5, Заявка: 2024114627, 29.05.2024; Авторы: Я. К. Кузинова, С. В. Капралов, О. М. Конопацкова, В. В. Тучин, Э. А. Генина, **И. А. Серебрякова**, Ю. И. Сурков.

Публикации в материалах научных всероссийских и международных конференций:

1. E. A. Genina, Y. I. Surkov, **I. A. Serebryakova**, P. A. Timoshina, E. N. Lazareva, D. K. Tuchina, V. V. Tuchin / Tissue Optical Clearing in the Diagnosis of a Number of Pathologies // 2026 International Conference Laser Optics (ICLO). – New York : IEEE, 2026. – P. 401. — DOI: 10.1109/ICLO69056.2026.11624419.
2. Y. A. Razumov, **I. A. Serebryakova**, Y. I. Surkov, E. A. Genina, V. V. Tuchin / Modeling of Skin Diffuse Reflectance Spectra // 2026 International Conference Laser Optics (ICLO). – New York : IEEE, 2026. – P. 442. — DOI: 10.1109/ICLO69056.2026.11624907.
3. **И. А. Серебрякова**, Ю. И. Сурков, Э. А. Генина, Я. К. Кузинова, С. В. Капралов, О. М. Конопацкова, В. В. Тучин / Применение оптического просветления для повышения информативности мультимодального метода скрининга новообразований кожи // Холоэкспо 2025: Тезисы докладов XXII Международной конференции по голографии и прикладным оптическим технологиям. – Москва : МГТУ им. Н.Э. Баумана, 2025. – С. 321–323.
4. **I. A. Serebryakova**, Y. I. Surkov, E. A. Genina, V. V. Tuchin / OCT monitoring of scattering kinetics in tissue phantoms at optical clearing with depth resolution // 2024 International Conference Laser Optics (ICLO). – New York : IEEE, 2024. – P. 523.
5. В. М. Коваленко, Р. В. Шептицкий, **И. А. Серебрякова**, Ю. И. Сурков, Э. А. Генина / Применение текстурного анализа изображений оптической когерентной томографии для количественной оценки структурных изменений в мышечной ткани при оптическом просветлении *ex vivo* // Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами: Сборник статей одиннадцатой Всероссийской научной школы-семинара. – Саратов : Саратовский источник, 2024. – С. 218–222.
6. **И. А. Серебрякова**, Д. Д. Санников, Ю. И. Сурков, Э. А. Генина / Разработка метода мониторинга коэффициента рассеяния фантомов здоровой и патологической кожи при оптическом просветлении с помощью оптической когерентной томографии // Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами: Сборник статей одиннадцатой Всероссийской научной школы-семинара. – Саратов : Саратовский источник, 2024. – С. 230–236.
7. E. A. Genina, **I. A. Serebryakova**, Y. I. Surkov, E. N. Lazareva, S. M. Zaytsev, Y. K. Kuzinova, O. M. Konopatskova, V. V. Tuchin / Development of multimodal spectral approaches to study of skin cancer // XX Symposium on High Resolution Molecular

- Spectroscopy HighRus-2023: Abstracts of Reports. – Tomsk : Publishing House of IAO SB RAS, 2023. – P. 75.
8. E. A. Genina, **I. A. Serebryakova**, Yu. I. Surkov, E. N. Lazareva, V. D. Genin, S. M. Zaytsev, V. V. Tuchin / Optical multimodal study of skin tumors // Pulsed lasers and laser applications: Materials of the 16th International Conference AMPL-2023. – Tomsk : STT Publishing, 2023. – P. 140-a.
 9. Yu. I. Surkov, **I. A. Serebryakova**, Ya. K. Kuzinova, O. M. Konopatskova, D. V. Safronov, S. V. Kapralov, E. A. Genina, V. V. Tuchin / Textural markers of images of optical coherence tomography and high-frequency ultrasound imaging of various forms of basal cell carcinoma and benign neoplasms of human skin // Pulsed lasers and laser applications: Materials of the 16th International Conference AMPL-2023. – Tomsk : STT Publishing, 2023. – P. 151.
 10. **I. A. Serebryakova**, Yu. I. Surkov, E. A. Genina, V. V. Tuchin, O. M. Konopatskova, Ya. K. Kuzinova / Search for optical markers of various forms of basal cell carcinoma and benign neoplasms of human skin for early diagnosis // Pulsed lasers and laser applications: Materials of the 16th International Conference AMPL-2023. – Tomsk : STT Publishing, 2023. – P. 151–152.
 11. E. A. Genina, Y. I. Surkov, **I. A. Serebryakova**, V. D. Genin, M. Y. Kirillin, D. A. Kurakina, A. B. Bucharskaya, V. V. Tuchin / Optical clearing as an assisted technology for optical diagnostics and phototherapy of cancer // Kazan Science Week 2025: Abstracts of the 32d International Conference on Advanced Laser Technologies. – Kazan : Publishing House of FRC Kazan Scientific Center of RAS, 2025. – P. 73.
 12. E. A. Genina, **I. A. Serebryakova**, Y. I. Surkov, Y. K. Kuzinova, E. N. Lazareva, O. M. Konopatskova, V. V. Tuchin / Multimodal approach to the diagnosis of human skin cancer *in vivo* // ALT`23: Abstracts the 30th International Conference on Advanced Laser Technologies. – Moscow : LLC MESOL, 2023. – P. 84.
 13. **I. A. Serebryakova**, Yu. I. Surkov, E. N. Lazareva, Ya. K. Kuzinova, O. M. Konopatskova, V. V. Tuchin, E. A. Genina / Development of a multimodal approach to the diagnosis of human skin cancer *in vivo* // ALT`22: Abstracts the 29th International Conference on Advanced Laser Technologies. – Moscow : LLC MESOL, 2022. – P. 120.
 14. E. A. Genina, V. D. Genin, E. A. Kolesnikova, S. M. Zaytsev, Y. I. Surkov, **I. A. Serebryakova**, V. V. Tuchin / Advanced approaches to skin *in vivo* optical clearing // 16th International conference on Laser Applications in Life Sciences (LALS-2022) Book of Abstracts. 2022. – P. 80.
 15. **И. А. Серебрякова**, Ю. И. Сурков, Я. К. Кузинова, О. М. Конопацкова, В. В. Тучин, Э. А. Генина / Комплексный подход к диагностике и постоперационному мониторингу

- новообразований кожи человека *in vivo* // XX Всероссийский молодежный Самарский конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике, посвященный 100-летию со дня рождения Н.Г. Басова: Сборник трудов конференции. – Москва : Тривант, 2022. – С. 173–180.
16. Ю. И. Сурков, **И. А. Серебрякова**, Э. А. Генина / Разработка метода измерения объемной доли воды с помощью комбинирования оптической когерентной томографии и высокочастотного ультразвукового исследования // Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами: Сборник статей девятой Всероссийской научной школы-семинара. – Саратов : Саратовский источник, 2022. – С. 240–244.
 17. **И. А. Серебрякова**, Ю. И. Сурков, Э. А. Генина / Разработка состава и строения горизонтально-слоистых оптических фантомов кожи человека с различной степенью меланиновой пигментации // Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами: Сборник статей девятой Всероссийской научной школы-семинара. – Саратов : Саратовский источник, 2022. – С. 245–249.
 18. **I. A. Serebryakova**, Yu. I. Surkov, Ya. K. Kuzinova, O. M. Konopatskova, E. A. Genina, V. V. Tuchin / Development of a multimodal approach to the diagnosis of human skin cancer *in vivo* // Chinese-Russian Workshop on Biophotonics and Biomedical Optics-2022: Book of Abstracts. – Saratov : Saratov Source, 2022. – P. 48–50.
 19. **И. А. Серебрякова**, Ю. И. Сурков, Э. А. Генина, Е. Н. Лазарева, Я. К. Кузинова, О. М. Конопацкова, А. Н. Башкатов, В. В. Тучин / Неинвазивный метод исследования базально-клеточного рака кожи человека, включающий оптическое просветление // Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине — 2021: сборник статей Всероссийской школы-семинара. – Саратов : Саратовский источник, 2021. – С. 138–141.
 20. **И. А. Серебрякова**, Ю. И. Сурков, Э. А. Генина, Е. Н. Лазарева, Я. К. Кузинова, О. М. Конопацкова, А. Н. Башкатов, В. В. Тучин / Мультимодальный метод исследования новообразований кожи человека при оптическом просветлении *in vivo* // XIX Всероссийский молодежный Самарский конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике: Сборник трудов конференции. – Москва : Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Физический институт им. П. Н. Лебедева Российской академии наук, 2021. – С. 189–192.

21. E. A. Genina, E. N. Lazareva, V. D. Genin, **I. A. Serebryakova**, Y. I. Surkov, A. N. Bashkatov, M. Ali Ansari, Y. K. Kuzinova, O. M. Konopatskova, V. V. Tuchin / The development of technologies for biomedical imaging of skin cancer // ALT`21: Abstracts the 28th International Conference on Advanced Laser Technologies. – Moscow : LLC MESOL, 2021. P. 97.
22. E. A. Genina, Y. K. Kuzinova, Y. I. Surkov, **I. A. Serebryakova**, E. N. Lazareva, O. M. Konopatskova, M. Ali Ansari, V. V. Tuchin / A multimodal approach to non-invasive diagnosis of basal cell carcinoma: a pilot study // BRICS Workshop on Biophotonics — 2021: Book of Abstracts. – Saratov : Saratov Source, 2021. – P. 78–80. – DOI 10.24412/cl-36896-2021-1-78-80.
23. **И. А. Серебрякова**, Ю. И. Сурков, Э. А. Генина, А. Н. Башкатов, В. В. Тучин, В. П. Жаров / Сравнительное исследование оптического просветления кожи человека *in vivo* с различной степенью пигментации // Взаимодействие сверхвысокочастотного, терагерцового и оптического излучения с полупроводниковыми микро- и наноструктурами, метаматериалами и биообъектами: сборник статей седьмой Всероссийской научной школы-семинара. – Саратов : Саратовский источник, 2020. – С. 106–111.
24. **И. А. Серебрякова**, Ю. И. Сурков, Э. А. Генина, А. Н. Башкатов, В. В. Тучин, В. П. Жаров / Сравнительное исследование оптического просветления кожи человека II и VI фототипов *in vivo* // XVIII Всероссийский молодежный Самарский конкурс-конференция научных работ по оптике и лазерной физике. – Москва : Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Физический институт им. П.Н. Лебедева Российской академии наук, 2020. – С. 346–352.
25. **И. А. Серебрякова**, Ю. И. Сурков, Э. А. Генина, А. Н. Башкатов, В. В. Тучин, В. П. Жаров / Исследование влияния меланина на эффективность оптического просветления кожи человека // Методы компьютерной диагностики в биологии и медицине — 2020: Сборник статей Всероссийской школы-семинара. – Саратов : Саратовский источник, 2020. – С. 42–45.

Положения, выносимые на защиту:

1. Комбинированный протокол оптического просветления кожи *in vivo*, включающий микродермабразию, местное нанесение олеиновой кислоты и сонофорез, обеспечивает более чем двукратное увеличение глубины зондирования и более чем трехкратное увеличение амплитуды сигнала оптической когерентной томографии (вблизи 930 нм) в субэпидермальных слоях низкопигментированной кожи (II фототип); для

высокопигментированной кожи (VI фототип) при таком же воздействии увеличение амплитуды составляет не более 34%.

2. Увеличение объема экспериментального меланоцитарного новообразования на ранних стадиях развития сопровождается пропорциональным увеличением массы содержащегося в нем меланина. Эта взаимосвязь позволяет использовать совокупность структурных и меланин-зависимых параметров, регистрируемых методами оптической когерентной томографии, высокочастотного ультразвукового исследования, спектроскопии диффузного отражения и оптоакустической визуализации, для количественного мониторинга развития новообразования.
3. Высокая точность дифференцирования базальноклеточного рака и доброкачественных новообразований кожи *in vivo* (до 0.96 на рассмотренной выборке) может быть достигнута с помощью мультимодальной интеграции текстурных характеристик изображений оптической когерентной томографии, спектральных параметров и геометрических признаков, полученных по данным высокочастотного ультразвукового исследования.
4. Разработанный мультимодальный контактный гель, совмещающий функции оптического просветляющего агента и акустической контактной среды, может быть использован в оптико-ультразвуковом исследовании новообразований кожи *in vivo* для стандартизации контактных условий и повышения информативности оптических данных.

Личный вклад автора заключается в непосредственном участии в постановке и решении задач диссертационной работы, разработке методического и алгоритмического обеспечения исследований, проведении экспериментальных измерений, интерпретации результатов, обработке полученных данных, представлении результатов и написании научных статей.

Тематика и результаты диссертационной работы соответствуют направлению 1(4) паспорта научной специальности 1.5.2. – Биофизика: Биофизика сложных систем.

Диссертация состоит из списка сокращений, введения, пяти глав, заключения и списка используемой литературы. Общий объем диссертации составляет 138 страниц машинописного текста, работа включает 8 таблиц и 54 рисунка; список используемой литературы содержит 143 наименования.

Глава 1. Обзор литературы

1.1 Морфофункциональная организация кожи и ее оптические свойства

Кожа человека является крупнейшим органом организма и выполняет барьерную, иммунную, сенсорную и терморегуляторную функции. С морфологической точки зрения кожа состоит из трех основных слоев: эпидермиса, дермы и гиподермы, отличающихся по клеточному составу и оптическим характеристикам [44–46].

Эпидермис представляет собой многослойный плоский ороговевающий эпителий. Его толщина варьирует в зависимости от анатомической области и индивидуальных особенностей и составляет 50 – 150 мкм на тыльной поверхности кисти [45, 47]. В структуре эпидермиса выделяют базальный, шиповатый, зернистый и роговой слои. Базальный слой содержит пролиферирующие кератиноциты и меланоциты — клетки, синтезирующие меланин [48]. Дерма представлена соединительной тканью, содержащей коллагеновые и эластиновые волокна, межклеточное вещество, сосудистые и нервные структуры. Толщина дермы варьирует от 1 до 2 мм [45]. Гиподерма состоит преимущественно из адипоцитов, организованных в дольки соединительнотканными перегородками, при этом ее вклад в сигнал поверхностных оптических методов диагностики ограничен, поскольку глубина зондирования большинства неинвазивных методик обычно не превышает 1 – 2 мм [46].

Распространение света в биологических тканях количественно описывается коэффициентом поглощения μ_a [см⁻¹], коэффициентом рассеяния μ_s [см⁻¹] и фактором анизотропии g ($g \approx 0.8 - 0.95$ для кожи), характеризующим средний косинус угла рассеяния [46, 49]. Для кожи в диапазоне 800 – 1000 нм характерны значения: коэффициента поглощения $\mu_a \approx 0.1 - 1$ см⁻¹, и приведенного коэффициента рассеяния $\mu_s' \approx 5 - 15$ см⁻¹ [50, 51]. Оптические свойства кожи в видимом и ближнем инфракрасном диапазонах зависят от ее хромофорного состава. К основным поглощающим хромофорам кожи относятся меланин, гемоглобин в дезоксигенированной (восстановленной, Hb) и оксигенированной (окисленной, HbO₂) формах, вода и липиды [46, 50, 52].

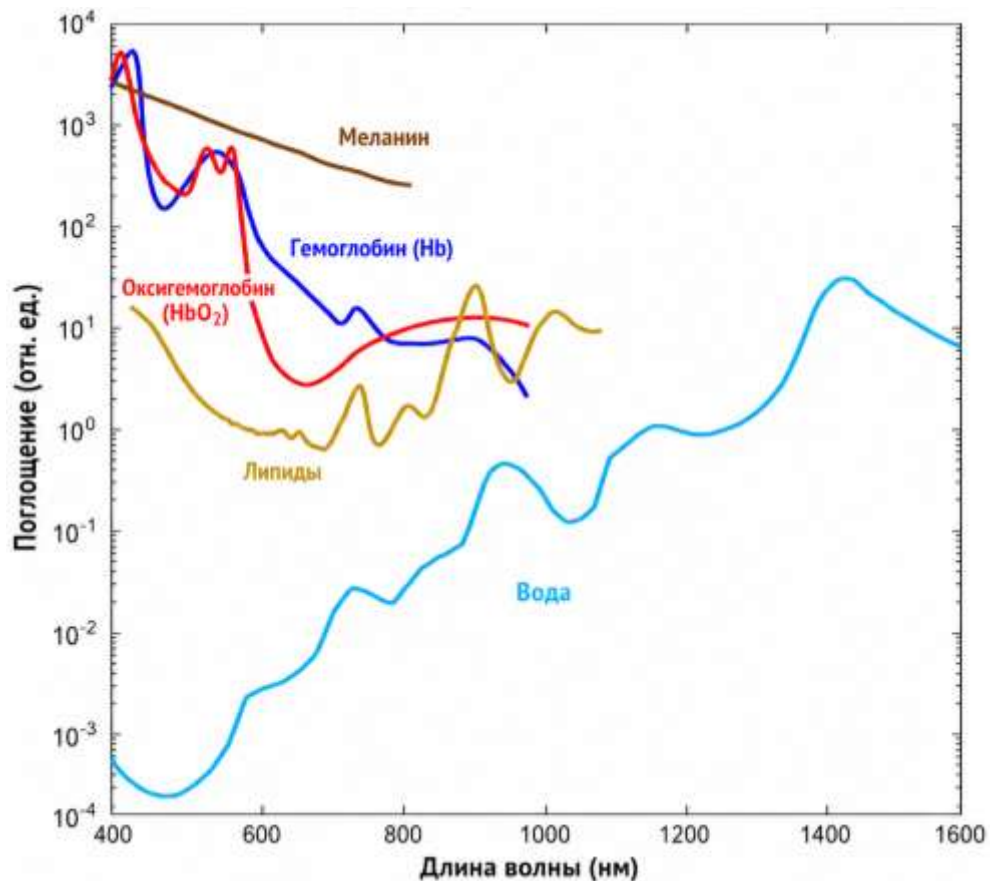


Рисунок 1.1. Спектры поглощения основных хромофоров в диапазоне длин волн от 400 до 1600 нм [53].

Меланин характеризуется поглощением в ультрафиолетовом и видимом диапазонах и постепенно снижающимся коэффициентом поглощения к ближней инфракрасной области [52]. Концентрация и распределение меланосом определяют фотозащитные свойства кожи и являются ключевым фактором классификации фототипа по шкале Фицпатрика [43, 54, 55]. Наличие гемоглобина в кровеносных сосудах дермы является основной причиной выраженных пиков поглощения на длинах волн ≈ 415 , 542 и 577 нм [56]. Различие коэффициентов поглощения дезоксигенированной и оксигенированной форм гемоглобина позволяет оценивать степень оксигенации тканей при использовании спектральных и ОА методов [56]. Вода составляет до 60 – 70% массы кожи и является доминирующим компонентом межклеточного пространства дермы [46]. Коэффициент поглощения воды возрастает в ближнем инфракрасном диапазоне, особенно на длинах волн свыше ≈ 950 нм [57]. В ближнем инфракрасном диапазоне ($\approx 700 - 1000$ нм) коэффициент поглощения гемоглобина существенно снижается, а вклад поглощения воды относительно невелик, что способствует формированию «оптического окна прозрачности» биологических тканей [52]. Липидная структура рогового слоя играет важную роль, поскольку определяет барьерные свойства кожи и влияет на эффективность ОП. Вклад

липидов в поглощение в видимом диапазоне невелик, однако в ближней инфракрасной области (1100 – 1300 нм) появляются выраженные полосы поглощения [57].

Кожа является многослойной средой с различными показателями преломления n : для рогового слоя $n \approx 1.50$, для живого эпидермиса $n \approx 1.34 - 1.40$, для коллагеновых волокон дермы $n \approx 1.44 - 1.47$ [50, 54]. Различие показателей преломления между внутриклеточными структурами и межклеточной средой ($n \approx 1.34$), пространственная неоднородность распределения и ориентации коллагеновых волокон являются причиной высокого уровня рассеяния в дерме [50].

В результате кожа может быть описана как среда с высоким коэффициентом диффузного рассеивания, в которой основным механизмом ослабления света является многократное рассеяние. Поэтому понимание морфофункциональной организации кожи и механизмов формирования ее спектральных характеристик является необходимым условием для разработки и обоснования методов уменьшения рассеяния и повышения информативности неинвазивной диагностики, включая технологии ОП.

1.2 Новообразования кожи: клинико-морфологические особенности

В клинической практике дифференциальная диагностика ДН и ЗН остается одной из ключевых задач онкодерматологии, поскольку морфологическое и оптическое сходство ряда образований затрудняет визуальную оценку.

ДН кожи представляют собой гетерогенную группу опухолеподобных процессов, характеризующихся медленным ростом, отсутствием инвазивного потенциала и метастазирования, а также сохранением дифференцировки клеток [36, 58, 59]. С морфогенетической точки зрения ДН кожи подразделяются на: эпидермальные новообразования (себорейный кератоз, папилломы), меланоцитарные новообразования (меланоцитарные невусы), соединительнотканые новообразования (дерматофиброма) и др. [36, 59–61].

Меланоцитарные невусы представляют собой ограниченные пролиферации меланоцитов с накоплением меланина в эпидермисе и/или дерме [48, 62]. С морфологической точки зрения невусы характеризуются организованной архитектурой гнезд меланоцитов, отсутствием атипии и инвазии в окружающие ткани [48]. С позиции оптических свойств невусы демонстрируют повышенный коэффициент поглощения в эпидермисе вследствие высокой концентрации меланина, что приводит к снижению глубины зондирования и уменьшению интенсивности сигнала от глубжележащих структур при использовании ОКТ [12]. В спектроскопии диффузного отражения (СДО) пигментные невусы характеризуются выраженным вкладом меланинового поглощения и относительно стабильным сосудистым компонентом [51].

Себорейный кератоз — доброкачественное эпидермальное образование, связанное с пролиферацией кератиноцитов. Гистологически определяется акантоз, гиперкератоз и наличие псевдокист [36]. В оптическом отношении данные образования отличаются утолщением эпидермиса и выраженной гетерогенностью поверхностного слоя, что приводит к усиленному рассеянию света и формированию высокоинтенсивного поверхностного сигнала в ОКТ [13].

Дерматофиброма представляет собой доброкачественное фиброзное новообразование дермы. Морфологически характеризуется уплотнением коллагенового матрикса и пролиферацией фибробластов [59, 61]. Изменение структуры коллагена приводит к увеличению коэффициента рассеяния μ_s в дерме, что может отражаться в виде усиленного обратнорассеянного сигнала и измененной текстуры изображения при ОКТ [12, 63].

Клиническая дифференциация ДН и ранних форм БКР может быть затруднена. Например: пигментированный БКР может имитировать меланоцитарный невус; поверхностная форма БКР может быть сходна с воспалительными дерматозами или себорейным кератозом [64, 65]. В связи с этим объективные неинвазивные методы диагностики имеют особое значение. С физической точки зрения различия между ДН и БКР проявляются в: распределении хромофоров (меланин, гемоглобин); степени васкуляризации; изменении архитектоники коллагенового каркаса; различиях коэффициентов рассеяния и поглощения. Количественная оценка этих параметров лежит в основе развития новых подходов к диагностике. В целом ДН кожи характеризуются отсутствием инвазивного роста и относительно стабильной структурно-функциональной организацией. Однако их оптические характеристики могут частично перекрываться с характеристиками ЗН, что требует совершенствования физических методов визуализации и анализа сигнала.

Меланома кожи представляет собой ЗН, происходящее из меланоцитов и характеризующееся высоким инвазивным потенциалом и способностью к раннему метастазированию [1, 2, 66]. Несмотря на то, что доля меланомы среди всех ЗН кожи существенно ниже, чем у БКР, именно меланома обуславливает основную смертность в структуре кожной онкопатологии [2]. Рост меланомы может происходить в две фазы: горизонтальную (радиальную), ограниченную эпидермисом, и вертикальную, сопровождающуюся инвазией в дерму и подкожно-жировую клетчатку. Толщина новообразования по Бреслоу является ключевым прогностическим фактором [67]. Гистологически меланома характеризуется атипией меланоцитов, нарушением архитектуры эпидермиса, наличием аномальной митотической активности и инвазией в дерму [2, 48]. В отличие от ДН, меланома демонстрирует дезорганизацию гнезд меланоцитов, ядерную полиморфию и утрату созревания клеток по мере углубления в дерму.

Морфологически важными признаками являются: повышение концентрации меланина; изменение плотности сосудистой сети; ремоделирование коллагенового матрикса дермы. Высокое содержание меланина обуславливает значительное увеличение коэффициента поглощения μ_a в эпидермисе и поверхностной дерме, особенно в видимом диапазоне спектра [52]. Даже в ближней инфракрасной области меланин продолжает вносить вклад в поглощение, что снижает глубину зондирования оптического сигнала.

В рамках ОКТ меланомы часто характеризуется: снижением детектируемого сигнала от глуболежащих структур вследствие выраженного поглощения, нарушением контраста границы эпидермис–дерма, неоднородностью сигнала в пределах новообразования [12]. Для спектроскопических методов характерно усиление меланинового компонента спектра отражения и изменение соотношения вкладов гемоглобина и меланина [51]. В мультиспектральной ОА-томографии меланомы демонстрирует выраженный ОА-сигнал, обусловленный высоким коэффициентом поглощения меланина. Это позволяет количественно оценивать распределение пигмента и степень васкуляризации новообразования [68].

Несмотря на принципиальные различия в биологическом поведении, в ряде случаев пигментированный БКР может клинически имитировать меланому [64]. Однако физические механизмы формирования диагностического сигнала различны: для меланомы доминирующим фактором является поглощение меланином, а для БКР более характерны изменения сосудистого компонента и коллагеновой структуры дермы. Таким образом, меланомы характеризуются выраженными изменениями хромофорного состава, что существенно влияет на коэффициент поглощения и ограничивает эффективную глубину оптического зондирования.

БКР является наиболее распространенным ЗН кожи и относится к группе немеланомных новообразований. По данным эпидемиологических исследований, на его долю приходится до 70 – 80% всех ЗН кожи [1, 2]. Несмотря на низкую метастатическую активность, БКР характеризуется местно-инвазивным ростом и способен вызывать значительное разрушение тканей при отсутствии своевременной диагностики и терапии.

В клинической практике выделяют несколько основных форм БКР: инфильтративно-язвенная, пигментированная, поверхностная, морфеаподобная (склеродермоподобная), узловатая и др. [37, 58]. Наиболее часто встречается узловатая форма, характеризующаяся медленным экзофитным ростом. Поверхностная форма проявляется в виде эритематозных бляшек с четкими границами. Инфильтративная и морфеаподобная формы отличаются агрессивным ростом и размытыми клиническими границами, что затрудняет их визуальную оценку. Пигментированная форма БКР содержит повышенное количество меланина и может имитировать меланоцитарные новообразования, включая меланому, что создает диагностические сложности.

С физической точки зрения БКР сопровождается изменениями как коэффициента рассеяния, так и коэффициента поглощения. Ремоделирование коллагенового матрикса дермы и нарушение упорядоченной структуры волокон приводят к изменению приведенного коэффициента рассеяния μ'_s . Упорядоченность коллагена снижается, изменяется индексный контраст между волокнами и межклеточной средой, что отражается на структуре обратнорассеянного сигнала при ОКТ. Увеличение сосудистой плотности приводит к росту вклада гемоглобина в суммарный коэффициент поглощения μ_a . Для непигментированных форм БКР вклад меланина невелик, а доминирующую роль играет сосудистый компонент. В пигментированной форме добавляется вклад меланина, однако его распределение часто отличается от меланомы и носит очаговый характер.

Одним из характерных признаков БКР является деструкция эпидермально-дермального соединения, что приводит к снижению контраста данной границы при ОКТ в отличие от ДН, для которых характерна сохранность структуры тканей и отсутствие инвазии. В отличие от меланомы, где доминирует меланиновый компонент поглощения, для большинства форм БКР характерно преимущественное изменение рассеяния и сосудистого компонента. Это различие принципиально важно при выборе диагностических методов: СДО позволяет оценивать изменения содержания гемоглобина и меланина; ОКТ отражает структурные изменения и распределение рассеяния; мультиспектральная ОА-томография позволяет количественно оценивать сосудистый компонент и распределение хромофоров.

В этом отношении БКР может рассматриваться как модель ЗН кожи, в которой диагностический сигнал формируется за счет комплексного изменения микроструктуры дермы, сосудистой сети и, в отдельных случаях, пигментации. Физическая природа этих изменений обосновывает выбор БКР как объекта для разработки и апробации новых неинвазивных методов диагностики.

1.3 Современные методы диагностики новообразований кожи

1.3.1 Инвазивные методы

Несмотря на активное развитие методов визуализации и спектроскопии, морфологическая верификация (биопсия с последующим гистологическим исследованием) по-прежнему остается ключевым инструментом подтверждения диагноза при новообразованиях кожи [6, 69–71]. Инвазивные методы обеспечивают прямую оценку архитектуры ткани, клеточного атипизма, инвазии и других признаков, определяющих тактику терапии. Вместе с тем именно инвазивность ограничивает их применимость в задачах скрининга и особенно мониторинга динамики

новообразования, где требуются повторные исследования и сопоставимость результатов во времени [7, 69].

Для немеланомных новообразований кожи (в т.ч. БКР) гистологическое подтверждение диагноза также является основой клинических решений. Современные клинические руководства по БКР указывают, что диагноз должен быть подтвержден гистологически по материалу биопсии и/или лечебного иссечения; исключения возможны лишь в отдельных клинических ситуациях [72]. Гистологическое исследование включает стандартную обработку материала (фиксация, проводка, окраска гематоксилином и эозином; при необходимости — иммуногистохимия) и формирование морфологического заключения. Результат гистологии определяет не только факт «ДН/ЗН», но и подтип новообразования, степень инвазии, особенности роста и параметры, влияющие на прогноз и выбор лечения (например, для меланомы — толщина по Бреслоу и т.д.) [6, 7, 69, 71]. Однако даже при гистологии существуют источники неопределенности, значимые для практики. Во-первых, частичная биопсия может не включать наиболее информативный или наиболее «агрессивный» участок образования; это относится как к меланоме (риск некорректного микростадирования) [7], так и к БКР (возможность несоответствия подтипа по биопсии и по целому новообразованию) [72]. Во-вторых, для меланоцитарных новообразований показано, что расхождения в морфологической диагностике между специалистами сохраняются и могут быть клинически значимыми, особенно в «пограничных» категориях [73]. В-третьих, биопсия и гистология не дают результата в реальном времени, а требуют длительного лабораторного цикла и участия нескольких специалистов, что ограничивает их роль как метода первичного массового скрининга и динамического наблюдения.

Развитие неинвазивных методов (дерматоскопия, ОКТ, СДО, ВЧУЗИ и др.) потенциально может позволить повысить точность диагностики и, в отличие от биопсии, обеспечить мониторинг без травматизации ткани.

1.3.2 Дерматоскопия

Дерматоскопия является неинвазивным методом исследования новообразований кожи, занимающим промежуточное положение между клинической оценкой «невооруженным глазом» и инструментальными методами послойной визуализации [3, 4, 74]. Физическая основа метода заключается в снижении вклада зеркального отражения рогового слоя (за счет контактной иммерсии и/или поляризации освещения) и получении изображения микроархитектуры эпидермиса и поверхностной дермы: пигментных структур, сосудистого рисунка, элементов регрессии и кератинизации [75, 76]. Такой уровень детализации делает дерматоскопию ключевым этапом первичного скрининга: она повышает вероятность выявления подозрительных

признаков на ранних стадиях и помогает более обоснованно направлять обследуемых на дальнейшие исследования и/или морфологическую верификацию [77, 78].

Таким образом, дерматоскопия в современной онкодерматологии является обязательным компонентом первичной оценки новообразований кожи и мониторинга в динамике, но ее максимальная эффективность достигается при интеграции с другими методами визуализации и спектроскопии.

1.3.3 Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия

Конфокальная лазерная сканирующая микроскопия в дерматологии представлена главным образом *in vivo* отражательным режимом — отражательной конфокальной микроскопией. Метод обеспечивает получение изображений кожи в реальном времени с разрешением, близким к гистологическому, и поэтому рассматривается как «оптическая биопсия» для уточняющей диагностики клинически и дерматоскопически неоднозначных новообразований кожи [79, 80]. В отличие от дерматоскопии, которая визуализирует преимущественно поверхностные паттерны, отражательная конфокальная микроскопия позволяет оценивать микроархитектонику эпидермиса и дермоэпидермального соединения на клеточном уровне и тем самым повышать диагностическую определенность до морфологической верификации. Типичные значения пространственного разрешения составляют 0.5 – 1 мкм, а глубина визуализации ограничена примерно 150 – 200 мкм, то есть преимущественно эпидермисом и сосочковым слоем дермы [79]. Данное физическое ограничение является принципиальным для интерпретации результатов и выбора клинических задач, где отражательная конфокальная микроскопия наиболее полезна.

1.3.4 Мультиспектральная оптоакустическая томография

ОА-визуализация относится к гибридным методам, объединяющим высокий оптический контраст и глубину зондирования, сравнимую с ВЧУЗИ [81]. Важное преимущество ОА-визуализации для онкодерматологии — возможность одновременно оценивать пигментный компонент (меланин) и сосудистый компонент (гемоглобин), а в мультиспектральном режиме проводить спектральное разделение вкладов основных хромофоров [20, 68, 82].

Мультиспектральная ОА-томография использует регистрацию сигналов на нескольких длинах волн и спектральное разложение, позволяя картировать распределение меланина и форм гемоглобина (HbO_2 / Hb) и, при определенных предположениях, получать функциональные показатели, связанные с оксигенацией/перфузией [68, 82]. Для новообразований кожи это важно, поскольку морфофункциональные маркеры злокачественного роста включают рост

пигментированных структур, изменение плотности сосудистой сети и ремоделирование дермального матрикса.

Обобщающие обзоры по ОА-визуализации меланомы подтверждают клинический потенциал, однако устойчивое внедрение данного метода ограничивается небольшими выборками, различиями протоколов и необходимостью стандартизации реконструкции и спектрального разложения [20, 21]. Таким образом, мультиспектральная ОА-томография занимает важное место среди современных неинвазивных методов диагностики новообразований кожи, предоставляя уникальный набор «оптически-специфических» маркеров.

1.3.5 Спектроскопические методы

Спектроскопические методы занимают особое место в диагностике новообразований кожи, поскольку предоставляют количественную информацию о хромофорном составе и функциональном состоянии за счет анализа спектральной зависимости отраженного излучения. В отличие от методов визуализации, ориентированных главным образом на морфологию, спектроскопия преимущественно чувствительна к эндогенным хромофорам (меланин, гемоглобин и его формы, вода, липиды) и интегральным оптическим параметрам, связанным с поглощением и рассеянием [14, 83].

Основные ограничения СДО связаны с тем, что метод дает интегральный сигнал из объема зондирования: спектр усредняет вклад разных слоев кожи, а специфичность индексных признаков может снижаться при воспалении, выраженной вариабельности фототипа и индивидуальных различиях базовой перфузии. Поэтому в практических протоколах часто применяют нормировку на референсный участок кожи у того же добровольца. Такая схема обеспечивает устойчивость к межиндивидуальной вариабельности и делает СДО пригодной для интеграции с другими методами.

Существенным преимуществом спектроскопии комбинационного рассеяния является потенциально более высокая биохимическая специфичность по сравнению с СДО, а ключевыми ограничениями — слабый сигнал и влияние фоновой флуоресценции, что усложняет клиническую реализацию и требует оптимизации аппаратуры и обработки [84].

1.3.6 Оптическая когерентная томография

Оптическая когерентная томография (ОКТ) является одним из ключевых методов неинвазивной визуализации новообразований кожи, поскольку позволяет получать поперечные (В-сканы) и объемные изображения тканей *in vivo* с микрометровым разрешением и в режиме реального времени [85]. В онкодерматологии ОКТ применяется для распознавания и уточнения

характеристик немеланомных ЗН кожи, прежде всего БКР, а также для дифференциальной диагностики ДН. Систематический обзор литературы по применению ОКТ при БКР показал, что метод используется для диагностики, определения границ и мониторинга лечения, однако точность варьирует между исследованиями из-за различий приборов, протоколов и критериев интерпретации [9].

В клинических исследованиях продемонстрировано, что добавление ОКТ к стандартной оценке способно существенно повышать специфичность диагностики БКР при сохранении высокой чувствительности. В исследовании М. Ulrich и др. для клинически неоднозначных непигментированных новообразований чувствительность для БКР при использовании ОКТ достигала 95.7%, а специфичность увеличивалась до 75.3% по сравнению с клиническим осмотром и дерматоскопией [65]. В исследовании J. Olsen и др. обученные наблюдатели распознавали БКР по ОКТ с чувствительностью 86 – 95% и специфичностью 81 – 98% [86]. Классическая дерматологическая ОКТ обеспечивает компромисс между разрешением и глубиной, однако существуют модификации, расширяющие диагностические возможности [10, 87].

Переход от интерпретации ОКТ-изображений к количественной оценке является важным направлением для повышения объективности диагностики. Одна из наиболее используемых величин — коэффициент ослабления/затухания ОКТ-сигнала по глубине, который отражает суммарное влияние рассеяния и поглощения и может применяться для повышения контраста и автоматизированной сегментации слоев [88]. Показано, что коэффициент ослабления, оцененный по ОКТ-данным, может выступать как объективный индикатор структурных изменений ткани и использоваться для автоматизированного анализа [89].

Главное физическое ограничение ОКТ — быстрое уменьшение полезного сигнала с глубиной из-за многократного рассеяния ограничивает визуализацию более глубоких участков дермы и подлежащих структур. В этой связи ОП (снижение рассеяния за счет дегидратации и/или выравнивания показателей преломления тканевых компартментов) рассматривается как способ увеличить информативность ОКТ-измерений. В экспериментах *in vivo* и *ex vivo* показано, что мониторинг ОП с помощью ОКТ позволяет количественно отслеживать изменения оптических свойств кожи и увеличивать глубину зондирования [90]. Работы по оценке влияния различных оптических просветляющих агентов на параметры ОКТ (коэффициент ослабления, толщину эпидермиса) также подтверждают, что ОП может заметно изменять измеряемые ОКТ-показатели и потенциально увеличивать «оптическое окно» для диагностики [91]. В работе [32] было показано, что местное нанесение оптического просветляющего агента (ОПА) может

статистически значимо увеличивать глубину зондирования ОКТ сигнала при БКР, хотя влияние на видимость отдельных ОКТ-признаков может быть неоднозначным.

ОКТ обеспечивает высокое разрешение в поверхностных слоях, но ограничена глубиной и контрастом для ряда клинических форм, поэтому наибольшую практическую ценность имеет в комбинации с другими модальностями.

1.3.7 Высокочастотное ультразвуковое исследование

Высокочастотное ультразвуковое исследование (ВЧУЗИ) в дерматологии рассматривается как метод неинвазивной визуализации, который дополняет клинический осмотр и дерматоскопию, предоставляя количественную информацию о глубине, толщине и геометрии новообразований кожи. Под ВЧУЗИ обычно понимают ультразвук с частотами не ниже 10 – 15 МГц; повышение частоты улучшает пространственное разрешение, но уменьшает глубину акустического зондирования, что делает метод особенно полезным для поверхностных структур кожи [17, 92, 93].

Ультразвуковое исследование (УЗИ) формирует изображение по отраженным сигналам, при этом эхогенность слоев кожи определяется их плотностью и акустическими свойствами (эпидермис обычно выглядит как тонкая гиперэхогенная линия, дерма — более эхогенная структура, гиподерма — относительно гипоэхогенная за счет жировой ткани) [92, 93].

Для БКР ВЧУЗИ является одним из наиболее изученных инструментов предоперационной оценки. Ранние работы показали принципиальную возможность визуализации толщины и границ БКР при использовании частот порядка 20 МГц [94]. В дальнейшем клинические исследования подтвердили применимость ВЧУЗИ для измерения толщины и сопоставления с морфологической верификацией: например, в исследовании R. Corppola и др. ВЧУЗИ использовалось для оценки толщины БКР и анализа связи с дерматоскопическими признаками [95]. В сравнительном исследовании A. Khlebnikova и др. показано, что измерение глубины инвазии БКР по данным ВЧУЗИ зависит от частоты датчика; при более высоких частотах улучшается оценка поверхностных и тонких компонентов [96].

Цветовое доплеровское картирование (ЦДК) дополняет В-режим ВЧУЗИ, позволяя оценивать гемодинамические параметры в зоне новообразования и окружающих тканях. С клинической точки зрения это важно потому, что неоангиогенез и воспаление часто сопровождаются усилением локальной васкуляризации, а оценка сосудистого компонента обеспечивает более контрастную визуализацию структурных элементов при онкодерматологическом скрининге и динамическом наблюдении [26, 92, 97, 98].

Для БКР ЦДК полезен прежде всего как компонент комплексной оценки морфологии и васкуляризации, включая планирование лечения и контроль. В клинических примерах показано, что ВЧУЗИ помогает очертить границы, а ЦДК уточняет сосудистый рисунок новообразования [19]. В исследовании [99] продемонстрирована связь ультразвуковых паттернов васкуляризации с гистологическим подтипом, что потенциально полезно для стратификации риска и планирования тактики терапии. В исследовании Karaman и др. показано, что сам факт наличия сосудистого сигнала и его распределение статистически связан с признаками злокачественности, однако специфичность остается умеренной, поэтому доплеровское картирование следует рассматривать как усиливающий, но не самостоятельный критерий [100, 101].

1.3.8 Ограничения существующих методов и нерешенные задачи

Несмотря на существенный прогресс неинвазивной диагностики новообразований кожи, ни один из современных методов в одиночку не обеспечивает одновременно высокой чувствительности к ранним изменениям, достаточной специфичности для сокращения числа необоснованных биопсий, количественной воспроизводимости как между приборами, так и между онкоцентрами, пригодности для периодического мониторинга [42]. В результате в клинической практике сохраняется зависимость от морфологической верификации, а научные разработки закономерно смещаются в сторону мультимодальных и количественных подходов. Даже при наличии качественных измерений остается вопрос: как объединять признаки разных модальностей и получать воспроизводимое решение. В литературе отмечается, что работ по одновременной интеграции нескольких модальностей с последующим применением алгоритмов машинного обучения пока сравнительно немного, хотя именно этот путь выглядит наиболее перспективным [102, 103].

На рисунке 1.2 сопоставлены типичные диапазоны пространственного разрешения и глубины зондирования для наиболее распространенных методов, применяемых при неинвазивной оценке новообразований кожи. Диаграмма на логарифмических осях наглядно демонстрирует фундаментальный компромисс «разрешение–глубина»: оптическая и конфокальная микроскопия обеспечивают наилучшее разрешение, но ограничены поверхностными слоями кожи; УЗИ низких частот проникает на существенно большую глубину, однако имеет более низкое разрешение. Промежуточное положение занимают ОКТ и ВЧУЗИ, сочетая миллиметровую глубину с существенно более высоким разрешением по сравнению с низкочастотным УЗИ. ОА-томография, используя оптический контраст при акустическом считывании, дополняет структурные методы функциональной информацией на глубинах, недоступных оптическим подходам. СДО обеспечивает интегральные спектральные маркеры и

тем самым усиливает диагностическую информативность при комбинировании с методами визуализации. В совокупности это объясняет актуальность мультимодальных подходов, где объединяются комплементарные преимущества разных методов.

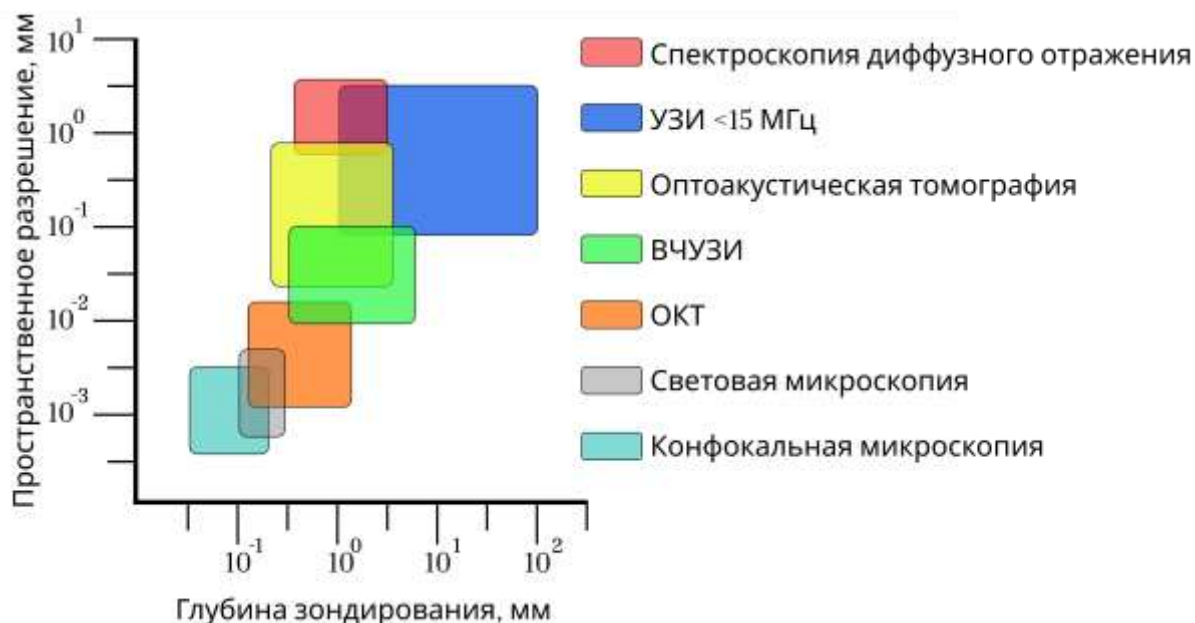


Рисунок 1.2. Сопоставление типичных диапазонов глубины зондирования и пространственного разрешения для методов, применяемых в диагностике новообразований кожи: СДО, ОКТ, ОА-томография, УЗИ и ВЧУЗИ, оптическая и конфокальная микроскопия.

Таким образом, ограничения существующих методов диагностики новообразований кожи сводятся к трем устойчивым проблемам: физические пределы (глубина/разрешение/контраст), вариабельность интерпретации и недостаточная воспроизводимость, а также дефицит стандартизованных мультимодальных протоколов.

1.4 Текстурный анализ медицинских изображений

Текстурный анализ медицинских изображений представляет собой совокупность методов количественного описания пространственной организации яркости в области интереса (ОИ), позволяющая извлекать информацию, которая может быть слабо различима при визуальной оценке. В медицинской визуализации текстурные признаки используются в рамках более широкой парадигмы радиомики, где изображение трактуется как высокоразмерный набор данных, а текстуры дополняют признаки формы и интенсивности и могут выступать неинвазивными биомаркерами состояния ткани [104, 105]. В фундаментальных обзорах подчеркивается, что выбор признаков и интерпретация «текстурности» зависят от физики метода получения изображения, масштаба и конкретной диагностической задачи [106]. Вычисление текстурных признаков опирается на стандартный алгоритм: выделение ОИ, предобработка

(подавление шумов, коррекция фона, нормировка), дискретизация уровней серого/квантование, вычисление признаков, отбор/снижение размерности пространства признаков и построение классификатора [104, 105].

Наиболее распространен статистический подход, где признаки выводятся из распределения интенсивностей и их пространственных зависимостей. Признаки первого порядка (среднее значение, стандартное отклонение, коэффициент асимметрии и коэффициент эксцесса и др.) непосредственно связаны с распределением интенсивности оттенков серого и не учитывают межпиксельные корреляции. Признаки второго порядка строятся на матрицах совместной встречаемости уровней серого (Gray Level Co-occurrence Matrix, GLCM) и отражают вероятности переходов при фиксированном межпиксельном расстоянии и направлении; на их основе рассчитываются классические признаки Харалика (контраст, однородность, энергия, корреляция, энтропия и др.), часто дополняемые энтропией как мерой пространственной неупорядоченности [107, 108]. Для описания текстуры также широко используются признаки по матрицам длин серий, которые позволяют получить информацию о текстуре исследуемого участка и протяженности однородных участков [109]. Критическим вопросом текстурного анализа в медицине является воспроизводимость: результаты зависят от разрешения и динамического диапазона изображения, параметров реконструкции, выбора ОИ, предобработки, схемы квантования и даже программной реализации признаков [110].

Для ОКТ и других методов визуализации кожи текстурный анализ особенно релевантен, поскольку ОКТ-изображения формируются в условиях выраженного рассеяния и спекл-структуры, а патологические изменения нередко проявляются как изменение гетерогенности, «зернистости» и контрастности внутренней структуры. Показано, что текстурные и оптические признаки, извлеченные из ОКТ-томограмм кожи, могут формировать универсальные модели, поддерживающие объективизацию диагностики *in vivo* [110], а трехмерный текстурный анализ ОКТ применяется и в других биомедицинских задачах для количественного описания микроархитектуры биотканей [111].

1.5 Машинное обучение в диагностике новообразований кожи

Машинное обучение в онкодерматологии применяется как инструмент повышения объективности диагностики новообразований за счет выявления закономерностей в изображениях и спектрах, которые трудно или невозможно устойчиво интерпретировать визуально. Машинное обучение используется либо как система поддержки принятия решений, либо как алгоритм, уменьшающий число необоснованных направлений на инвазивную верификацию при сохранении высокой чувствительности к ЗН. Такой подход особенно актуален

для методов, зависящих от опыта интерпретации и для данных с высокой размерностью [104, 105].

Классическое машинное обучение использует заранее извлеченные признаки (текстуры, морфометрию, спектральные индексы), после чего применяются модели классификации (логистическая регрессия, метод опорных векторов, случайный лес, градиентный бустинг и др.). Модели глубокого обучения, чаще всего сверточные нейросети, извлекают признаки напрямую из изображений; при этом во многих задачах показано, что учет клинических метаданных совместно с изображением может улучшать качество по сравнению с одним изображением [112]. На больших внутренних тестах нейросетевые модели могут демонстрировать высокие значения площади под кривой ошибок, однако при внешней валидации показатели часто снижаются из-за различий в приборах и протоколах съемки. Это прямо показано в систематическом обзоре по дерматоскопическим алгоритмам для БКР: авторы отмечают ухудшение диагностической эффективности на внешних выборках и подчеркивают необходимость «реальных» условий тестирования [113].

Таким образом, машинное обучение в диагностике новообразований кожи развивается от демонстраций высокой точности на ограниченных наборах к клинически ориентированным системам.

1.6 Мультимодальные подходы в диагностике новообразований кожи

Мультимодальные подходы в диагностике новообразований кожи в последние годы стали одним из наиболее быстро развивающихся направлений, поскольку они позволяют совместить комплементарные источники информации: морфологию (структуру слоев), геометрию и глубину распространения, сосудисто-функциональные признаки (микровакуляризация, перфузия), а также молекулярно-специфические маркеры. В отличие от одномодальных методов, где диагностическая неопределенность часто объясняется физическими ограничениями (глубина/разрешение/контраст) и вариабельностью интерпретации, мультимодальность уменьшает риск систематических ошибок за счет независимых «каналов» признаков и поэтому закономерно рассматривается как актуальная траектория развития неинвазивной онкодерматологии [38].

Одним из современных направлений является разработка интегрированных многомодальных приборов, которые обеспечивают получение со-локализованных данных в одной координатной системе и в одном протоколе обследования. Предложены системы, объединяющие ОКТ + УЗИ + спектроскопия комбинационного рассеяния для неинвазивной «оптической биопсии» меланомы, где структурный канал (ОКТ) дополняется оценкой глубины

(ВЧУЗИ) и молекулярной специфичностью (спектроскопия комбинационного рассеяния) [33]. В 2025 г. продемонстрирован единый сканирующий блок, совмещающий ОКТ, ОА-томографию, УЗИ и спектроскопию комбинационного рассеяния для *in vivo* оценки новообразований кожи [34]. Параллельно развивается класс гибридных систем УЗИ + фотоакустика, ориентированных на точное измерение размеров и глубины инфильтрации, что критично для клинического планирования вмешательства [35]. Другим устойчивым направлением являются мультимодальные комбинации внутри оптической визуализации, где совмещаются методы с разным «масштабом» изображения. В пилотных клинических протоколах для БКР показано, что комбинированная оценка отражательной конфокальной микроскопии и ОКТ применима для предоперационного и интраоперационного контроля краев резекции и демонстрирует высокие показатели диагностической точности по краям при сопоставлении с морфологией [114].

1.7 Оптическое просветление биологических тканей

ОП биологических тканей понимается как совокупность методов контролируемого снижения светорассеяния, приводящего к увеличению глубины оптического зондирования, контрастности и информативности оптических измерений. В биофотонике ОП *in vivo* ориентировано на обратимое повышение «прозрачности» биотканей для повышения эффективности диагностики и терапии [28–30].

С физической точки зрения ОП реализуется через несколько взаимосвязанных механизмов, каждый из которых минимизирует многократное рассеяние. Наиболее универсальным механизмом считается согласование показателей преломления (уменьшение контраста между внутритканевыми компартментами и межклеточной средой). Существенную роль играет осмотическая дегидратация, приводящая к уменьшению объемной доли воды, уплотнению матрикса и изменению соотношения «рассеяние/поглощение». Для коллагенсодержащих тканей описываются также структурные перестройки (включая изменение упаковки фибрилл и частичную диссоциацию агрегатов коллагена при высоких концентрациях некоторых ОПА), что дополнительно снижает рассеяние [28–30].

Для кожи типичны гидрофильные агенты (глицерин, пропиленгликоль, полиэтиленгликоли, концентрированные растворы сахаров), которые обладают выраженной гиперосмотичностью и способны выравнивать показатели преломления за счет дегидратации [28, 115, 116]. При этом ключевым ограничением именно дерматологических применений является барьерная функция рогового слоя: диффузия ОПА в дерму замедлена, а клинически приемлемое время воздействия ограничено. Поэтому в исследованиях часто используют комбинированные составы «просветляющий агент и усилитель проницаемости» (например, олеиновая кислота,

тиазон, амид угольной кислоты, и др.), позволяющие ускорить транспорт ОПА и увеличить эффективность ОП.

Ограничения химических ОПА в коже связаны не только с проницаемостью, но и с безопасностью: возможны раздражение, нарушение барьерной функции, чрезмерная дегидратация, изменение местной микроциркуляции и вариабельность эффекта в зависимости от фототипа и состояния кожи. Поэтому современные обзоры выделяют как отдельную задачу подбор клинически совместимых агентов и протоколов, обеспечивающих обратимость эффекта и минимизацию побочных реакций при сохранении диагностического потенциала [29–31]. В направлении клинической совместимости важным шагом стало количественное сравнение безопасных составов *in vivo* с использованием ОКТ, где в качестве одного из наиболее эффективных вариантов описана смесь на основе полиэтиленгликоля, олеиновой кислоты и пропиленгликоля [117].

Значительное внимание уделяется физическим методам повышения проницаемости рогового слоя кожи, используемым в комбинации с ОПА. К таким методам относятся микроперфорация (микроиглы), микродермабразия и/или другие варианты контролируемого снятия части рогового слоя, локальный нагрев, пневматическое давление, а также сонофорез, способные повышать трансдермальную диффузию ОПА за счет кавитации и микроструйных эффектов [118, 119].

В дерматологии ОП рассматривается как «усилитель» оптических методов диагностики. Для ОКТ показано, что местное нанесение глицерина способно увеличивать глубину зондирования и улучшать визуализацию признаков, важных для диагностики БКР, хотя эффект может зависеть от клинической формы и условий регистрации [32]. Для задач мониторинга ОП и подбора протоколов активно используют ОКТ как инструмент оценки изменения рассеяния во времени, включая сравнение физических, химических и комбинированных способов повышения проницаемости [90]. ОП может повышать глубину зондирования и качество ОА-визуализации сосудистых и лимфатических структур, а также усиливать сигнал в режимах, где рассеяние является главным ограничителем [120, 121]. В целом современные обзоры подчеркивают, что за последнее десятилетие *in vivo* метод ОП кожи развивается особенно быстро и становится значимым компонентом исследований [31].

Перспективы направления связывают с комбинированием метода ОП с мультимодальной визуализацией, а также с использованием алгоритмов количественного анализа для оптимизации протокола ОП и повышения диагностической воспроизводимости.

Таким образом, существующие неинвазивные методы диагностики новообразований кожи ограничены фундаментальным компромиссом между глубиной зондирования,

пространственным разрешением и контрастом, а также недостаточной воспроизводимостью количественных критериев между исследованиями. Это обосновывает развитие мультимодальных биофизических подходов, в которых ОП рассматривается как управляемый этап подготовки биоткани, улучшающий условия формирования диагностического сигнала и повышающий устойчивость количественных признаков, извлекаемых из данных ОКТ, СДО, ВЧУЗИ и ОА-визуализации.

1.8 Выводы

В главе рассмотрены морфофункциональная организация кожи и факторы, определяющие ее оптические свойства, клинко-морфологические особенности основных типов новообразований, а также возможности и ограничения ключевых методов диагностики (дерматоскопия, ОКТ, СДО, ВЧУЗИ, ОА-визуализация и др.), включая подходы текстурного анализа, машинного обучения и мультимодальной интеграции данных. Показано, что, несмотря на значительный прогресс, диагностическая эффективность отдельных модальностей по-прежнему ограничена фундаментальным компромиссом «глубина–разрешение–контраст», вариабельностью условий регистрации и межиндивидуальными различиями (в том числе связанными с фототипом), что снижает воспроизводимость количественных признаков и переносимость критериев. Отмечено, что перспективным направлением является развитие количественных мультимодальных методов, однако для их клинической применимости требуется стандартизация протоколов и улучшение физических условий формирования сигнала. В этом контексте оптическое просветление обосновано как управляемый этап подготовки ткани, потенциально уменьшающий рассеяние и повышающий информативность оптических измерений.

Глава 2. Сравнение эффективности оптического просветления кожи человека II и VI фототипов при комбинированном методе оптического просветления

В данной главе рассматривается ключевой для практического применения ОП аспект — зависимость эффективности ОП от индивидуальных оптико-структурных особенностей кожи и условий доставки ОПА для кожи II фототипа (кожа с пониженным индексом меланиновой пигментации — светлая кожа) и VI фототипа (кожа с повышенным индексом меланиновой пигментации — темная кожа). Несмотря на общность физических механизмов ОП, проявляющихся в уменьшении коэффициента рассеяния за счет согласования показателей преломления между структурными компонентами ткани и межклеточной средой, степень достижения диагностически значимого эффекта существенно варьируется как между различными участками кожи, так и между разными людьми. В клинических задачах диагностики и мониторинга новообразований кожи такая вариабельность имеет критическое значение, поскольку именно глубина зондирования, контраст границ структур и стабильность количественных параметров мультимодальных данных определяют воспроизводимость последующей интерпретации и алгоритмической классификации.

К числу основных факторов, определяющих исходные оптические свойства кожи, относится фототип, связанный прежде всего с концентрацией и распределением меланина в коже. Повышенное поглощение и дополнительное рассеяние в меланинсодержащих структурах приводят к снижению отношения сигнал/шум и уменьшению эффективной глубины зондирования при оптической визуализации, что особенно выражено для методов, чувствительных к поверхностным слоям. В этих условиях даже при одинаковом времени экспозиции и идентичном составе просветляющего агента наблюдаются различия в динамике оптического отклика, что может являться дополнительным маркером при мониторинге новообразований, содержащих различное количество меланина, и при диагностике возможных патологических изменений.

Отдельной методической задачей является повышение проницаемости кожи, поскольку эффективность ОП *in vivo* определяется не только оптическими характеристиками ткани, но и транспортом просветляющего агента в эпидермально-дермальный интерфейс и верхние слои дермы. Роговой слой является главным диффузионным барьером, и без его контролируемой модификации скорость проникновения агента и достигаемая концентрация в целевом объеме могут быть недостаточными для формирования выраженного и воспроизводимого просветляющего эффекта в клинически приемлемые сроки. Поэтому в рамках главы анализируются физические методы повышения проницаемости, обеспечивающие ускоренную доставку агента без длительного воздействия и без значимого повреждения ткани, включая

механическое поверхностное воздействие (микродермабразию) и ультразвуковое воздействие (сонофорез). Рассматривается их вклад как в повышение скорости ОП, так и в модификацию оптического отклика, регистрируемого методами мультимодальной визуализации.

Цель главы состоит в обосновании персонализированного протокола оптического просветления кожи, обеспечивающего воспроизводимое повышение информативности мультимодальных измерений у добровольцев с различными фототипами. Для ее достижения решаются следующие задачи: проводится сравнительный анализ исходных характеристик сигнала оптической визуализации для кожи различных фототипов и оценивается влияние меланина на глубину зондирования и контраст структур; исследуется динамика ОП при различных режимах воздействия и способах доставки ОПА; сравнивается эффективность методов повышения проницаемости по величине и скорости изменения количественных метрик сигнала; формируются практические рекомендации по выбору параметров протокола ОП с учетом временных условий мультимодального исследования.

Таким образом, глава 2 имеет целью создать методическую и биофизическую основу для последующих разделов диссертации, в которых ОП рассматривается не как вспомогательный метод, а как управляемый процесс ОП, повышающий воспроизводимость и диагностическую значимость мультимодальной визуализации при мониторинге и дифференциальной диагностике новообразований кожи.

2.1 Методы и материалы

В исследовании приняли участие 9 здоровых добровольцев в возрасте 19 – 26 лет с фототипами кожи II (две женщины и четыре мужчины) и VI (три мужчины) согласно шкале классификации фототипов кожи по Фицпатрику. Исследование одобрено Локальным этическим комитетом Саратовского государственного медицинского университета имени В.И. Разумовского Министерства здравоохранения России (протокол № 5 от 29.12.2018 г.). Работа выполнена в соответствии с этическими принципами, изложенными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации 2013 г. [122], а также с требованиями Федерального закона от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации». От всех участников исследования было получено информированное добровольное согласие.

В исследовании были сформированы две экспериментальные серии. Исследуемые участки кожи выбирали на дорсальной поверхности кистей обеих рук.

Контрольная серия (группы I–III) включала 5 добровольцев с II фототипом (одна женщина и четверо мужчин в возрасте 21 года): группа I — микродермабразия; группа II — сонофорез; группа III — микродермабразия с последующим сонофорезом. При сонофорезе в качестве

акустической контактной среды использовалась вода. Воздействие проводили на одном участке кожи, всего было исследовано 15 участков. Контрольная серия была сформирована для оценки, во-первых, реакции кожи непосредственно на микродермабразию, и во-вторых, влияния физических методов воздействия (микродермабразии и сонофореза) на глубину оптического зондирования кожи в отсутствие ОПА.

Основная серия (группы IV–VII) включала 6 добровольцев с II фототипом (№1 и №2 — две женщины в возрасте 19 и 23 лет соответственно, №3 — мужчина 19 лет) и с VI фототипом (№4–6 — три мужчины в возрасте 20, 23 и 26 лет соответственно): группа IV — местное нанесение олеиновой кислоты (ОК) на интактную поверхность кожи; группа V — микродермабразия с последующим однократным местным нанесением ОК; группа VI — сонофорез с ОК; группа VII — комбинация микродермабразии и сонофореза с ОК. В качестве акустической контактной среды при сонофорезе в группах VI и VII использовалась ОК. Воздействие проводилось на одном участке кожи. Всего было исследовано 24 участка кожи. Основная серия была сформирована с целью оценки увеличения глубины оптического зондирования кожи при ОП с помощью ОК.

Показатель преломления ОК (Radiacid® 0212, Oleon, Бельгия), измеренный на длине волны 930 нм и температуре 36 °C с использованием многоволнового рефрактометра DR-M2/1550 (ATAGO, Япония), составил 1.45. Микродермабразия, связанная с механическим пилингом и массажем, выполнялась с использованием устройства с сапфировой насадкой и вакуумным массажером Gézatone MD-3a 933 (Gézanne I.T.C., Франция). Поверхность кожи обрабатывалась в течение 1 – 6 мин с легким нажатием без болевых ощущений. Сонофорез выполнялся с использованием ультразвукового терапевтического устройства Dynatronics 125 (Dynatrone, США), оснащенного зондом диаметром 2 см. Использовался непрерывный режим ультразвукового воздействия с частотой 1 МГц, плотностью мощности от 0.5 до 2.0 Вт/см² и длительностью от 1 до 5 мин. Индекс меланиновой пигментации (М, Melanin pigmentation coefficient) и индекс эритемы (Е, Erythema coefficient) измерялись с использованием прибора Эритемо/меланинометра 002Е (Palomar, США). Схема и принцип измерений представлены в работе [123].

Мониторинг кожи осуществлялся с использованием спектральной системы ОКТ ОСР930SR (Thorlabs, США), работающей при центральной длине волны 930 ± 5 нм с шириной спектра на уровне половины максимума 100 ± 5 нм, числовой апертурой 0.22 и оптической мощностью 2 мВт. Длина сканируемой области составляла 2 мм. Аксиальное и латеральное разрешение в воздухе составляли 6.2 и 9.6 мкм соответственно. Каждый В-скан включал 512 А-сканов. Скорость визуализации составляла 8 кадров в секунду. Частота аксиального

сканирования составляла ~ 5 кГц. В-сканы регистрировались для интактной кожи, сразу после микродермабразии и после других воздействий каждые 5 минут. Для анализа амплитуды сигнала ОКТ на различных глубинах кожи были выбраны несколько характерных глубин: 50, 200, 400, 600, 800 и 1000 мкм. А-сканы ОКТ усреднялись по всей области сканирования. Глубина 50 мкм приблизительно соответствовала середине эпидермиса. Глубина 200 мкм соответствовала области верхнего сосудистого сплетения дермы. Глубина 400 мкм соответствовала основной толще дермы. Наконец, глубины 600, 800 и 1000 мкм располагались за пределами видимой области на В-сканах ОКТ для интактной кожи. Фоновый сигнал ОКТ измерялся заранее перед измерениями кожи. Для этого в ОКТ применялся калибровочный прибор Black Standard Calibration Device DermaType™ Skin photometer (Palomar, США) с целью исключения попадания отраженного сигнала от внешних объектов на детектор. Данный прибор функционировал как абсолютно черное тело. Для оценки кинетики сигнала ОКТ на характерных глубинах внутри кожи после различных воздействий фоновый сигнал вычитался из информативного сигнала, а полученные значения нормировались относительно сигнала интактной кожи. Все операции выполнялись с использованием данных, усредненных по экспериментальным группам.

Полученные данные представлены как среднее значение $\pm$ стандартное отклонение. Для определения статистической значимости различий между интенсивностью сигналов ОКТ на различных глубинах и фоновым сигналом использовались дисперсионный анализ и двусторонний t-критерий Стьюдента. Значение $p < 0.05$ считалось статистически значимым. Для расчета статистических параметров использовалось программное обеспечение Statistica 10 (StatSoft Inc., США).

2.2 Результаты

2.2.1 Анализ данных ОКТ интактной светлой кожи и кожи с повышенной меланиновой пигментацией

На первом этапе были получены сигналы ОКТ на различных глубинах интактных участков кожи (дорсальная поверхность кистей обеих рук) для установления базового уровня показателей у добровольцев со светлой кожей (II фототип) (рис. 2.1). Полученные значения были рассчитаны путем усреднения десяти В-сканов от всех добровольцев со светлой кожей. Пунктирные линии на рисунке 2.1а обозначают оптические глубины в коже, на которых проводилось измерение сигналов ОКТ. Также был измерен фоновый сигнал ОКТ.

Отношение сигнал/шум (SNR), выраженное в децибелах (дБ) для фонового сигнала, рассчитывалось согласно [85]:

$$SNR = 20 \log_{10} \left(\frac{A_{\text{signal}}}{A_{\text{noise}}} \right), \quad (2.1)$$

где A_{signal} — амплитуда А-скана фонового сигнала, а A_{noise} — стандартное отклонение.

Как следует из рисунка 2.1б, фоновый сигнал ОКТ уменьшался с 108.8 ± 6.3 усл. ед. до 81.2 ± 4.6 усл. ед. при увеличении глубины. Во всем исследуемом диапазоне значение отношения сигнал/шум оставалось постоянным и составляло приблизительно 25 дБ. Глубинный профиль отражательной способности ОКТ для здоровой кожи характеризуется гиперрефлексивным сигналом (от поверхности), более низким сигналом (от эпидермальной области) и более высоким сигналом (от дермальной области) [87]. Таким образом, на рисунке 2.1б нулевая глубина соответствует первому пику А-скана, который соответствует поверхности кожи; второй пик соответствует области локализации дермы (D), при этом значения между ними соответствуют зоне локализации эпидермиса (E) и области залегания условной границы между эпидермисом и дермой (ED). Как показано на рисунках 2.1б и 2.1в, на оптических глубинах от 600 до 1000 мкм сигналы от кожи и фона приблизительно равны. Расстояние между первым пиком и точкой перехода от эпидермиса к области залегания условной границы между эпидермисом и дермой (рис. 2.1б) позволило оценить оптическую толщину эпидермиса как 113 ± 8 мкм. Эпидермис состоит из двух основных слоев: роговой слой и слой живых клеток эпидермиса со средними показателями преломления 1.5 и 1.4 соответственно [46]. Соотношение толщин этих слоев составляет 25/75 для исследуемого участка кожи (дорсальная поверхность кисти) [47].

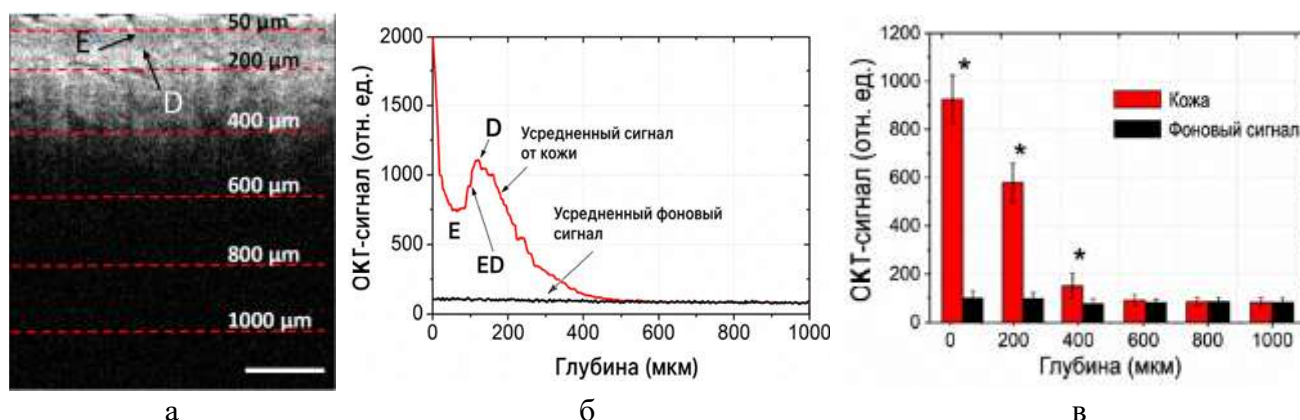


Рисунок 2.1. ОКТ-изображение светлой кожи (II фототип): (а) пример В-скана ОКТ кожи человека добровольца №2; (б) А-скан: красным обозначен А-скан, усредненный по всему В-скану участка кожи добровольца №2, черным – усредненный фоновый сигнал (стрелочка показывает на сигнал от кожи); (в) гистограмма амплитуды сигнала ОКТ кожи человека (красный) и фонового сигнала (черный) на различных глубинах, усредненная по десяти В-сканам участков кожи добровольцев №1–3. Красные пунктирные линии обозначают характерные оптические глубины в коже. E – зона локализации эпидермиса, ED – область залегания условной границы между эпидермисом и дермой, D – область локализации дермы. Горизонтальная масштабная

метка соответствует 500 мкм. Вертикальные линии соответствуют стандартному отклонению. Звездочками отмечены статистически значимые различия между сигналом ОКТ и фоновым сигналом.

Средний показатель преломления всего эпидермиса n_E оценивался согласно закону Гладстона–Дейла [124]:

$$n_E = 0.25 n_{SC} + 0.75 n_{LE} = 1.425, \quad (2.2)$$

где n_{SC} и n_{LE} — показатели преломления рогового слоя и живого эпидермиса соответственно.

С использованием этого значения среднего показателя преломления геометрическая толщина эпидермиса была рассчитана из измеренной оптической толщины (113 ± 8 мкм) и составила 79 ± 5 мкм. Данная оценка хорошо согласуется с ранее полученными данными о толщине эпидермиса человека [47].

Для кожи отношение информативного сигнала к фоновому уменьшалось с 8.3 ± 1.4 на глубине 50 мкм до примерно 1.6 ± 0.2 на глубине 400 мкм. Статистический анализ с использованием t-критерия показал значимость различий между интенсивностями информативного и фонового сигналов только до глубины 400 мкм ($p < 0.002$, отмечено звездочками на рис. 2.1в). На глубине 600 мкм и глубже отношение сигнал/фон составляло приблизительно 1.

2.2.2 Оптимизация времени микродермабразии

Для оптимизации воздействия микродермабразии на оптические свойства кожи проводился мониторинг состояния кожи с помощью ОКТ. Поверхность кожи обрабатывалась в течение 6 мин с легким нажатием без болевых ощущений. Все процедуры микродермабразии выполнялись одним специалистом для исключения влияния различий в силе прижатия устройства к коже. Все добровольцы были опрошены на предмет наличия или отсутствия дискомфорта и боли во время процедуры.

Изменение толщины эпидермиса в течение 6-минутной микродермабразии оценивалось каждую минуту с использованием усредненных А-сканов ОКТ: измеренное расстояние между пиком отражения от поверхности кожи и областью залегания условной границы между эпидермисом и дермой позволило оценить толщину удаленного эпидермиса (рис. 2.2). Толщина удаленного рогового слоя зависела от индивидуальных особенностей и исходного состояния кожи добровольца (рис. 2.3а). При более рыхлом роговом слое основная его часть удалялась в течение 1–2 мин, тогда как более плотный роговой слой демонстрировал постепенное уменьшение толщины в течение 4–6 мин.

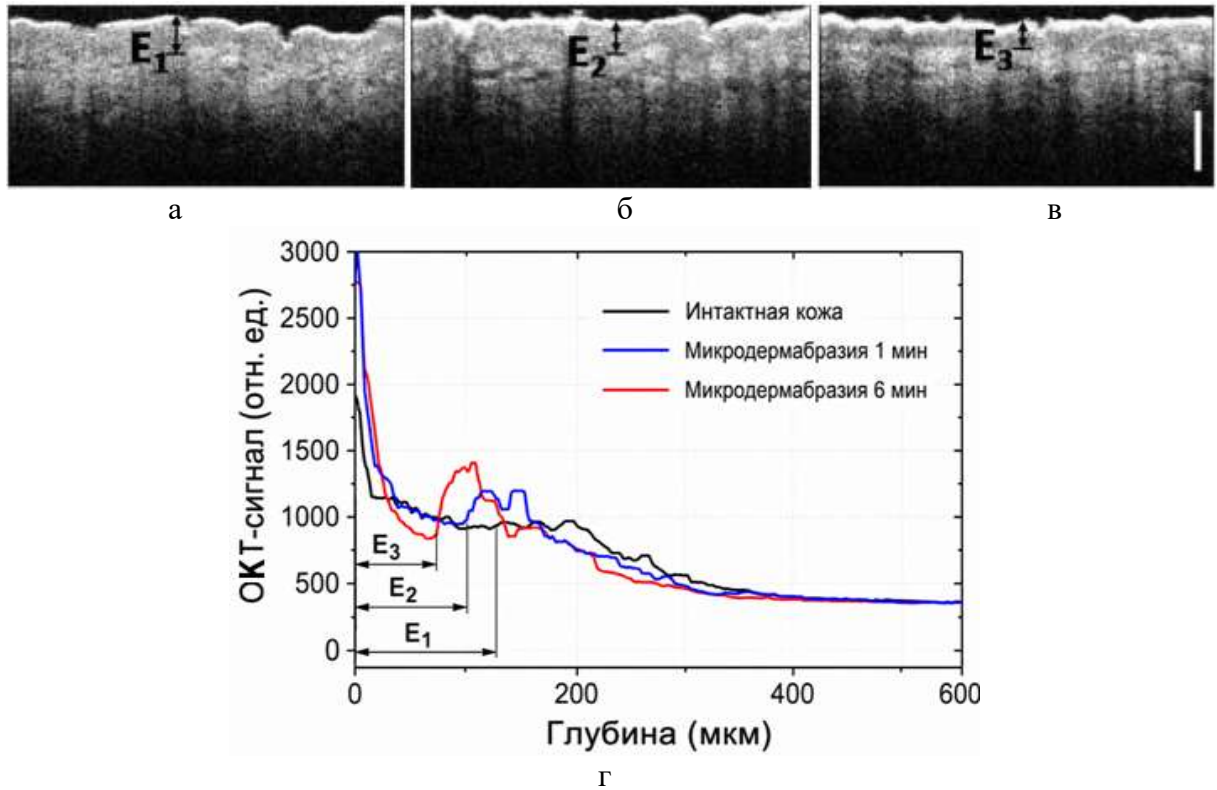


Рисунок 2.2. Изменение толщины эпидермиса при микродермabrasии: (а) пример В-скана ОКТ интактной кожи человека, (б) пример В-скана ОКТ кожи человека спустя 1 минуту воздействия микродермabrasии, (в) пример В-скана ОКТ кожи человека спустя 6 минут воздействия микродермabrasии, (г) усредненные А-сканы ОКТ кожи человека. Масштабная метка соответствует 200 мкм.

На рис. 2.3а у трех добровольцев наблюдается некоторое увеличение толщины эпидермиса после 2 – 4 мин обработки. Это может быть связано с различиями в последующих точках измерения ОКТ до и после воздействия, а также с индивидуальной физиологической реакцией кожи на микроповреждение эпидермиса, приводящей к незначительному увеличению его толщины. Однако отклонение составляло 2 – 3 мкм, что укладывается в стандартное отклонение 5 мкм для всей группы.

Для оценки оптимального времени уменьшения толщины эпидермиса при микродермabrasии использовалось выражение:

$$l(t) = A_1 \exp\left(-\frac{t}{\tau_1}\right) + l_{\min}, \quad (2.3)$$

где $l_{\min}$ — остаточная толщина эпидермиса после микродермabrasии (среднее значение 65 ± 5 мкм); A_1 — эмпирическая константа, характеризующая относительное изменение толщины; $\tau_1 = 1.5 \pm 0.3$ мин — характерное время удаления эпидермиса.

Данное выражение хорошо аппроксимирует усредненные экспериментальные данные (рис. 2.3б). Согласно рис. 2.3б, общая оптическая толщина эпидермиса уменьшилась на 18% в

течение 6 мин обработки. Поскольку уменьшение обусловлено удалением рогового слоя, фактически удаленный слой кожи составил 14 ± 5 мкм (при показателе преломления 1.5 [50]).

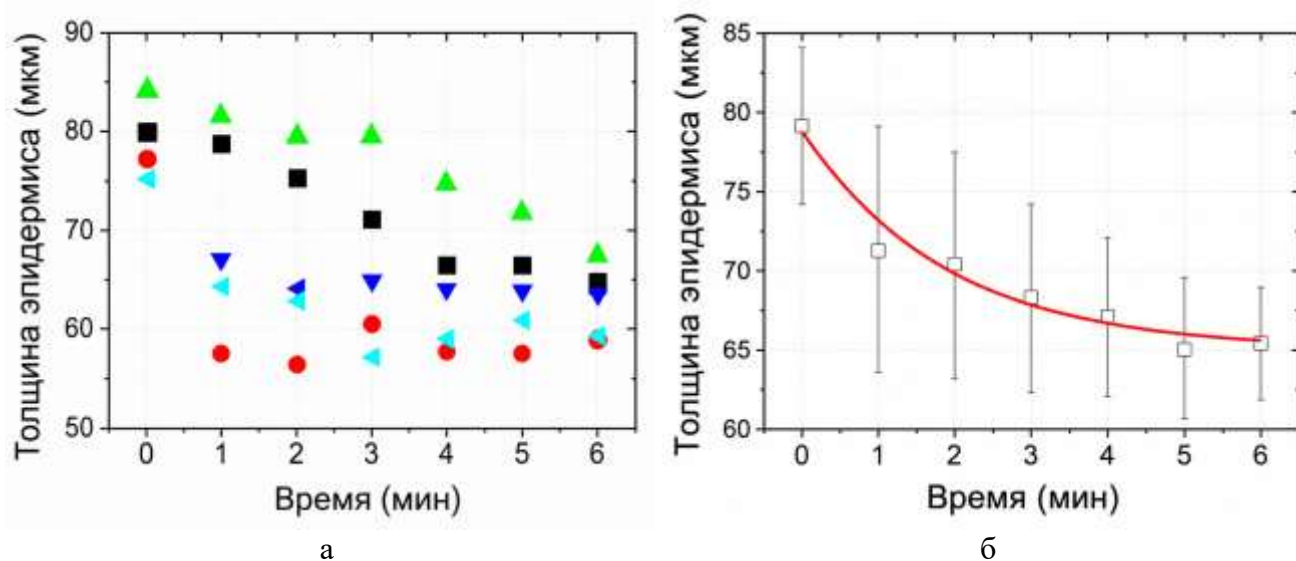


Рисунок 2.3. Зависимость толщины эпидермиса от времени микродермabrasии: (а) данные для пяти образцов от добровольцев №1–3; (б) усредненные данные. Вертикальные линии соответствуют стандартному отклонению. Символы и кривая соответствуют экспериментальным данным и их аппроксимации соответственно.

После 3 – 4 мин микродермabrasии наблюдалась легкая эритема. Некоторые добровольцы ощущали небольшой дискомфорт после 4 минут.

На рис. 2.2 можно заметить, что длительная микродермabrasия приводит к уменьшению глубины зондирования оптического сигнала, что может быть связано с физиологической реакцией кожи на микроразрушение эпидермиса в виде легкой эритемы, увеличивающей поглощение света и, следовательно, уменьшающей глубину зондирования ОКТ. Например, среднее снижение сигнала ОКТ на глубине 400 мкм составило около 20% спустя 5 – 6 мин процедуры.

Характерное время τ_1 процесса микродермabrasии, рассчитанное по уравнению (2.3), составило 1.5 мин; за это время удалялось 8 ± 4 мкм рогового слоя без появления эритемы и дискомфорта.

Таким образом, для дальнейших процедур была выбрана микродермabrasия длительностью 1.5 мин.

2.2.3 Влияние микродермабразии и сонофореза на амплитуду сигнала ОКТ по отдельности и в комбинации

Оценка влияния только микродермабразии (группа I), только сонофореза (группа II), а также комбинированного воздействия микродермабразии и сонофореза (группа III) на перераспределение рассеянного света в коже проводилась с использованием ОКТ. На изображениях ОКТ (рис. 2.4) видно, что визуализация неоднородностей в дерме улучшилась в группах II и III, обработанных ультразвуком в течение 5 мин, по сравнению с группой I без ультразвукового воздействия.

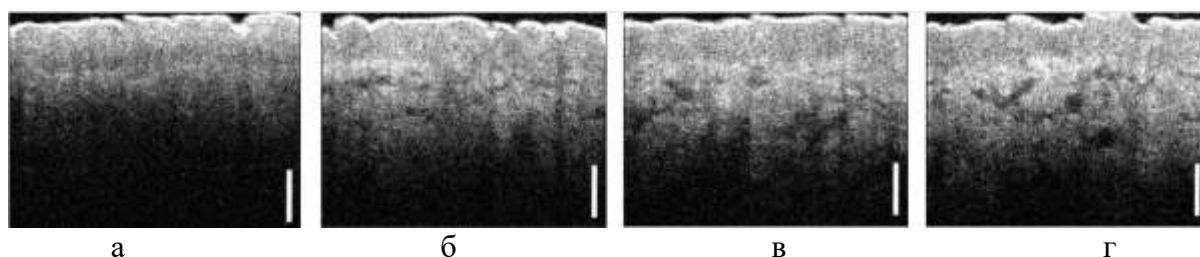


Рисунок 2.4. В-сканы ОКТ кожи человека фототипа II (доброволец №2): (а) интактная кожа, (б) кожа спустя 30 минут после 1.5 мин микродермабразии, (в) кожа спустя 30 минут после сонофореза с водой в течение 5 мин, (г) кожа спустя 30 минут после комбинированного воздействия микродермабразии и сонофореза. Масштабная метка соответствует 200 мкм.

На рисунке 2.5 отчетливо видно, что дополнительное воздействие вызывало как увеличение амплитуды сигнала ОКТ из дермы по сравнению с сигналом от интактной кожи, так и соответствующее повышение контраста тканевых неоднородностей на В-сканах. В частности, появление пиков и провалов на усредненных А-сканах связано с отражением света от различных неоднородностей, включая микрососуды.

Была проанализирована амплитуда сигнала ОКТ относительно фоновых сигналов на глубинах от 400 до 1000 мкм.

Среднее отношение на глубине 400 мкм составило:

- 1.70 ± 0.15 — при одной только микродермабразии (группа I),
- 2.20 ± 0.20 — при одном только сонофорезе (группа II),
- 2.23 ± 0.20 — при микродермабразии с последующим сонофорезом (группа III).
- Для интактной кожи этот показатель составлял 1.6 ± 0.15 .

На глубине 600 мкм отношение составило:

- 1.20 ± 0.03 — для группы I,
- 1.10 ± 0.03 — для групп II и III.
- Для интактной кожи данное отношение составляло 1 ± 0.01 .

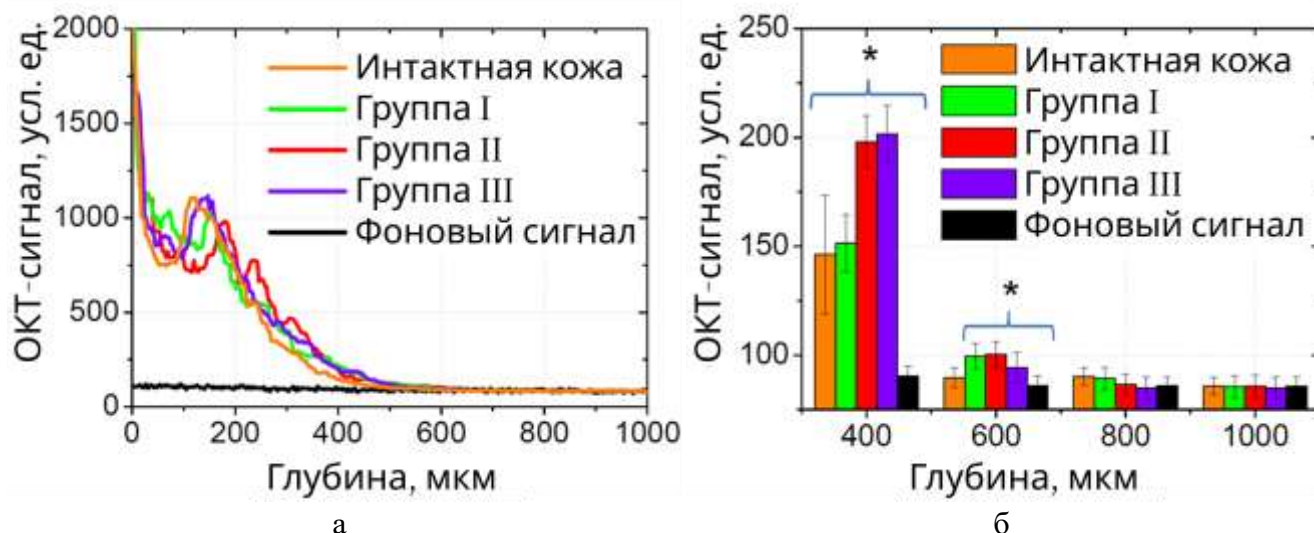


Рисунок 2.5. ОКТ-сигналы для светлой кожи. (а) Примеры А-сканов для интактной кожи и после различных воздействий (доброволец №2): микродермабразия в течение 1.5 мин (группа I), сонофорез в течение 5 мин (группа II) и микродермабразия с последующим сонофорезом (группа III). (б) Гистограмма усредненных амплитуд ОКТ-сигнала от кожи человека и фонового сигнала на анализируемых глубинах (добровольцы №1–3). Вертикальные отрезки соответствуют стандартному отклонению. Фигурные скобки со звездочками объединяют группы со статистически значимыми различиями между ОКТ-сигналом и фоновым сигналом.

2.2.4 Влияние олеиновой кислоты на амплитуду сигнала ОКТ по отдельности и в комбинации с микродермабразией и ультразвуком

Результаты тех же способов воздействия на кожу, описанных выше, но с использованием ОК, представлены на рисунках 2.6 и 2.7. В данной серии были выполнены четыре способа воздействия: нанесение ОК на интактную поверхность кожи (группа IV); микродермабразия с последующим однократным нанесением ОК (группа V); нанесение ОК и сонофорез (группа VI); микродермабразия с последующим нанесением ОК и сонофорез (группа VII).

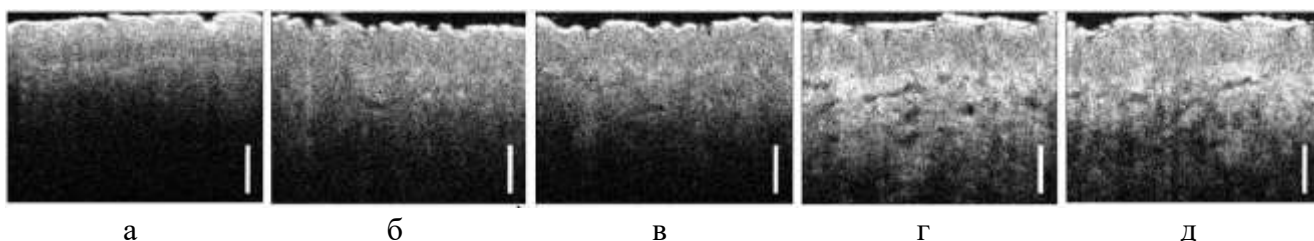


Рисунок 2.6. В-сканы ОКТ кожи человека фототипа II (доброволец №2): (а) интактная кожа, (б) кожа спустя 30 минут после местного нанесения ОК на интактную поверхность кожи (группа IV), (в) кожа спустя 30 минут после микродермабразии с последующим однократным нанесением ОК (группа V), (г) кожа спустя 30 мин сонофореза с ОК (группа VI), (д) кожа спустя 30 мин после

комбинированного воздействия микродермабразии с последующим сонофорезом с ОК (группа VII). Масштабная метка соответствует 200 мкм.

Отношение амплитуды сигнала ОКТ к фоновому сигналу оценивалось на глубине 400 мкм и составило 1.6 ± 0.1 для групп IV–V и 3.6 ± 0.1 для групп VI–VII. По сравнению с интактной кожей это отношение увеличилось в 2.3 раза для групп VI и VII и не изменилось для групп IV и V. На глубине 600 мкм отношение составило:

- 1.1 ± 0.02 — для групп IV–V,
- 1.4 ± 0.04 — для группы VI,
- 1.7 ± 0.03 — для группы VII.

На глубине 800 мкм отношение составило 1.1 ± 0.03 для групп VI–VII. Отношение сигнал/фон было близким к единице на глубине 800 мкм для групп IV и V и на глубине 1000 мкм для всех групп.

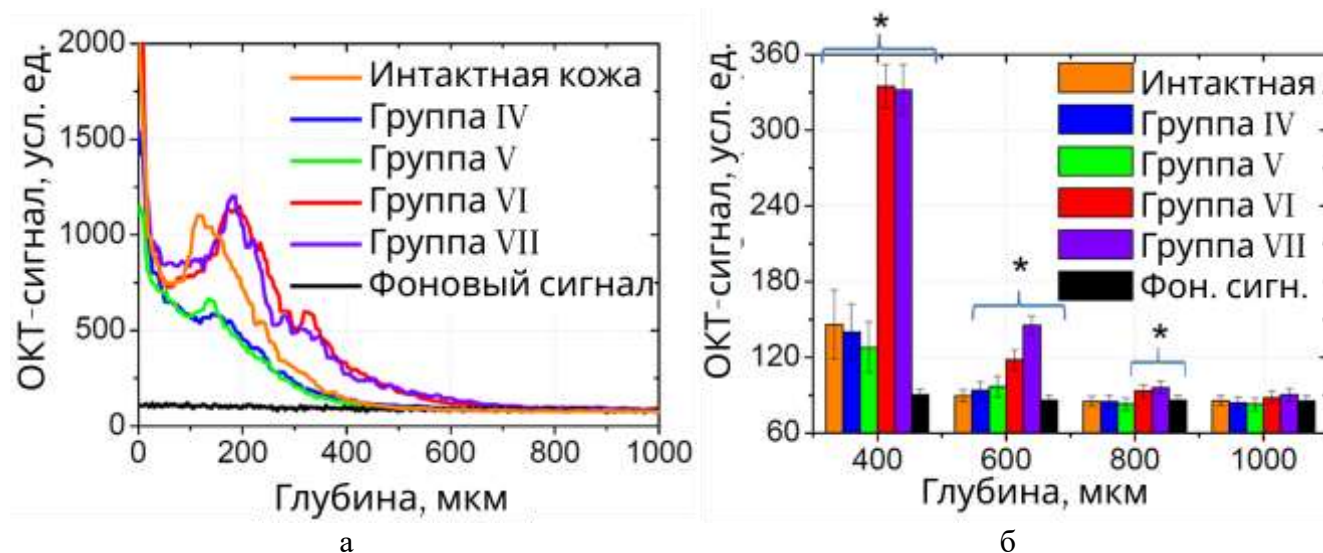


Рисунок 2.7. Иммерсионное ОП светлой кожи с применением олеиновой кислоты и физических методов повышения проницаемости кожи. (а) Примеры А-сканов для интактной кожи и после различных воздействий (доброволец №2): нанесение ОК на интактную поверхность кожи (группа IV), микродермабразия с последующим однократным нанесением ОК (группа V), комбинированное применение ОК и сонофореза (группа VI) и микродермабразия с последующим нанесением ОК и сонофорезом (группа VII). (б) Гистограмма усредненных амплитуд ОКТ-сигнала от кожи человека и фонового сигнала на анализируемых глубинах (добровольцы №1–3). Вертикальные отрезки соответствуют стандартному отклонению. Фигурные скобки со звездочками объединяют группы со статистически значимыми различиями между ОКТ-сигналом и фоновым сигналом.

Согласно дисперсионному анализу, для групп I–VII информативные сигналы ОКТ и фон статистически значимо различались ($p < 0.01$) на глубинах 400 и 600 мкм. На глубине 800 мкм статистически значимое отличие от фонового сигнала наблюдалось только для групп VI и VII ($p < 0.05$). Как было показано ранее, для интактной кожи различия между информативным и фоновым сигналами на глубине 600 мкм и глубже не были статистически значимыми.

2.2.5 Кинетика изменения амплитуды сигнала ОКТ при оптическом просветлении кожи

Нормированная кинетика амплитуды сигнала ОКТ на выбранных глубинах представлена на рисунке 2.8. Наблюдалось снижение сигнала ОКТ от эпидермиса сразу после микродермабразии в группах I, III, V и VII на $9 \pm 1\%$ (рис. 2.8а). Это может быть обусловлено незначительным увеличением рассеяния света от поверхности кожи вследствие частичного удаления рогового слоя, пропитанного кожным салом. Кроме того, возможно легкое физиологическое реагирование кожи на микроповреждение эпидермиса. Постепенное увеличение интенсивности сигнала от эпидермиса до исходного уровня, вероятно, связано с постепенным восстановлением состояния кожи. Воздействие ультразвука в группах II и III увеличивало сигнал ОКТ от эпидермиса на $11 \pm 4\%$ и $12 \pm 5\%$ соответственно. На рисунках 2.6г и 2.6д видно, что яркость эпидермиса стала выше, чем у интактной кожи (рис. 2.6а), что, по-видимому, связано с увеличением эпидермальных неоднородностей вследствие ультразвукового воздействия. В отличие от контрольных групп, нанесение ОК приводило к эффекту оптического согласования в эпидермисе; поэтому интенсивность сигналов ОКТ уменьшалась под действием ОК в группах IV–VII (рис. 2.8е). Минимальное снижение наблюдалось в группе V — $20 \pm 7\%$ при использовании ОК с микродермабразией, а максимальное — в группе VII $35 \pm 5\%$ после комбинированного воздействия микродермабразии с последующим сонофорезом с ОК. Таким образом, количество света, отраженного от эпидермальных неоднородностей, уменьшалось вследствие лучшего согласования показателей преломления, и большее количество света проникало в дерму.

На рисунке 2.8б и 2.8ж представлены результаты на оптической глубине 200 мкм. Наблюдается ~1.5-кратное увеличение амплитуды сигнала ОКТ для группы VII с мультимодальной обработкой, что согласуется с уменьшением отражательной способности эпидермиса. Остальные группы демонстрировали сигналы ОКТ на уровне интактной кожи или ниже. Существенное относительное увеличение сигналов ОКТ наблюдалось на глубинах 400 – 600 мкм через 15 мин после начала ультразвуковой обработки (рис. 2.8в, г, з, и). На глубине 400 мкм среднее увеличение сигнала ОКТ составило: около 1.5 раза для группы II; около 2 раз для групп III, VI и VII. На глубине 600 мкм среднее увеличение сигнала ОКТ составило: около

1.7 раза для группы VI; около 2 раз для группы VII. В контрольных группах без применения ОК за этот период среднее увеличение амплитуды сигнала ОКТ составляло приблизительно 1.4 и 1.7 раза для групп II и III соответственно. На глубине 800 мкм сигнал ОКТ был близок к исходному уровню во всех контрольных группах I – III. В то же время для групп VI и VII через 15 мин среднее увеличение сигнала ОКТ составило 2.3 и 2.8 раза соответственно. Через 30 мин увеличение достигало 2.8 и 3.3 раза соответственно.

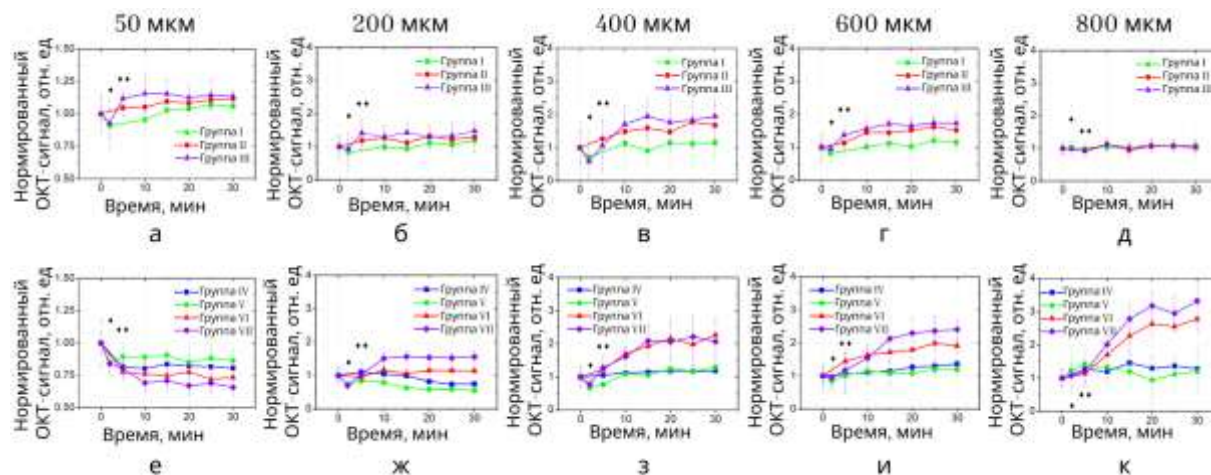


Рисунок 2.8. Кинетика нормированного ОКТ-сигнала от светлой кожи в процессе воздействий на различных глубинах: 50 мкм (а, е), 200 мкм (б, ж), 400 мкм (в, з), 600 мкм (г, и) и 800 мкм(д, к). Первая точка соответствует среднему значению сигнала для интактной кожи. Последующие точки отражают средние значения в каждой группе. Вертикальные отрезки соответствуют стандартному отклонению. Символ ♦ обозначает сигналы, зарегистрированные после микродермабразии (группы I, III, V и VII), символ ♦♦ — сигналы, зарегистрированные после применения сонофореза (группы II–VII).

2.2.6 Физически обусловленное оптическое просветление темной кожи

Было проведено пилотное исследование кожи человека VI фототипа *in vivo* с целью оценки возможности оптического просветления сильно пигментированной кожи с использованием предложенного подхода. Все измерения были распределены по группам IV–VII по аналогии с ранее описанными экспериментами. В каждой группе было выполнено по десять измерений на различных участках кожи дорсальной поверхности правой и левой кистей трех добровольцев (№4–6).

На рисунках 2.9 и 2.10 представлены результаты для кожи VI фототипа в сравнении с кожей II фототипа. На рис. 2.10 отчетливо видно, что индекс меланиновой пигментации (М) различается не только между экспериментальными группами со светлой и пигментированной кожей, но и внутри групп между отдельными добровольцами. Значение М зависит от концентрации меланина в эпидермисе и хорошо коррелирует с изображениями ОКТ: например,

у добровольца №4 наблюдается максимальное значение M (рис. 2.10а) и минимальная освещенная область на В-скане ОКТ (рис. 2.9). Однако на А-сканах изображений кожи (рис. 2.10б) и на распределении сигнала ОКТ по глубине (рис. 2.10в) также отчетливо наблюдается большая стандартная ошибка в группе с темной кожей, что, по-видимому, связано с различиями в рассеянии гранул меланина в спектральном диапазоне около 930 нм.

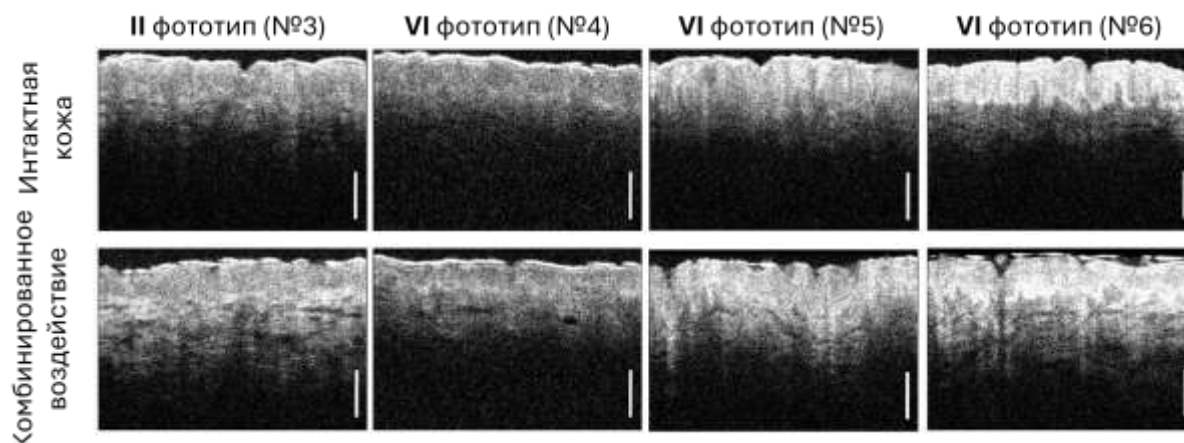


Рисунок 2.9. В-сканы ОКТ кожи человека II фототипа (доброволец №3) и VI фототипа (добровольцы №4–6), интактная кожа (верхний ряд) и спустя 30 мин после применения комбинированного воздействия микродермabrasии и сонофореза с ОК (нижний ряд). Масштабная метка соответствует 200 мкм.

Как следует из рисунков 2.9 и 2.10, ОП возможно и для сильно пигментированной кожи. В-скан ОКТ показывает, что глубина визуализации кожи VI фототипа увеличилась после применения комбинированного воздействия дермabrasии, ОК и сонофореза, а сосуды стали более четко различимыми, как это наблюдалось для II фототипа (рис. 2.9). Увеличение сигнала ОКТ наблюдалось во всех группах измерений, за исключением группы IV, в которой применялась только ОК.

На глубине 400 мкм отношение сигнал/фон составляло:

- 1.52 ± 0.16 — для интактной кожи;
- 1.65 ± 0.28 — для группы IV;
- 1.85 ± 0.24 — для группы V;
- 1.94 ± 0.25 — для группы VI;
- 2.00 ± 0.32 — для группы VII.

На глубине 600 мкм данное отношение составляло 1.10 ± 0.04 , а на большей глубине было близко к единице.

Согласно результатам дисперсионного анализа, сигналы ОКТ до и после оптического просветления в группах V–VII статистически значимо различались ($p < 0.01$) на глубине 400 мкм. На глубине 600 мкм и глубже изменения сигнала ОКТ не были статистически значимыми.

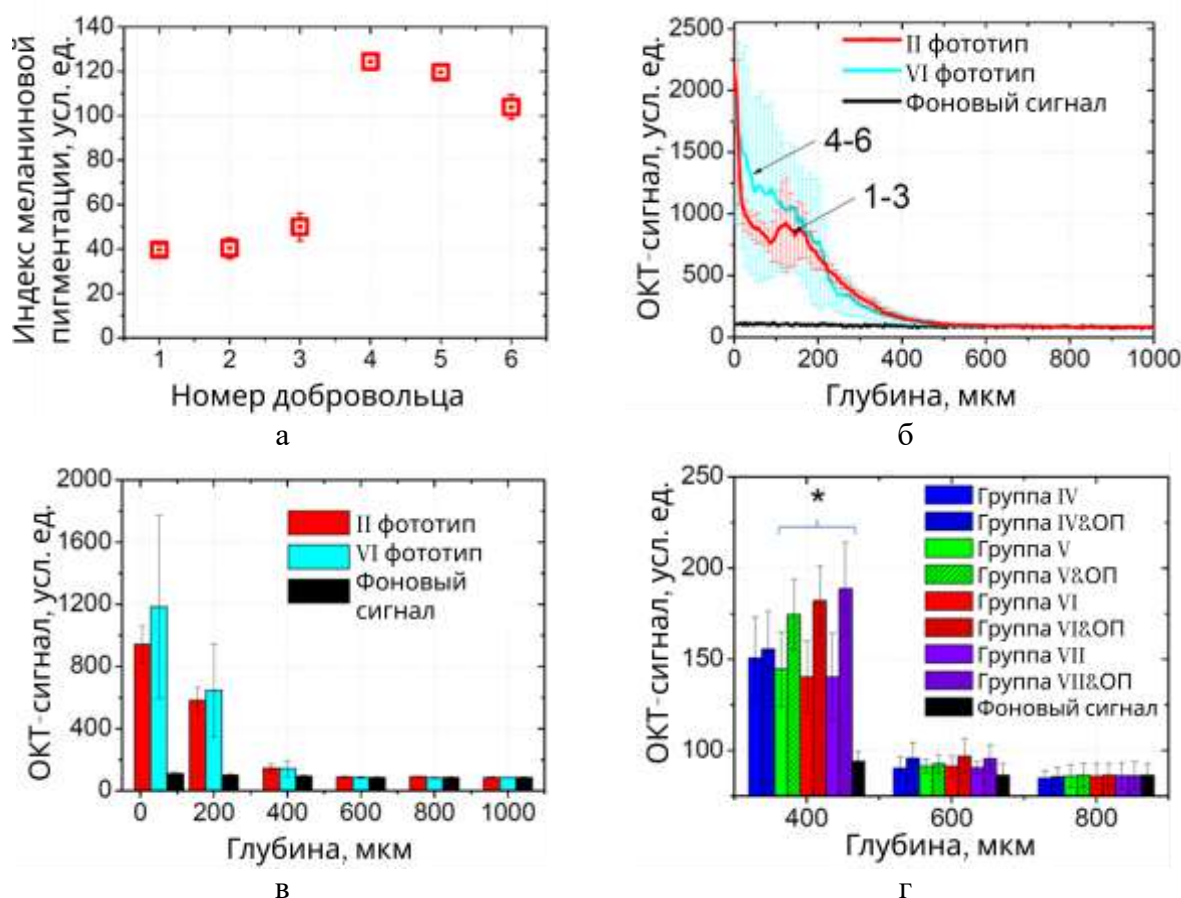


Рисунок 2.10. Данные на основе ОКТ-сигналов светлой и темной кожи: (а) Индекс меланиновой пигментации у добровольцев №1–6, включенных в эксперименты по оптическому просветлению кожи, (б) Усредненные А-сканы интактной светлой кожи (добровольцы №1–3) и темной кожи (добровольцы №4–6), а также усредненный фоновый сигнал, (в) Гистограмма усредненных ОКТ-сигналов и фонового сигнала на различных глубинах интактной кожи, (г) Гистограмма ОКТ-сигналов и фонового сигнала на различных глубинах темной кожи до и после 30-минутного ОП для групп IV–VII. Скобка со звездочкой объединяет группы со статистически значимыми различиями между ОКТ-сигналами до и после ОП.

2.3 Обсуждение

Воздействие микродермабразии, сонофореза и ОК по отдельности и в различных комбинациях на кожу человека двух типов было исследовано и сопоставлено с использованием ОКТ. Основное внимание уделялось глубинам зондирования 400 мкм и более, поскольку для интактной кожи II фототипа именно эта глубина являлась предельной на ОКТ-изображениях. Результаты ОП кожи человека II фототипа показали, что местное применение ОК в сочетании с

физическими воздействиями, такими как микродермабразия и сонофорез, позволило в течение относительно короткого времени (15 мин) увеличить глубину зондирования оптического сигнала *in vivo* в два раза — до 800 мкм. Получены данные, позволяющие оценить вклад каждого воздействия в увеличение глубины оптического зондирования. В частности, микродермабразия продолжительностью 1.5 мин обеспечивала увеличение сигнала ОКТ примерно на 10 – 15% на глубинах 400 – 800 мкм исключительно за счет удаления 8 ± 4 мкм рогового слоя.

Примечательно, что воздействие сонофореза с частотой 1 МГц и плотностью мощности 1.0 Вт/см^2 в течение 5 мин увеличивало глубину зондирования оптического сигнала примерно в 1.5 раза. Следует подчеркнуть, что применяемые параметры сонофореза находились в клинически допустимом диапазоне. Тем не менее нельзя исключать, что возможный механизм ОП при сонофорезе связан с локальной кавитацией микропузырьков в коже, что может приводить к изменению упорядоченности коллагеновых волокон дермы и, как следствие, к уменьшению объемной доли рассеивающих структур [118]. Помимо увеличения оптической глубины зондирования, при сонофорезе отмечено увеличение отношения сигнал/фон для неоднородностей в верхней дерме. Эти сосудоподобные оптические неоднородности могут соответствовать кровеносным и лимфатическим микрососудам. На ОКТ-изображениях взаимодействие фотонов, прошедших через сосуд вперед, и обратнорассеянных фотонов от статичной дермы приводит к появлению ярких «хвостов» под сосудами, что показано в [125]. На рисунках 2.3, 2.5 и 2.8 наблюдаются объекты как с такими «хвостами», так и без них; последние могут соответствовать лимфатическим сосудам. В отличие от крови, лимфа бесцветна и содержит меньше клеток (преимущественно лимфоциты и небольшое количество эритроцитов). Поскольку лимфа является прозрачной средой в ближнем инфракрасном диапазоне, лимфатические сосуды на ОКТ-изображениях выглядят как темные сосудистоподобные структуры вследствие низкого рассеяния [126, 127].

Увеличение оптической глубины зондирования примерно в 2 раза достигалось при сочетании двух факторов — ОК и сонофореза, либо трех факторов — микродермабразии, ОК и сонофореза (при этом микродермабразия дополнительно увеличивала амплитуду сигнала примерно на 15% на глубинах 600 и 800 мкм). Комбинация микродермабразии с ОК без ультразвука не показала значимого преимущества по сравнению с применением только ОК.

Использование сонофореза для усиления проникновения ОК через кожу продемонстрировало более выраженный эффект ОП по сравнению с глицерином и другими гиперосмотическими просветляющими агентами, которые дополнительно вызывают кратковременную дегидратацию кожи человека [128, 129]. Физические механизмы предложенного подхода, по-видимому, заключаются в следующем: ОК благодаря

липофильности хорошо проникает в эпидермис и уменьшает рассеяние света за счет выравнивания показателей преломления. Микродермабразия удаляет поверхностный ороговевший слой кожи и в целом истончает сильно рассеивающий эпидермис, что позволяет свету эффективнее проникать в глубже лежащие структуры. Снижение толщины рогового слоя дополнительно облегчает диффузию ОК в жизнеспособный эпидермис. Сонофорез вызывает кавитацию, дополнительно нарушающую барьерную функцию рогового слоя и ускоряющую проникновение ОК, что повышает контраст визуализации глубоко расположенных структур.

ОП кожи VI фототипа представляет серьезную проблему из-за поглощения света пигментированным эпидермисом. Показано, что поглощение меланина при длине волны 930 нм менее выражено, чем в коротковолновой области [25, 130]. Меланин также существенно влияет на рассеяние в эпидермисе [23, 24]. Для светлой кожи ($M = 40.9 \pm 6.6$) вариации концентрации меланина практически не отражались на сигнале ОКТ, тогда как для темной кожи ($M = 115.9 \pm 9.7$) их влияние было выраженным и отражалось на контрасте изображения. На ОКТ-сканах (рис. 2.3, 2.5 и 2.8) эпидермис наиболее контрастен у добровольца с наиболее пигментированной кожей. В более темных типах кожи меланин, как правило, упакован в более крупные одиночные меланосомы (~ 1 мкм), в то время как в более светлых типах кожи меланосомы меньше (~ 0.5 мкм) [131]. Вероятно, объемная доля, размеры и распределение меланосом в данном спектральном диапазоне существенно влияют на формирование ОКТ-изображений. Сочетание поглощения и локальных изменений показателя преломления эпидермиса, обусловленных меланином, приводит к вариабельности обратного рассеяния и, как следствие, к значительным отклонениям А-сканов у добровольцев с темной кожей. Для светлой кожи такие отклонения практически не наблюдались.

При ОП эпидермиса темной кожи отмечено увеличение амплитуды сигнала ОКТ от дермы. Снижение рассеяния в эпидермисе, вероятно, сопровождалось уменьшением поглощения за счет увеличения доли баллистических и квазibalлистических фотонов, проходящих через эпидермис напрямую. Уменьшение средней длины миграции фотонов в эпидермисе снижает вероятность их поглощения.

Механизмы просветления высокопигментированной кожи аналогичны таковым для светлой кожи. На глубине 400 мкм увеличение амплитуды сигнала относительно исходного уровня составляло 3%, 20%, 29% и 34% в группах с применением только ОК, микродермабразией с последующим нанесением ОК, сонофорезом с ОК и при сочетании всех трех воздействий, соответственно. Наиболее эффективной оказалась комбинация всех трех факторов.

2.4 Выводы

Сопоставление результатов показывает, что использование ОК в сочетании с микродермабразией и сонофорезом имеет значительные преимущества по сравнению с раздельным применением как для светлой, так и для темной кожи.

Таким образом, последовательное применение микродермабразии, ОК и сонофореза обеспечило значительное увеличение амплитуды сигнала ОКТ уже через 15 – 20 мин.

Новизна работы также заключается в обнаружении увеличения глубины оптического зондирования кожи при воздействии только сонофореза без применения просветляющего агента. Кроме того, показано увеличение глубины зондирования для темной кожи и продемонстрированы различия в ОКТ-сигнале и эффекте ОП для кожи с повышенной меланиновой пигментацией, что имеет важное практическое и социальное значение.

Полученные результаты показывают, что сочетание ОК с физическими методами повышения проницаемости кожи приводит к статистически значимому увеличению амплитуды ОКТ-сигнала на субэпидермальных глубинах и к росту эффективной глубины визуализации. Наиболее выраженный эффект наблюдался при комбинированном применении микродермабразии, ОК и сонофореза. Для кожи VI фототипа также зарегистрировано улучшение параметров сигнала, однако с учетом ограниченного объема выборки эти результаты следует рассматривать как пилотные. Полученные данные подтверждают перспективность персонализированного протокола ОП, основанного на учете фототипа и барьерных свойств кожи.

Результаты исследования опубликованы:

E. A. Genina, Y. I. Surkov, **I. A. Serebryakova**, A. N. Bashkatov, V. V. Tuchin, V. P. Zharov / Rapid ultrasound optical clearing of human light and dark skin // IEEE Transactions on Medical Imaging. — 2020. — Vol. 39, No. 10. — P. 3198–3206. — DOI: 10.1109/TMI.2020.2989079.

Глава 3. Мониторинг меланоцитарных новообразований методами мультимодальной визуализации

В настоящей главе рассматривается задача мониторинга роста индуцированного меланоцитарного новообразования у лабораторных животных как одного из наиболее клинически значимых направлений неинвазивной диагностики, требующего высокой воспроизводимости измерений и чувствительности к ранним структурно-функциональным изменениям ткани. В отличие от разовой дифференциальной оценки новообразования, мониторинг ориентирован на выявление динамики изменения морфологических и оптических характеристик новообразования и окружающих биотканей, которые позволяют выявлять ранние структурно-функциональные патологические изменения, сопровождающие рост и прогрессирование экспериментальной меланомы. Именно поэтому критически важны методы, обеспечивающие количественную оценку параметров биоткани и позволяющие отслеживать изменения во времени при минимальной инвазивности.

Рост индуцированного меланоцитарного новообразования сопровождается комплексом взаимосвязанных процессов, включающих трансформации биотканей эпидермиса и дермы, изменение содержания и распределения хромофоров, ремоделирование внеклеточного матрикса, а также выраженные перестройки сосудистого русла. Эти изменения формируют диагностически значимые маркеры, однако каждый из них проявляется в разных физических паттернах: структурные изменения наиболее информативны в высокоразрешающих методах визуализации, параметры кровоснабжения и гемодинамики — в методах, чувствительных к поглощению и рассеянию, а глубинные особенности и границы распространения процесса требуют методов с большей глубиной зондирования. В этой связи применение мультимодальной визуализации является не просто суммированием данных различных методов, а способом повышения надежности мониторинга за счет комплементарности диагностических признаков и возможности кросс-валидации наблюдаемых изменений.

Целью главы является разработка и апробация подхода к мониторингу меланоцитарных новообразований на основе мультимодальной визуализации с выделением устойчивых количественных показателей, чувствительных к ранним изменениям ткани. Для достижения этой цели в главе решаются следующие задачи: формируется набор мультимодальных диагностических признаков, отражающих структурные, оптические и сосудистые изменения, потенциально ассоциированные с малигнизацией; оценивается динамика выбранных параметров во времени и их воспроизводимость при повторных измерениях; стандартизируются условия мониторинга для повышения чувствительности и устойчивости метода и анализируется комплементарность диагностических признаков; рассматриваются критерии интерпретации

динамики, позволяющие переходить от качественного наблюдения к количественной оценке риска неблагоприятных изменений.

Таким образом, глава 3 подготавливает переход от демонстрации различий меланиновой пигментации (рис. 3.1) к решению более сложной клинической задачи — выявлению и количественной оценке динамических признаков, ассоциированных с прогрессированием опухолевого процесса. Полученные результаты являются методической основой для последующей дифференциальной диагностики новообразований кожи и построения алгоритмов распознавания, поскольку мониторинг позволяет уточнять информативность признаков, выявлять их устойчивые сочетания и формировать критерии, пригодные для последующей классификации.

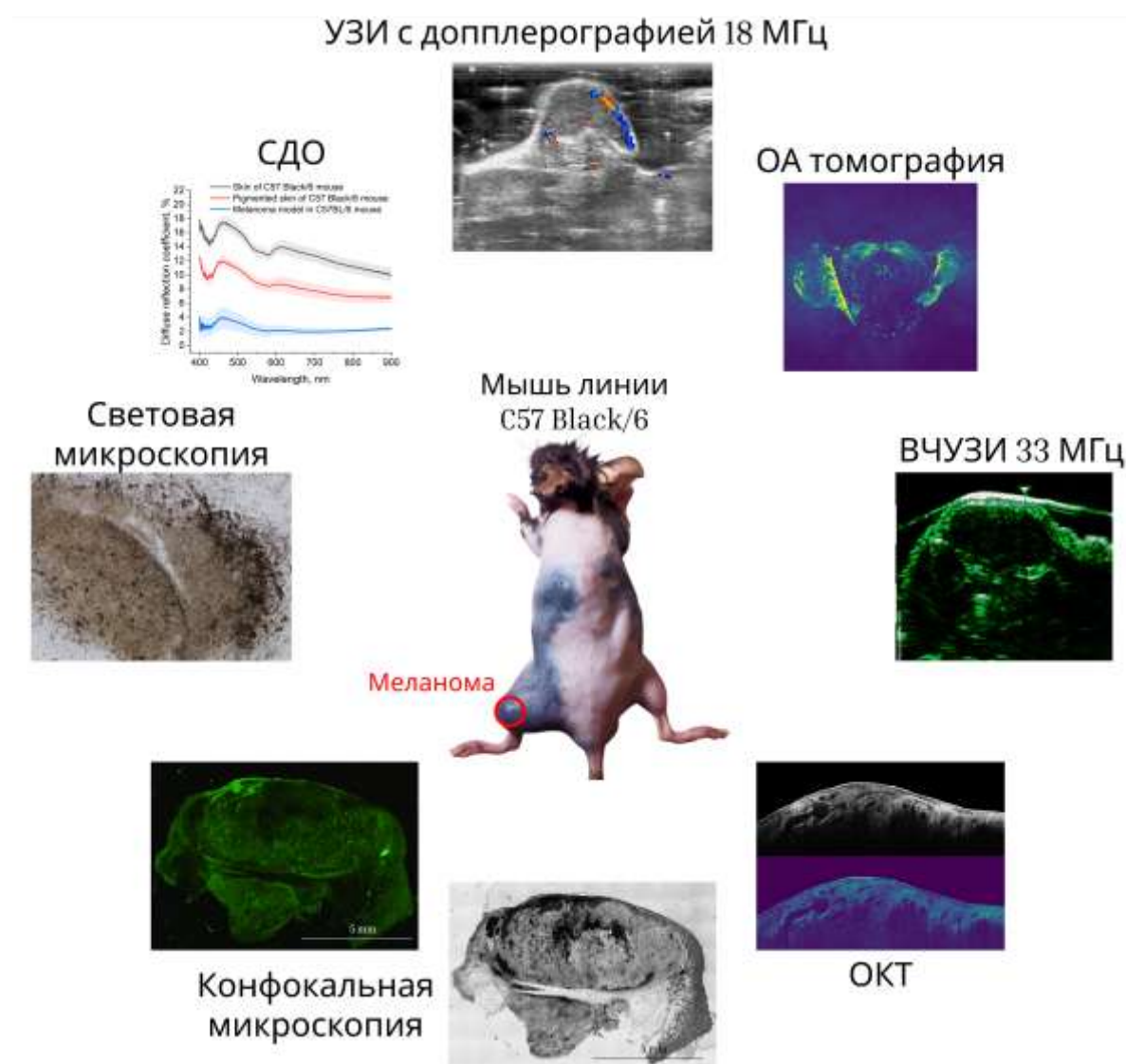


Рисунок 3.1. Мультимодальный метод исследования ЗН лабораторных мышей C57BL/6 с меланомой, включающий дерматоскопию, СДО, ВЧУЗИ на частоте 33 МГц, УЗИ с цветовым доплеровским картированием на частоте 18 МГц, ОА-томографию, ОКТ, световую и конфокальную микроскопии.

3.1 Материалы и методы

3.1.1 Работа с лабораторными животными

Все манипуляции выполнялись на мышах линии C57BL/6 (n=13, возраст 10 – 12 недель; масса 22 – 25 г) под общим наркозом (смесь Золетила или Телазола (40 мг на кг, 50 мкл, Virbac SA, Каррос, Франция) и 2% Ксила (10 мг на кг, 10 мкл, InterchemieWerken «deAdelaar» BV, Нидерланды), которая вводилась внутривентрально). Исследование было одобрено этическим комитетом Саратовского государственного медицинского университета имени В.И. Разумовского Министерства здравоохранения России (протокол №7 от 14.01.2025 г.). Работы с экспериментальными животными проводились в соответствии с требованиями Федерального закона от 27.12.2018 №498-ФЗ «Об ответственном обращении с животными и о внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации», ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей практики при проведении доклинических исследований лекарственных средств» и Международными рекомендациями CIOMS–ICLAS 2012 (International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals). Подкожная инъекция клеток меланомы (B16F10 CRL-6475) использовалась для индукции подкожной меланомы. Исследование на лабораторных животных проводилось спустя 7 суток после инокуляции клеток. Измерения осуществлялись на 7, 9, 11, 13 и 15 сутки после инъекции.

3.1.2 Высокочастотное ультразвуковое исследование меланоцитарных новообразований

ВЧУЗИ проводилось с помощью DUB SkinScanner (Taberna Pro Medicum GmbH, Люнебург, Германия) в режиме В-сканирования с зондом, работающим на центральной частоте 33 МГц. Глубина сканирования составляла до 5 мм, аксиальное разрешение – 48 мкм. Для цветовой ультразвуковой доплерографии использовалось устройство DUB SkinScanner (Taberna Pro Medicum GmbH, Люнебург, Германия), оснащенное доплеровским преобразователем с частотой 18 МГц и глубиной зондирования 21 мм. Лабораторное животное, находящееся под общим наркозом, располагали на правом боку так, чтобы был свободный доступ к области с меланоцитарным новообразованием. На исследуемую область наносили для ультразвукового контакта гель «Медиагель» средней вязкости (ООО «Гельтек-Медика») и проводили визуализацию в двух перпендикулярных плоскостях. ВЧУЗИ позволило визуализировать динамику роста новообразования и васкуляризацию с помощью цветowego доплеровского картирования. По данным ВЧУЗИ оценивалась толщина слоя кожи над меланоцитарным новообразованием.

3.1.3 ОКТ визуализация меланоцитарных новообразований

ОКТ-мониторинг проводился с помощью спектрального ОКТ GAN930V2-BU (Thorlabs, Ньютон, Нью-Джерси, США), работающего на центральной длине волны 930 нм с аксиальным и латеральным разрешением 5.34 и 7.32 мкм (на воздухе) соответственно и глубиной сканирования 2.7 мм. Лабораторное животное располагали на правом боку для прямого доступа зондирующего излучения ОКТ. ОКТ-изображения использовались для оценки микроструктурных изменений тканей и построения карт коэффициентов рассеяния с помощью методов, подробно описанных в работах [132–135]. Дополнительно, по данным ОКТ оценивалась толщина слоя кожи над меланоцитарным новообразованием.

3.1.4 Спектроскопия диффузного отражения меланоцитарных новообразований

Спектры диффузного отражения регистрировались с помощью спектрометра USB4000-UV-VIS (Ocean Optics, Пибоди, Массачусетс, США) и волоконно-оптического зонда QR400-7-VIS-NIR (Ocean Optics, Пибоди, Массачусетс, США) в диапазоне 400 – 900 нм. Не менее 5 спектров регистрировались для области ЗН и контрольного участка кожи для каждого животного в каждую временную точку наблюдения. По данным СДО оценивались коэффициенты диффузного отражения на длинах волн 700 и 900 нм и их коэффициенты вариации и угол наклона в диапазоне длин волн от 700 до 900 нм. В качестве контрольной области для измерений коэффициентов диффузного отражения использовались симметрично расположенные участки здоровой кожи мышей. Это позволило учитывать индивидуальные особенности оптических свойств тканей.

3.1.5 Оптоакустическая визуализация меланоцитарных новообразований

Для оценки роста меланоцитарного новообразования применялась ОА-томография (TriTom, PhotoSound Inc., Houston, TX, USA) с использованием импульсного лазера в диапазоне длин волн 400 – 1350 нм (PhotoSonus, Ekspla, Литва). Для измерений тело животного размещалось в специальном держателе. Держатель с телом животного опускался в камеру для измерений, предварительно заполненную водой для снижения потерь при распространении акустического сигнала. ОА-сигнал регистрировался при длинах волн возбуждения перестраиваемого импульсного лазера PhotoSonus (Ekspla, Vilnius, Lithuania) 700 и 900 нм. Во время измерения тело животного совершало полный оборот относительно вертикальной оси со скоростью 10 град/с. Затем с помощью ПО TriTomImagingGUI производилось восстановление трехмерного изображения тела животного в формате .mat-файлов. Далее полученные файлы

обрабатывались на языке программирования Python 3, загрузка файлов была осуществлена с помощью `scipy.io.loadmat`. Полученные изображения демонстрируют проекцию максимальной интенсивности ОА-сигнала на оси X и Z. Полученный ОА-сигнал нормировался на энергию импульса возбуждающего излучения.

3.1.6 Микроскопия меланоцитарных новообразований

Спустя 15 суток исследования животные ($n=4$) умерщвлялись путем передозировки наркоза с последующей цервикальной дислокацией. Индуцированные меланоцитарные новообразования иссекались из тел животных вместе с прилегающими тканями (кожа, мышцы). Затем новообразование с прилегающими тканями помещалось в 10% нейтральный забуференный формалин. После выдерживания в растворе формалина в течение 7 суток образец помещался в фосфатный буфер на 2 суток, затем последовательно в 10%, 20% и 30% растворы сахарозы в фосфатном буфере по 2 – 3 часа в каждой концентрации. После процедуры криопротекции образцы нарезались на тонкие (30 мкм) срезы с помощью криотома Leica. Тонкие срезы помещались на покровное стекло и затем исследовались микроскопическими методами. Размеры меланоцитарного новообразования *ex vivo* были оценены с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа Leica TCS SP8X (Leica, Германия). В качестве флуоресцентного сигнала использовалась автофлуоресценция ткани (возбуждение 405 нм, детекция 420 – 470 нм), лазерное излучение фокусировалось через объектив 10×/0.4 NA. Для получения изображения всего среза использовался инструмент Tiledscan ПО Leica Acquisition Software (Leica, Германия). Морфологические особенности иссеченного участка были визуализированы с помощью микроскопа Olympus IX73, оснащенного объективом 20×/0.40 NA.

3.1.7 Оценка содержания меланина в новообразовании

Для определения концентрации меланина в меланоцитарных новообразованиях у 9 лабораторных мышей использовался метод ферментативного расщепления ткани, ранее описанный в статье [136], но с некоторыми изменениями. В качестве фермента использовался раствор трипсина из поджелудочной железы свиньи концентрацией 10 мг/мл в 50 mM Tris-HCl. Для калибровки использовался меланин из каракатицы (*Sepia officinalis*). Меланоцитарные новообразования *ex vivo* на 7, 11 и 15 сутки после инъекции клеток меланомы (по 3 новообразования на группу) помещались в раствор фермента и инкубировались в течение суток при 37 °C, при постоянном перемешивании в термошейкере (1000 об/мин). Аналогично были подготовлены калибровочные растворы с меланином. Затем измерялся спектр поглощения

полученных суспензий с помощью ClarioStar (BMG Labtech, Германия). Определение концентрации меланина проводилось на длине волны 450 нм.

По иссеченным меланоцитарным новообразованиям были оценены масса меланина, объем новообразования и концентрация меланина. Масса меланина была определена по калибровочной прямой на основе спектрофотометрического измерения поглощения суспензий после ферментативного расщепления ткани. Объем новообразования рассчитывался на основе измерения линейных размеров. Концентрация меланина в новообразовании вычислялась как отношение массы меланина к объему опухоли.

3.2 Результаты

3.2.1 Мультимодальный метод исследования структурных и оптических изменений меланоцитарных новообразований

На рисунке 3.2 представлены ВЧУЗИ-изображения (33 МГц) и результаты УЗИ с цветовым доплеровским картированием на частоте 18 МГц лабораторных мышей с привитой меланомой на 7, 9, 11, 13 и 15 сутки развития патологии. Полученные данные позволяют проследить динамику изменений структуры и геометрии меланомы в исследуемой области. Слева представлены результаты ВЧУЗИ (33 МГц), которые демонстрируют детализированные изображения с высоким пространственным разрешением. Наблюдается увеличение размеров по мере прогрессирования ЗН. Эти изменения свидетельствуют о структурных трансформациях тканей ЗН. Можно отметить, что на 7 и 9 дни новообразование хорошо визуализируется, с четкой дифференцировкой от окружающих тканей. Однако на 11 – 15 сутки нижняя граница новообразования становится неразличимой, что может быть связано с ограниченной глубиной зондирования или недостаточной контрастностью данного метода визуализации при увеличении размеров индуцированного меланоцитарного новообразования. Справа на рисунке 3.2 представлены результаты УЗИ с цветовым доплеровским картированием, полученные на частоте 18 МГц, отражающие направление и скорость кровотока (красные и синие зоны). На 7 сутки новообразование практически неразлично из-за низкого разрешения. Однако начиная с 11 суток изображение новообразования становится достаточно контрастным по отношению к фону, что обусловлено увеличением размеров и усилением васкуляризации. Доплеровский сигнал внутри и вокруг новообразования связан с ангиогенезом, который ассоциирован с развитием данной патологии.

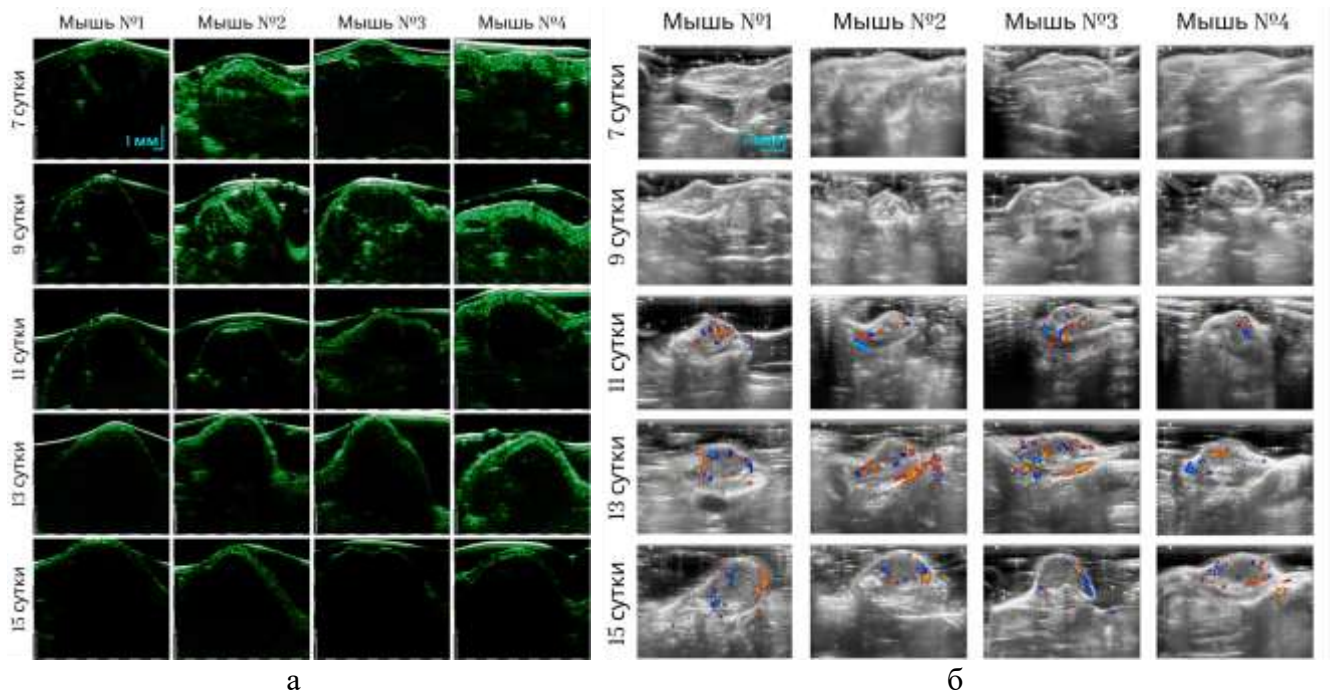


Рисунок 3.2. Типичные УЗИ-изображения лабораторных мышей с индуцированным меланоцитарным новообразованием на 7, 9, 11, 13 и 15 сутки развития патологии: а) ВЧУЗИ с частотой 33 МГц; б) УЗИ с частотой 18 МГц и доплеровская визуализация кровотока в динамике.

На рисунке 3.3 представлены ОКТ-изображения участка кожи лабораторных мышей с привитой меланомой, а также соответствующие карты реконструированного коэффициента рассеяния, полученные на различных стадиях развития патологии: до привития (интактная область) и на 7, 9, 11, 13 и 15 сутки. ОКТ-изображения (верхнее изображение для каждой мыши) демонстрируют изменения в микроструктуре ткани, связанные с прогрессированием меланомы. На изображениях хорошо визуализируются эпидермальные слои кожи и верхняя часть новообразования с четкой границей между опухолью и окружающими тканями. Отмечается постепенное истончение эпидермального слоя для обеих мышей. Для мыши №2 наблюдается более выраженное истончение эпидермиса и инвазия меланомы в дермальные слои. На поздних стадиях (11 – 15 сутки) заметно увеличение объема новообразования, сопровождаемое неоднородностью его структуры, а также изменением глубины зондирования сигнала. На 9 – 15 сутки наблюдается увеличение числа и диаметра оптических неоднородностей, связанных с кровеносными и лимфатическими сосудистыми структурами. Карты реконструированного коэффициента рассеяния (нижнее изображение для каждой мыши) предоставляют количественные данные о динамике оптических свойств индуцированного меланоцитарного новообразования. Для мыши №1 на 9 – 15 сутки отмечается увеличение коэффициента рассеяния в центральной части новообразования, что, вероятно, связано с локальным повышением

гидратации тканей вследствие воспалительных процессов. В то же время, для мыши №2 наблюдается постепенное снижение коэффициента рассеяния, что может быть связано с изменением гидратации, клеточной плотности и микроархитектуры опухолевой ткани. Различия в динамике коэффициента рассеяния между мышами могут быть обусловлены различиями в характере развития патологии. У мыши №1 новообразование остается инкапсулированным, а рост новообразования вызывает давление на вышележащие слои кожи. В отличие от этого, у мыши №2 на 11 сутки наблюдается прогрессирующая инвазия меланоцитарного новообразования в слои дермы.

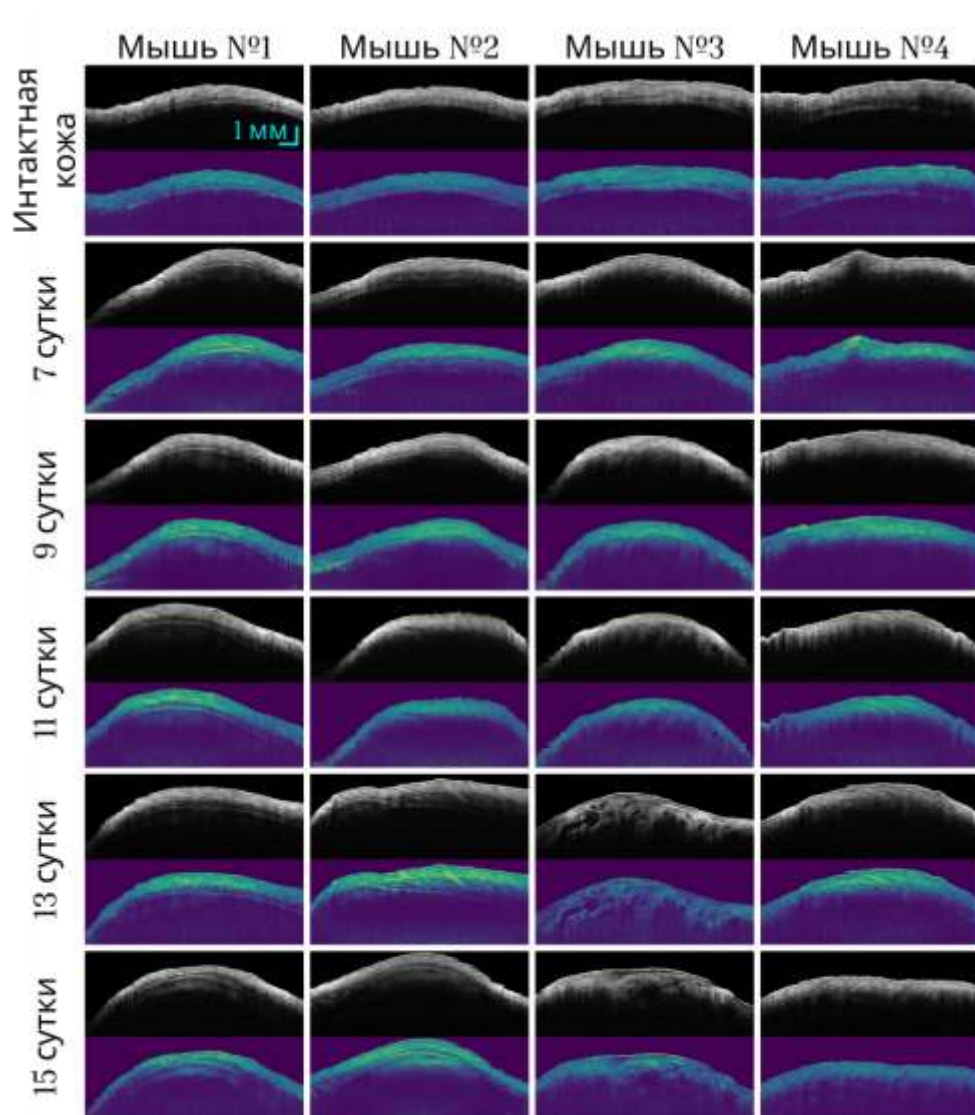
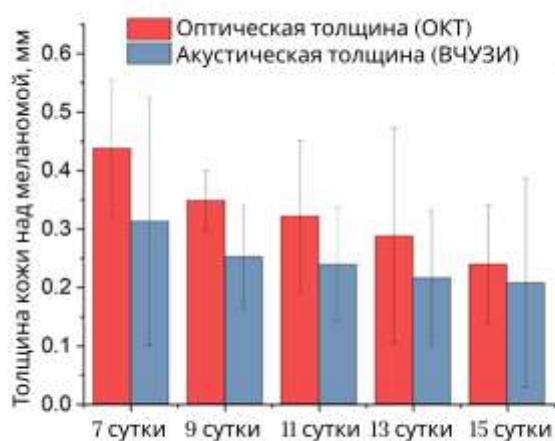
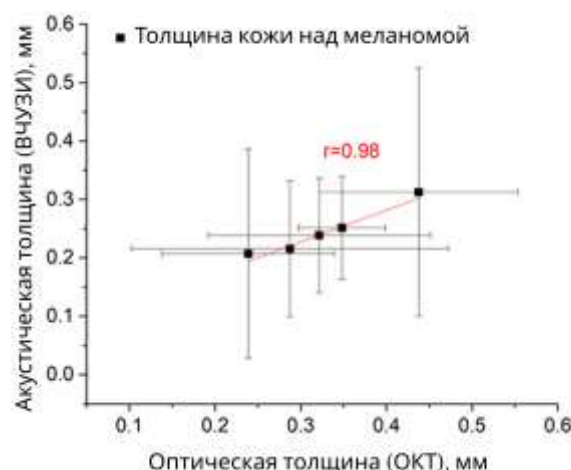


Рисунок 3.3. Типичные ОКТ-изображения и соответствующие им карты реконструированного коэффициента рассеяния тканей лабораторных мышей с меланомой до моделирования меланомы и на 7, 9, 11, 13 и 15 сутки развития. Верхние изображения: ОКТ-изображения, показывающие структурные изменения меланоцитарного новообразования. Нижние изображения: карты коэффициента рассеяния, демонстрирующие количественные изменения оптических свойств индуцированного меланоцитарного новообразования.

На рисунке 3.4а представлена диаграмма толщины кожи над меланомой, измеренной на 7, 9, 11, 13 и 15 сутки развития патологии с использованием ОКТ и ВЧУЗИ. Данные усреднены по 4 мышам. Также на рисунке 3.4б показан график зависимости толщины, оцененной методом ВЧУЗИ, от толщины, измеренной с помощью ОКТ. Результаты показывают истончение слоев биотканей над опухолью с течением времени. При этом значения толщины, полученные с помощью ОКТ, оказались выше, чем данные, оцененные по ВЧУЗИ-изображениям. Это объясняется тем, что метод ОКТ позволяет измерять оптическую толщину, которая в n раз больше геометрической, где n – средний групповой показатель преломления для слоя. На результаты измерений ВЧУЗИ также оказывают влияние акустические свойства тканей, включая уровень их гидратации. Однако между измерениями толщины, выполненными двумя методами, наблюдается высокая степень корреляции. Коэффициент корреляции Пирсона составляет 0.98, что подтверждает пропорциональность данных.



а



б

Рисунок 3.4. Оценка динамики развития меланоцитарного новообразования на 7, 9, 11, 13 и 15 сутки с использованием ОКТ и ВЧУЗИ (а) Гистограмма толщины кожи над меланомой, (б) График зависимости толщины, оцененной методом ВЧУЗИ, от толщины, измеренной с помощью ОКТ.

На рисунке 3.5 представлены проекции ОА-томограмм лабораторной мыши (№2) с меланомой, полученные на различных стадиях ее развития (7, 9, 11, 13 и 15 сутки) при возбуждении ОА-сигнала излучением с длинами волн 700 нм и 900 нм. Верхний ряд каждого временного интервала соответствует длине волны 700 нм, а нижний – 900 нм. Интенсивность ОА-сигнала представлена в нормализованных единицах. На изображениях наблюдается постепенное увеличение интенсивности ОА-сигнала в области меланоцитарного новообразования, что свидетельствует о росте концентрации меланина по мере прогрессирования патологии. Это согласуется с увеличением размера меланоцитарного

новообразования, что также визуально подтверждается расширением области ОА-сигнала на более поздних стадиях (11 – 15 сутки). Таким образом, динамика и распределение ОА-сигналов отражает как рост меланоцитарных новообразований, так и накопление меланина в патологических тканях. Также проекция на ось Z дает более четкое представление о границах и о глубине распространения ЗН. Сравнительный анализ интенсивности ОА-сигнала при длинах волн 700 нм и 900 нм показывает, что на 700 нм амплитуда сигнала выше, чем на 900 нм. Это связано с особенностями спектрального поглощения меланина, который обладает более высоким коэффициентом поглощения при 700 нм, что также согласуется с результатами СДО (рисунок 3.6). Такая зависимость потенциально позволяет использовать данные на этих длинах волн для количественной оценки содержания меланина в ткани.

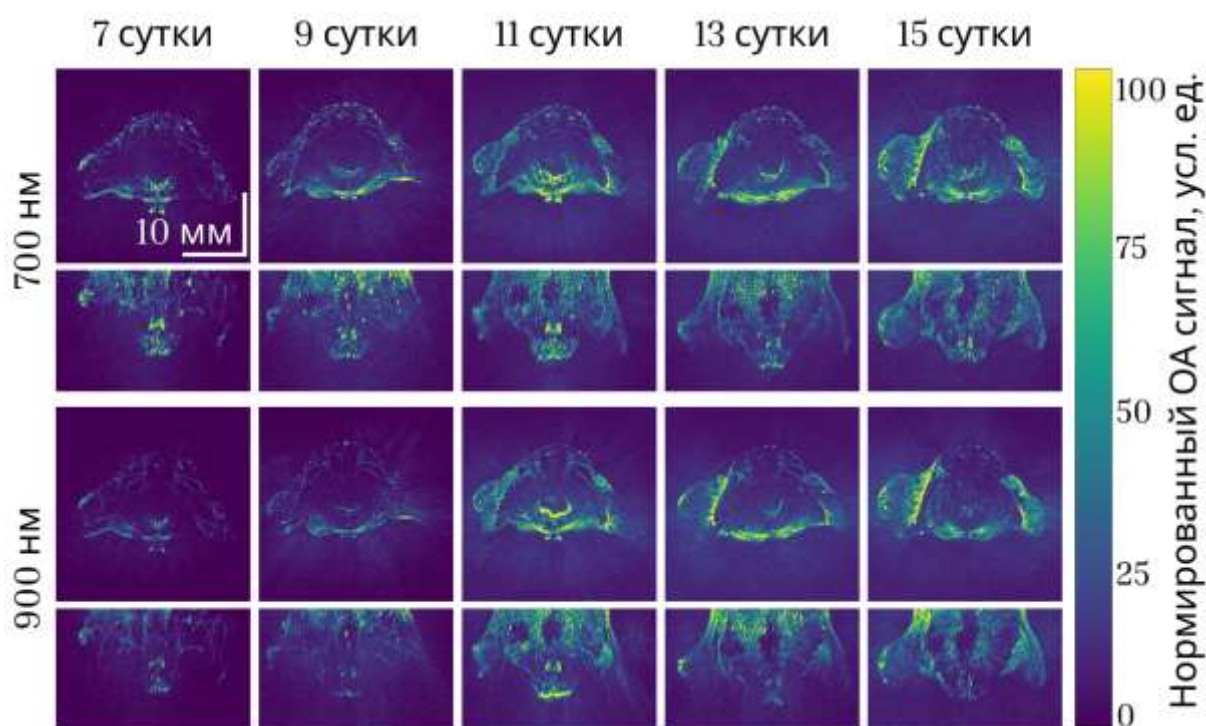


Рисунок 3.5. Типичные аксиальные и фронтальные проекции ОА-томограмм лабораторной мыши с меланомой при возбуждении ОА-сигнала излучением с длинами волн 700 нм (верхние ряды) и 900 нм (нижние ряды) на 7, 9, 11, 13 и 15 сутки развития патологии.

На рисунке 3.6 представлены типичные спектры коэффициента диффузного отражения различных участков кожи лабораторной мыши линии C57BL/6, включающие условно светлый и более пигментированный участки кожи и область с меланоцитарным новообразованием, в диапазоне длин волн 400 – 900 нм. Слева представлены спектры коэффициента отражения, справа – фотография тела лабораторного животного с отмеченными исследуемыми участками, а снизу – изображения криосрезов аналогичных исследуемых областей, полученные методом световой микроскопии при 20-кратном увеличении. Визуально светлый участок кожи

характеризуется наибольшим коэффициентом диффузного отражения по сравнению с более пигментированным участком кожи и областью меланоцитарного новообразования. Коэффициент диффузного отражения условно светлого участка кожи постепенно снижается с увеличением длины волны. Более низкие значения спектра диффузного отражения пигментированного участка кожи связаны с наличием меланина, который существенно снижает отражательную способность ткани, особенно в диапазоне длин волн 400 – 600 нм, с последующим плато в ближнем инфракрасном диапазоне (700 – 900 нм). Для области с меланоцитарным новообразованием характерен значительно более низкий коэффициент диффузного отражения во всем диапазоне длин волн относительно других исследуемых участков, обусловлен высокой концентрацией меланина в опухолевых тканях, который эффективно поглощает свет. Можно заметить, что наклон спектральной зависимости в диапазоне 700 – 900 нм зависит от степени пигментации, что делает этот маркер чувствительным к концентрации меланина. На изображении мыши обозначены исследуемые участки: условно светлый участок (черная спектральная кривая), более пигментированный участок (красная спектральная кривая) и область с меланоцитарным новообразованием (синяя спектральная кривая). Изображения криосрезов, полученные методом световой микроскопии подтверждают структурные вариации между исследуемыми участками кожи. На визуально светлом участке кожи отмечается нормальная структура эпидермиса и дермы, с минимальным содержанием пигмента меланина. На более пигментированном участке кожи наблюдаются фолликулы с повышенным содержанием меланина, что приводит к гиперпигментации кожи. Область с меланоцитарным новообразованием демонстрирует значительное скопление клеток, содержащих меланин, что подтверждает высокую оптическую плотность и низкий коэффициент диффузного отражения опухолевой ткани.

Данные СДО и изображения световой микроскопии криосрезов подтверждают, что меланин является ключевым хромофором, определяющим значительное снижение коэффициента диффузного отражения в пигментированных индуцированных меланоцитарных новообразованиях. Таким образом, полученные данные подтверждают, что повышенное содержание меланина коррелирует со значительным снижением коэффициента диффузного отражения в области с меланоцитарным новообразованием.

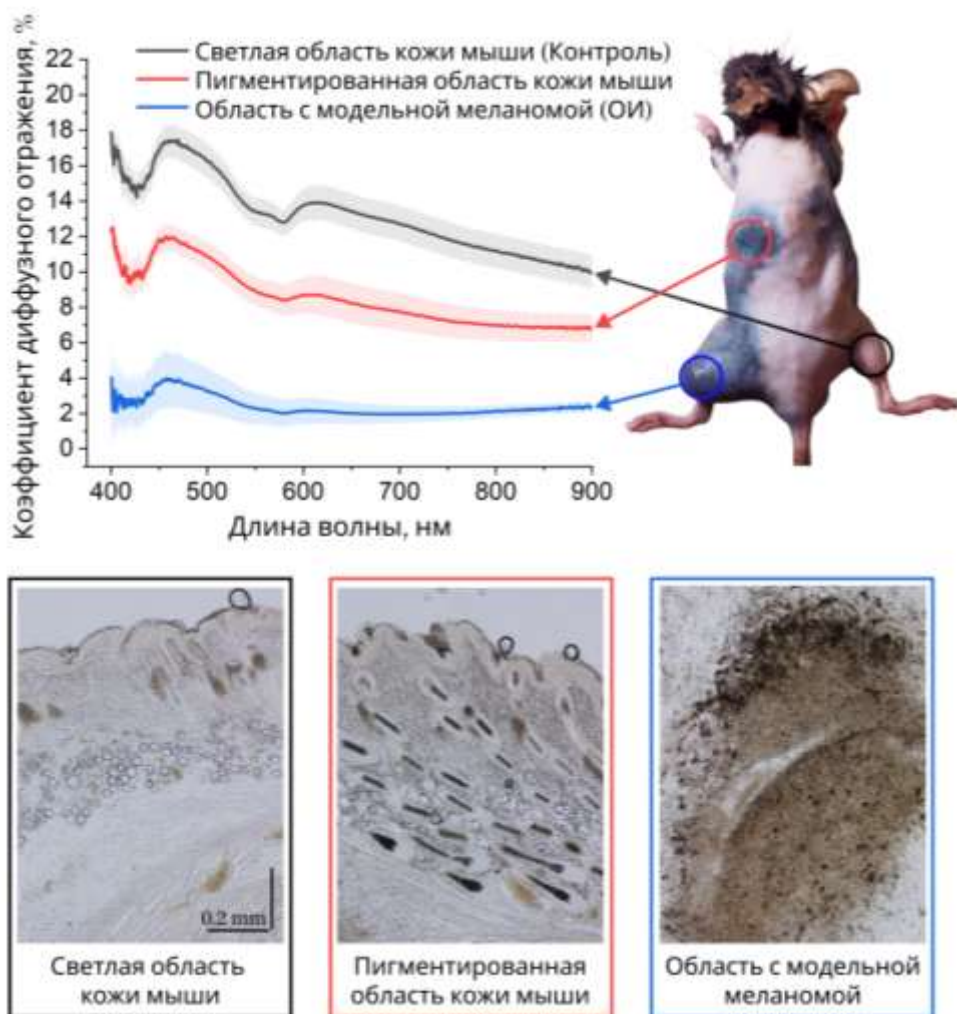


Рисунок 3.6. Типичные спектры коэффициента диффузного отражения (400–900 нм) условно светлого, более пигментированного участка кожи и области с меланомой у лабораторной мыши (слева); фотография тела лабораторного животного с отмеченными областями исследования: условно светлый участок (черная спектральная кривая), более пигментированный участок (красная спектральная кривая) и область с меланоцитарным новообразованием (синяя спектральная кривая) (справа); изображения криосрезов, полученные методом световой микроскопии при 20-кратном увеличении (снизу), цвет рамки изображения криосрезов соответствует цвету спектров и отмеченным участкам на изображении тела лабораторного животного.

На рисунке 3.7 представлена гистограмма коэффициентов диффузного отражения на длинах волн 700 нм и 900 нм для области с меланоцитарным новообразованием и контрольного участка кожи, расположенного симметрично области интереса (ОИ), на различных стадиях развития патологии (7, 9, 11, 13 и 15 суток). Для условно светлого участка кожи, принятого за контроль, коэффициенты диффузного отражения сохраняют высокие значения как на 700 нм, так и на 900 нм, без существенных изменений на протяжении всего периода исследования. Это

отражает стабильность оптических свойств здоровой кожи. Для области с меланоцитарным новообразованием (ОИ) наблюдается значительное снижение коэффициента диффузного отражения по сравнению с контрольным участком, как на 700 нм, так и на 900 нм. Это постепенное снижение связано с прогрессивным опухолевым процессом в меланоцитарном новообразовании, так как меланин обладает высоким коэффициентом поглощения в широком диапазоне длин волн. В то же время увеличение объема меланоцитарного новообразования приводит к уменьшению интенсивности отраженного излучения.

Представленные данные демонстрируют динамику изменения коэффициента диффузного отражения в области с меланоцитарным новообразованием. Эти результаты подтверждают эффективность использования СДО на длинах волн 700 нм и 900 нм для оценки изменения содержания меланина и мониторинга прогрессирования ЗН.

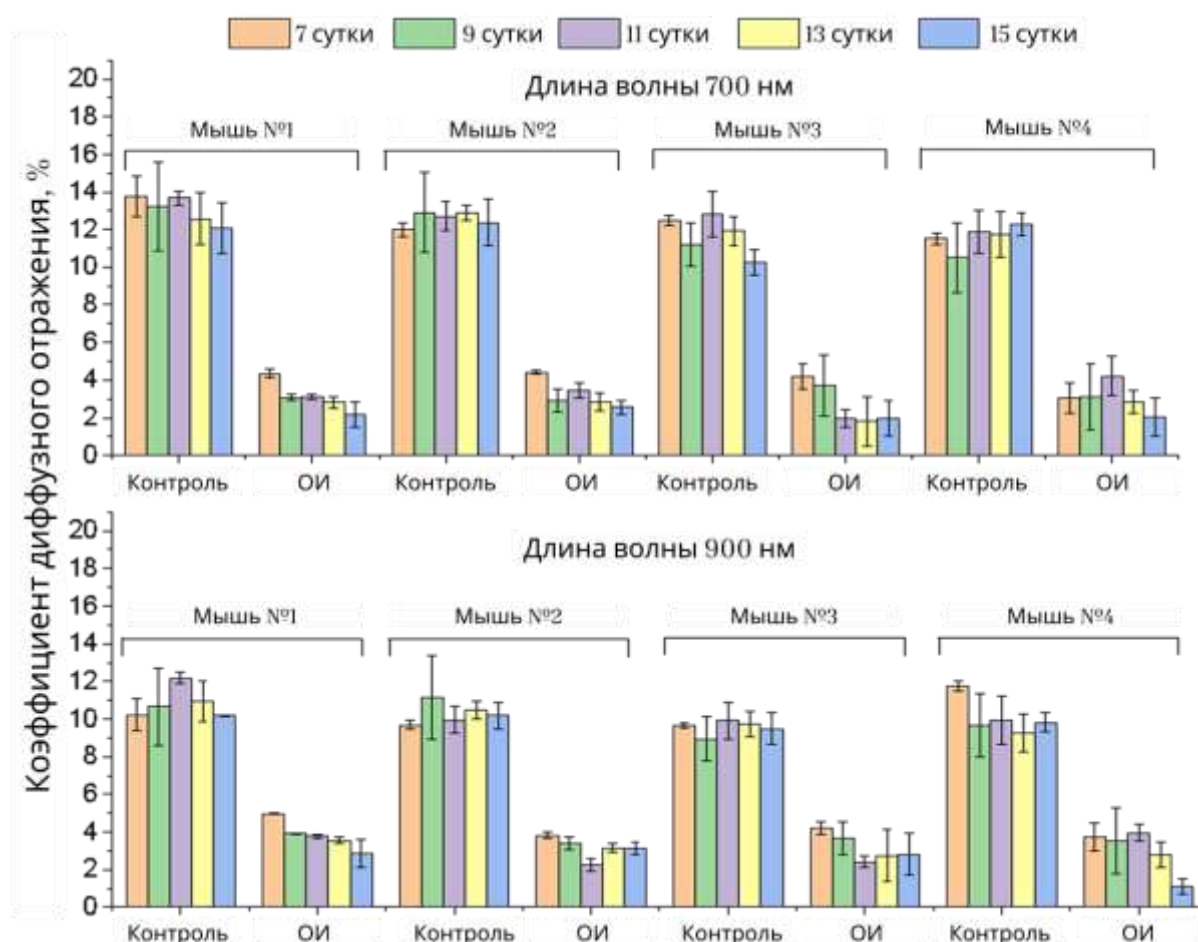


Рисунок 3.7. Гистограмма коэффициентов диффузного отражения на длинах волн 700 нм и 900 нм для контрольного участка кожи (Контроль) и области с меланоцитарным новообразованием (ОИ) в различные дни развития патологии.

На рисунке 3.8 представлены типичные изображения криосрезов исследуемых участков биотканей, полученных методом световой микроскопии. Отсутствие специфических

окрашиваний не позволяет определить конкретные типы клеток или молекул. Тем не менее, в первом ряду представлены срезы, ориентированные перпендикулярно поверхности кожи, что позволяет визуализировать слои в поперечном сечении. Изображение криосреза охватывает область кожи размером приблизительно 1 мм. Общая морфология кожи, представленная на изображениях, соответствует типичной структуре кожи мыши. Видны все основные слои кожи. Изображение демонстрирует структуру эпидермиса, дермы, а также наличие волосяных фолликулов. Эпидермис – самый верхний слой, представленный волнистой, относительно тонкой полосой, имеет неоднородную плотность и слегка более темный цвет. По всей толщине дермы наблюдается множество срезов волосяных фолликулов. Они хорошо идентифицируются благодаря своей характерной круглой или овальной форме. Каждый волосяной фолликул состоит из нескольких концентрических слоев, окружающих стержень волоса. Стержень волоса выглядит как более темная овальная структура внутри фолликула. Волосяные фолликулы имеют различную форму и размер в зависимости от угла среза. Во втором ряду представлены изображения криосрезов, демонстрирующие характерную морфологическую картину меланоцитарного новообразования. Патологические ткани при меланоме, характеризующиеся атипичной пролиферацией меланоцитов, представлены в виде характерных скоплений клеток с повышенным содержанием меланина. Клетки образуют скопления различной формы и размера, от отдельных пятен до более крупных слившихся конгломератов. Ядра клеток неразличимы из-за большого количества меланина. Изображения криосрезов также демонстрируют наличие сгустков крови, что может свидетельствовать о повышении васкуляризации в области меланоцитарных новообразований.

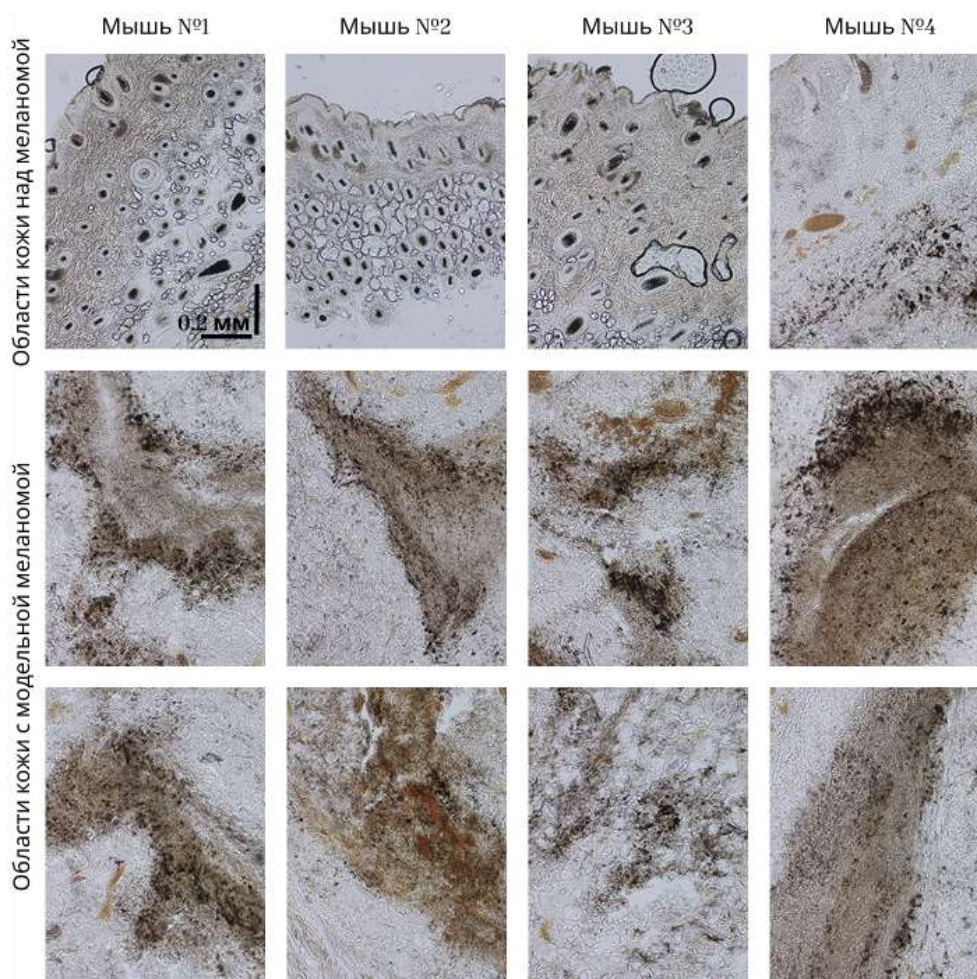


Рисунок 3.8. Изображения криосрезов, полученные методом световой микроскопии при 20-кратном увеличении различных участков кожи мышей: верхние слои кожи и области с меланоцитарным новообразованием.

На рисунке 3.9 представлено типичное конфокальное изображение криосреза участка с меланоцитарным новообразованием и прилегающими биотканями на 15 сутки после привития меланомы. ЗН занимает значительную часть среза и характеризуется неоднородной плотностью. В индуцированном меланоцитарном новообразовании наблюдаются скопления меланина, которые на флуоресцентном изображении характеризуются провалом в интенсивности флуоресценции и визуализируются как темное пространство. В данных участках меланин активно поглощает автофлуоресценцию микроокружения в детектируемом диапазоне (420 – 470 нм). Над поверхностью меланоцитарного новообразования видно истончение кожи. В структуре иссеченных тканей наблюдаются признаки, потенциально соответствующие усилению васкуляризации, что составляет основу для инициации ангиогенеза. Прилегающие ткани кожи, в частности в нижней и правой частях изображения (рис. 3.9), имеют более упорядоченную структуру. Кроме того, можно отметить сходство ЗН на конфокальных изображениях *ex vivo* и ОКТ-сканах *in vivo* на 15 сутки развития меланомы (рисунок 3.3).

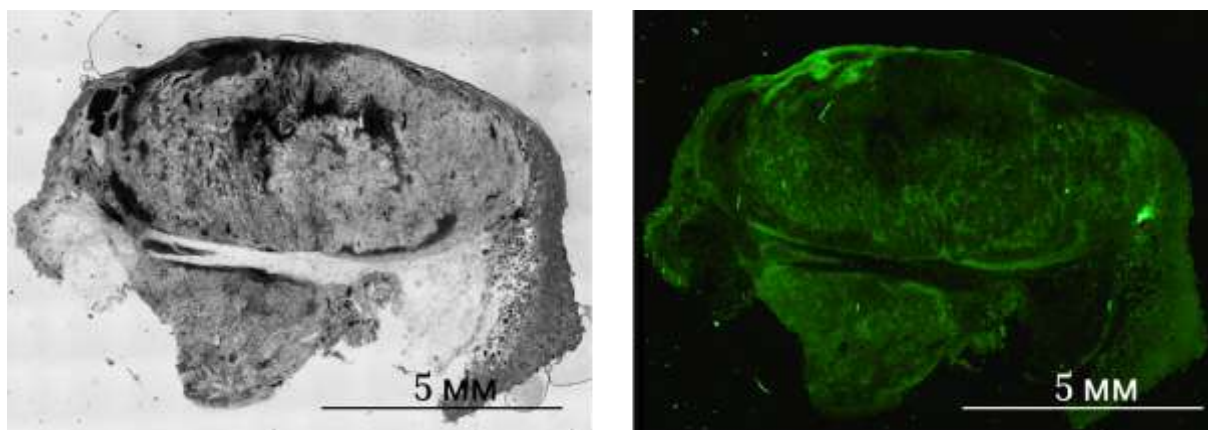


Рисунок 3.9. Конфокальные изображения криосреза участка с меланоцитарным новообразованием и прилегающими биотканями на 15 сутки после привития меланомы. Изображение на просвет (слева) и регистрируемый автофлуоресцентный сигнал (справа, возбуждение 405 нм, детекция 420 – 470 нм).

Таким образом, проведенные исследования демонстрируют высокую эффективность мультимодального подхода для анализа здорового кожного покрова и ЗН. Использование комбинации ОКТ, ВЧУЗИ, ОА-томографии и СДО позволило получить детализированные данные о структурных и оптических свойствах тканей на разных стадиях развития меланоцитарных новообразований. Предложенные методы продемонстрировали свою чувствительность к изменениям, связанным с ростом объема ЗН и повышением васкуляризации, а также к накоплению меланина в биотканях. Полученные коэффициенты диффузного отражения, ВЧУЗИ-, ОКТ- и ОА-изображения позволяют характеризовать динамические изменения структуры и свойств кожи в динамике роста индуцированного меланоцитарного новообразования. Эти результаты подтверждают целесообразность применения мультимодального метода для мониторинга процесса роста индуцированного меланоцитарного новообразования на начальных этапах *in vivo*.

3.2.2 Оценка содержания меланина в меланоцитарном новообразовании

На рисунке 3.10 представлены графики, демонстрирующие результаты анализа концентрации ($\text{мг}/\text{мм}^3$) меланина в меланоцитарных новообразованиях, объема (мм^3) ЗН и массы (мг) меланина в опухолевых биотканях, полученные после их иссечения на 7, 11 и 15 сутки развития меланомы у 9 лабораторных мышей. На рисунке 3.10а показано, как изменяется концентрация меланина в биоткани в процессе развития патологии. Данное значение увеличивается с 7 до 11 дня, что свидетельствует о прогрессивном накоплении меланина в индуцированном меланоцитарном новообразовании. Рисунок 3.10б иллюстрирует рост объема ЗН. Объем опухолевой ткани увеличивается существенно между 7, 11 и 15 днями, что согласуется

с динамикой развития патологии. К 15 дню объем ЗН достигает максимальных значений, что также указывает на активный процесс роста индуцированного меланоцитарного новообразования. Рисунок 3.10в отображает изменения массы меланина, накопленного в ЗН, в зависимости от времени. Масса меланина растет пропорционально увеличению объема ЗН, достигая максимальных значений на 15 сутки. Это указывает на корреляцию между ростом объема ЗН и накоплением меланина, что более заметно на рисунке 3.11. Результаты демонстрируют, что объем меланоцитарного новообразования и масса меланина увеличиваются по мере прогрессирования патологии. Увеличение концентрации меланина ассоциировано с прогрессированием индуцированного меланоцитарного новообразования и подтверждает его использование в качестве ключевого маркера для оценки прогрессирования опухолевого процесса. Полученные данные подтверждают, что по мере прогрессирования меланоцитарного новообразования изменения, зарегистрированные спектральными и ОА методами, согласуются с увеличением содержания меланина в ткани.

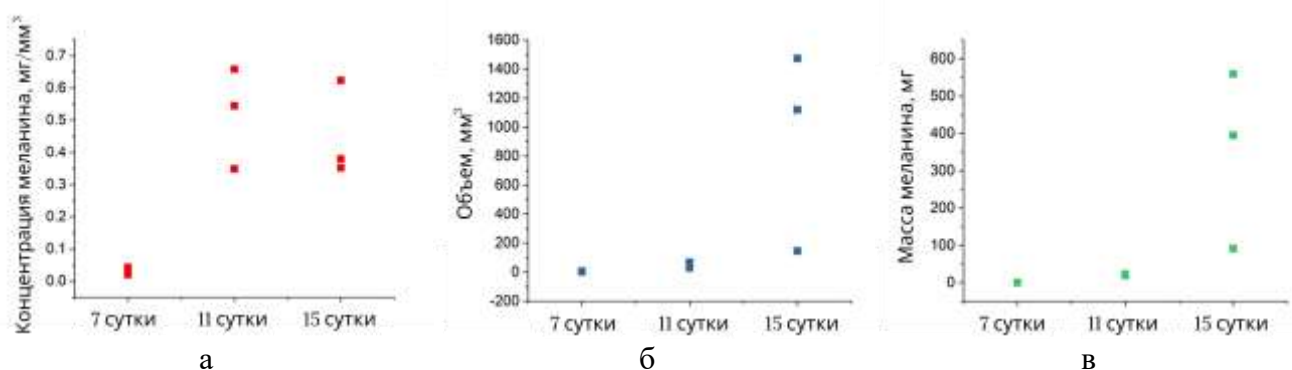


Рисунок 3.10. Динамика концентрации (мг/мм³) меланина (а) в меланоцитарных новообразованиях, объема (мм³) ЗН (б) и массы (мг) меланина (в) в патологических тканях на 7, 11 и 15 сутки развития индуцированного меланоцитарного новообразования.

На рисунке 3.11 представлена зависимость массы меланина от объема ЗН на основе данных, полученных на 7, 11 и 15 сутки развития меланомы у 9 лабораторных мышей. Линейное уравнение зависимости выражено формулой:

$$y = 5 + 0.37x, \quad (3.1)$$

где x – объем (мм³) ЗН, y – масса (мг) меланина в патологических тканях.

Коэффициент корреляции $r = 0.997$ указывает на практически полную линейную зависимость между этими параметрами и свидетельствует о сильной взаимосвязи между объемом ЗН и массой меланина в патологических тканях. Это означает, что по мере увеличения объема ЗН происходит пропорциональное накопление меланина. Коэффициент наклона (0.37) указывает на то, что при увеличении объема 1 мм³ масса меланина возрастает на 0.37 мг. Таким

образом, полученные результаты подтверждают, что содержание меланина в ЗН может быть использовано в качестве маркера роста меланоцитарного новообразования.

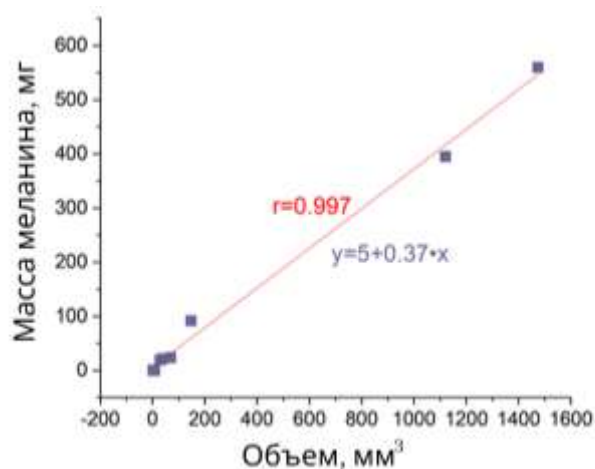


Рисунок 3.11. Зависимость массы меланина (мг) от объема ЗН (мм³), полученная по данным 9 иссеченных модельных меланом.

На рисунке 3.12 представлена гистограмма коэффициентов диффузного отражения на длинах волн 700 нм и 900 нм для участка с меланоцитарным новообразованием (ОИ) и контрольного участка (Контроль) кожи, расположенного симметрично ОИ, на различных стадиях развития меланомы (7, 11 и 15 сутки). Результаты усреднены по трем лабораторным мышам. Коэффициенты диффузного отражения на 700 нм и 900 нм для контрольного участка кожи сохраняют высокие значения, практически не изменяясь на протяжении исследования, что указывает на стабильность оптических свойств здоровой кожи у разных мышей. В области с меланоцитарным новообразованием наблюдается значительное снижение коэффициента диффузного отражения по сравнению с контрольным участком, а также постепенное уменьшение среднего значения коэффициента отражения, что коррелирует с прогрессированием патологии.

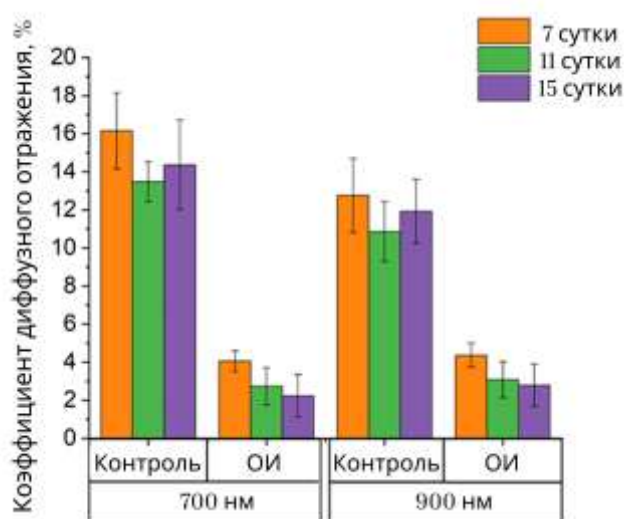


Рисунок 3.12. Гистограмма коэффициентов диффузного отражения на длинах волн 700 нм и 900 нм для контрольного участка кожи (Контроль) и области с меланоцитарным

новообразованием (ОИ) в различные дни развития индуцированного меланоцитарного новообразования (данные усреднены для 3 мышей в каждой группе).

На рисунке 3.13 представлены гистограммы коэффициентов вариации для коэффициентов диффузного отражения на длинах волн 700 нм и 900 нм для контрольного участка кожи (Контроль) и области с меланоцитарным новообразованием (ОИ) на 7, 11 и 15 сутки формирования меланомы. Данные рассчитаны на основе усредненных коэффициентов отражения для трех лабораторных мышей.

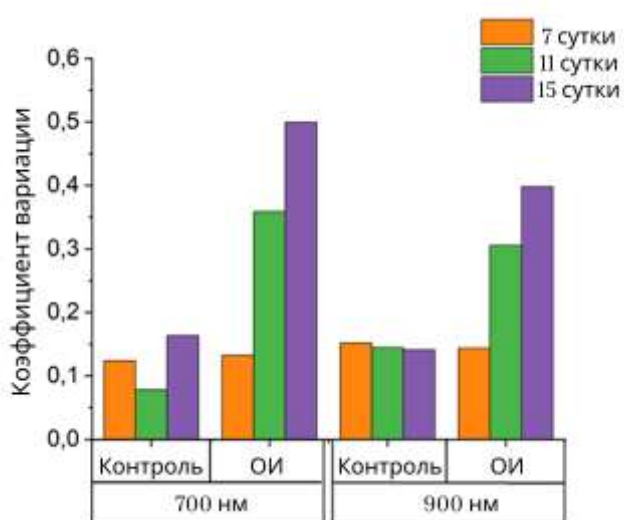


Рисунок 3.13. Гистограммы коэффициентов вариации для коэффициентов диффузного отражения на длинах волн 700 нм и 900 нм для контрольного участка кожи (Контроль) и области с меланоцитарным новообразованием (ОИ) на 7, 11 и 15 сутки формирования меланомы по результатам усреднения для трех мышей.

Коэффициент вариации для контрольных участков кожи остается низким (не более 0,2) на всех временных интервалах как на 700 нм, так и на 900 нм. Это свидетельствует о стабильности оптических свойств здоровой кожи между различными мышами и на разных стадиях исследования. Для области с меланоцитарным новообразованием (ОИ) наблюдается значительное увеличение коэффициента вариации, особенно на 15 сутки, что характерно как для длины волны 700 нм, так и для 900 нм. На 7 сутки коэффициент вариации в области ОИ сравним с контрольным участком, что может быть связано с низкой вариабельностью коэффициента диффузного отражения на данной стадии, однако рост вариабельности становится особенно заметным к 11 и 15 суткам. Повышение коэффициента вариации связано с неравномерным накоплением меланина и изменениями в микроструктуре биотканей по мере прогрессирования патологии у разных мышей. На 700 нм коэффициент вариации выше, чем на 900 нм. Это может быть обусловлено более сильным влиянием меланина, поглощающего свет в диапазоне 700 нм, особенно в поверхностных слоях в области с меланоцитарным новообразованием. На 900 нм

сигнал характеризуется большей проникающей способностью и отражает свойства более глубоких слоев ткани, что приводит к относительно меньшей вариабельности. Результаты анализа показывают, что область с меланоцитарным новообразованием характеризуется более высокой вариабельностью коэффициентов отражения по мере прогрессирования патологии. Повышение коэффициента вариации на более поздних стадиях может быть связано с гетерогенностью размеров и формы ЗН у разных мышей. Эти данные подчеркивают чувствительность СДО к пространственной и временной гетерогенности патологических тканей.

На рисунке 3.14 представлены коэффициенты угла наклона СДО в диапазоне длин волн 700 – 900 нм для области с меланоцитарным новообразованием на 7, 11 и 15 сутки развития меланомы. Данные рассчитаны для трех лабораторных мышей. Коэффициент угла наклона характеризует изменение коэффициента диффузного отражения с увеличением длины волны. Можно наблюдать стабильное уменьшение угла наклона в процессе роста индуцированного меланоцитарного новообразования, что соответствует накоплению меланина, который доминирует в оптических свойствах меланоцитарной биоткани в ближнем инфракрасном диапазоне. Увеличение разброса данных по мере прогрессирования патологии указывает на высокую индивидуальную вариабельность меланоцитарной структуры между различными мышами.

Таким образом, анализ коэффициентов угла наклона СДО позволяет отслеживать динамику накопления меланина и прогрессирования ЗН. Рост вариативности данных на более поздних стадиях развития указывает на гетерогенность оптических свойств меланоцитарных новообразований, что может быть связано с индивидуальными особенностями.

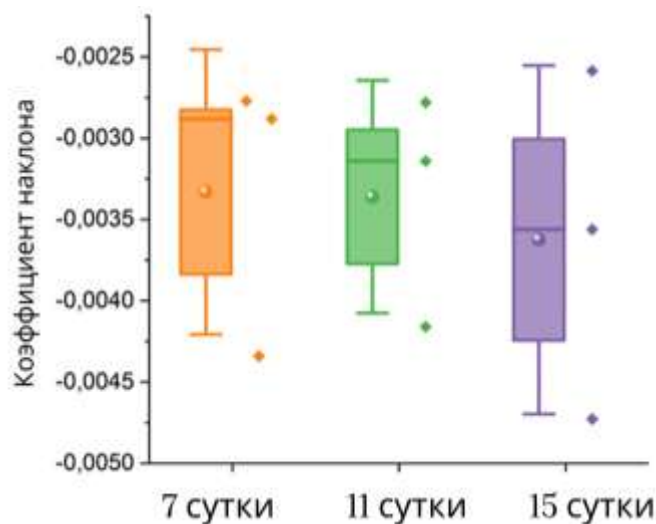


Рисунок 3.14. Коэффициенты угла наклона СДО в диапазоне длин волн 700 – 900 нм для области с меланоцитарным новообразованием на 7, 11 и 15 сутки развития патологии. Данные рассчитаны для трех мышей.

3.3 Выводы

В рамках исследования был опробован и реализован мультимодальный подход к изучению динамики развития ЗН и определению концентрации меланина в патологической ткани. Использование комбинации ОКТ, ВЧУЗИ, ОА-томографии и СДО позволило получить детализированное представление о структурных, геометрических и оптических свойствах биотканей на разных стадиях прогрессирования патологии.

Был продемонстрирован потенциал мультимодальных методов визуализации для анализа динамики роста и изменения оптических и структурных характеристик индуцированного меланоцитарного новообразования. Результаты показали, что каждая из примененных методик позволяет оценивать уникальные характеристики патологических биотканей: ОКТ позволяет выявить микроструктурные изменения и оценить коэффициенты рассеяния в области с меланоцитарным новообразованием. ВЧУЗИ и цветное доплеровское картирование позволяют проводить мониторинг геометрии ЗН и соответствующую реорганизацию сосудистой сети. ОА-томография и СДО обеспечили спектральную информацию и оценку накопления меланина и его распределения.

Были разработаны и апробированы методики количественной оценки содержания меланина в индуцированном меланоцитарном новообразовании. Было выявлено, что масса меланина коррелирует с объемом ЗН. Это подчеркивает значимость меланина как маркера для оценки состояния меланоцитарного новообразования и его прогрессирования.

Полученные результаты демонстрируют потенциал использования мультимодального подхода для комплексного мониторинга роста и прогрессирования экспериментальной меланомы *in vivo*. Применение предложенных методов позволяет не только выявлять структурные и оптические изменения в тканях, но и оценивать ключевые прогностические параметры, такие как объем ЗН и концентрация меланина. Эти данные могут быть использованы в дальнейшем для разработки методов ранней диагностики и мониторинга новообразований.

Глава 4. Мультимодальный метод для дифференциации доброкачественных новообразований, базальноклеточного рака и его клинических форм *in vivo*

В настоящей главе рассматривается задача неинвазивной дифференциации ДН кожи и БКР, а также распознавания клинических форм БКР на основе мультимодальной визуализации и количественного анализа диагностических признаков *in vivo*. Актуальность данной задачи определяется тем, что БКР является одним из наиболее распространенных ЗН кожи, при этом его клинические проявления и дерматоскопические признаки в ряде случаев перекрываются с проявлениями ДН. Это повышает вероятность диагностической неопределенности на первичном этапе обследования и, как следствие, увеличивает риск как необоснованных инвазивных вмешательств, так и позднего выявления злокачественного процесса при внешне малоспецифичной клинической картине.

В данной главе акцент переносится на интеграцию диагностически значимых признаков различных модальностей в рамках единого алгоритмического подхода. Дифференциальная диагностика осложняется не только межиндивидуальной вариабельностью оптических свойств кожи, но и выраженной гетерогенностью БКР. Клинические формы БКР могут различаться глубиной и скоростью роста, степенью выраженности поверхностных изменений, особенностями сосудистого рисунка и ремоделированием дермальных структур. Эти различия важны для постановки диагноза и выбора тактики лечения, поскольку определяют потенциальную агрессивность процесса, вероятность субклинического распространения и требования к последующему наблюдению. Однако в рамках одного диагностического метода соответствующие признаки нередко проявляются неполно либо маскируются пигментацией, воспалительными изменениями, рубцовыми трансформациями и артефактами контакта.

Мультимодальная визуализация в рамках главы рассматривается как единая система получения и интерпретации данных, где каждая модальность вносит специфический вклад в выявление ассоциированных признаков. ОКТ позволяет анализировать микроархитектуру новообразований и близкорасположенных биотканей, СДО — оценивать спектральные характеристики, связанные с поглощением и рассеянием, а ВЧУЗИ — оценивать геометрические, глубинные и структурные особенности новообразования. Интеграция данных в едином протоколе создает предпосылки для перехода от преимущественно качественной экспертной оценки к воспроизводимой количественной интерпретации мультимодальных данных и методу дифференциации, в котором диагностические признаки пригодны для статистического анализа и алгоритмической классификации.

Целью главы является разработка и апробация мультимодального метода дифференциации ДН и БКР кожи, а также распознавания клинических форм БКР *in vivo* на основе

набора количественных диагностических признаков и критериев принятия решения. Для достижения поставленной цели в главе решаются следующие задачи: формируется перечень информативных признаков различных модальностей; оценивается их диагностическая значимость; разрабатываются одномодальные и мультимодальные алгоритмы классификации; проводится внутренняя оценка диагностической эффективности предложенного подхода с учетом ограничений выборки и структуры данных.

Таким образом, глава 4 представляет собой прикладной раздел диссертации, в котором ранее обоснованные биофизические и методические решения объединяются в целостный мультимодальный подход к количественной диагностике новообразований кожи, направленный на поддержку клинического принятия решений. Полученные результаты позволяют оценить диагностический потенциал интеграции данных различных модальностей и определить ограничения, которые необходимо учитывать при последующей клинической валидации.

4.1 Материалы и методы

4.1.1 Схема исследования

Исследование одобрено Локальным этическим комитетом Саратовского государственного медицинского университета имени В.И. Разумовского Министерства здравоохранения России (протокол №09 от 04.04.2023 г.). Работа выполнена в соответствии с этическими принципами, изложенными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации 2013 г. [122], а также с требованиями Федерального закона от 21.11.2011 №323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации». От всех участников исследования было получено информированное добровольное согласие. Критериями исключения являлись: отказ добровольца от участия в клиническом исследовании, морфологически подтвержденный диагноз – меланома кожи; морфологически подтвержденный диагноз – плоскоклеточный рак кожи; наличие открытых ран и/или язв в области новообразования.

В исследовании приняли участие 65 добровольцев обоих полов в возрасте от 18 до 85 лет, относящихся ко II фототипу кожи согласно классификации Фицпатрика [44]. В анализ были включены 106 новообразований кожи, из которых 71 случай относился к БКР, а 35 случаев — к ДН кожи, включая дерматофиброму, меланоцитарный (меланоформный) невус, себорейный кератоз. Каждое новообразование было сопоставлено с диагнозом, установленным на основании результатов морфологического исследования.

Новообразования исследовались мультимодальным методом: ВЧУЗИ, ОКТ, СДО. При этом не для всех новообразований были получены пригодные для анализа данные по каждой из

модальностей. К мультимодальным случаям относили новообразования, для которых были доступны данные как минимум двух методов. Такая схема исследования отражает особенности реальных клинических измерений, однако одновременно ограничивает полноту и равномерность представления данных по всем комбинациям модальностей (табл. 4.1).

Настоящее исследование носит характер внутренней апробации разработанного подхода на ограниченной клинической выборке. В связи с этим полученные результаты следует рассматривать как оценку диагностического потенциала метода, а не как окончательно верифицированные клинические критерии, пригодные для непосредственного широкого внедрения без дальнейшей внешней проверки.

Таблица 4.1. Распределение ДН и ЗН в зависимости от мультимодальных и одномодальных комбинаций методов визуализации.

Тип анализа	Комбинация модальностей	Количество ДН	Количество ЗН
Мультимодальный	ОКТ + СДО + ВЧУЗИ	10	28
	ОКТ + СДО	6	7
	СДО + ВЧУЗИ	16	11
	ОКТ + ВЧУЗИ	3	2
Одномодальный	ОКТ	0	2
	СДО	0	20
	ВЧУЗИ	0	1

Для задачи классификации клинических форм БКР и ДН было проанализировано 37 новообразований кожи, для которых был доступен сопоставимый набор количественных признаков. Выборка включала 10 ДН и 27 случаев БКР, распределенных по следующим клиническим формам: инфильтративно-язвенная — 2 случая, пигментированная — 2 случая, поверхностная — 15 случаев, морфеоподобная — 3 случая, узловая — 5 случаев. Следует отметить, что данная выборка является ограниченной и несбалансированной по числу наблюдений в отдельных классах, поэтому результаты многоклассовой классификации следует интерпретировать как предварительные и ориентированные на оценку принципиальной различимости диагностических категорий в рамках предложенного подхода.

Для визуализации поверхности кожи с новообразованием использовался поляризационный дерматоскоп Firefly DE 300 (Firefly, Люнебург, Германия) с 10-кратным увеличением и разрешением 1920 на 1080 пикселей. Сканирование ОКТ проводили с помощью спектрального ОКТ GAN930V2-BU (Thorlabs, Ньютон, Нью-Джерси, США), работающего на центральной длине волны 930 нм с аксиальным и латеральным разрешением 5.34 и 7.32 мкм (на воздухе) соответственно и глубиной сканирования 2.7 мм. СДО регистрировали с помощью спектрометра USB4000-UV-VIS (Ocean Optics, Пибоди, Массачусетс, США) и волоконно-оптического зонда QR400-7-VIS-NIR (Ocean Optics, Пибоди, Массачусетс, США) в спектральном

диапазоне 450 – 950 нм. ВЧУЗИ проводилось с помощью DUB SkinScanner (Taberna Pro Medicum GmbH, Люнебург, Германия) в режиме В-сканирования двумя зондами, работающими на центральных частотах 33 и 75 МГц. Глубина сканирования составляла до 5 мм, аксиальное разрешение — 48 и 21 мкм соответственно для каждого зонда.

На рисунке 4.1 представлена схема регистрации мультимодальных данных. Для каждого метода показаны используемое оборудование, геометрия расположения зонда относительно поверхности кожи, а также характерный набор исходных данных. Данная иллюстрация наглядно демонстрирует принцип получения пространственно соотнесенных, но модально-специфичных данных, зарегистрированных в ходе одного диагностического обследования.

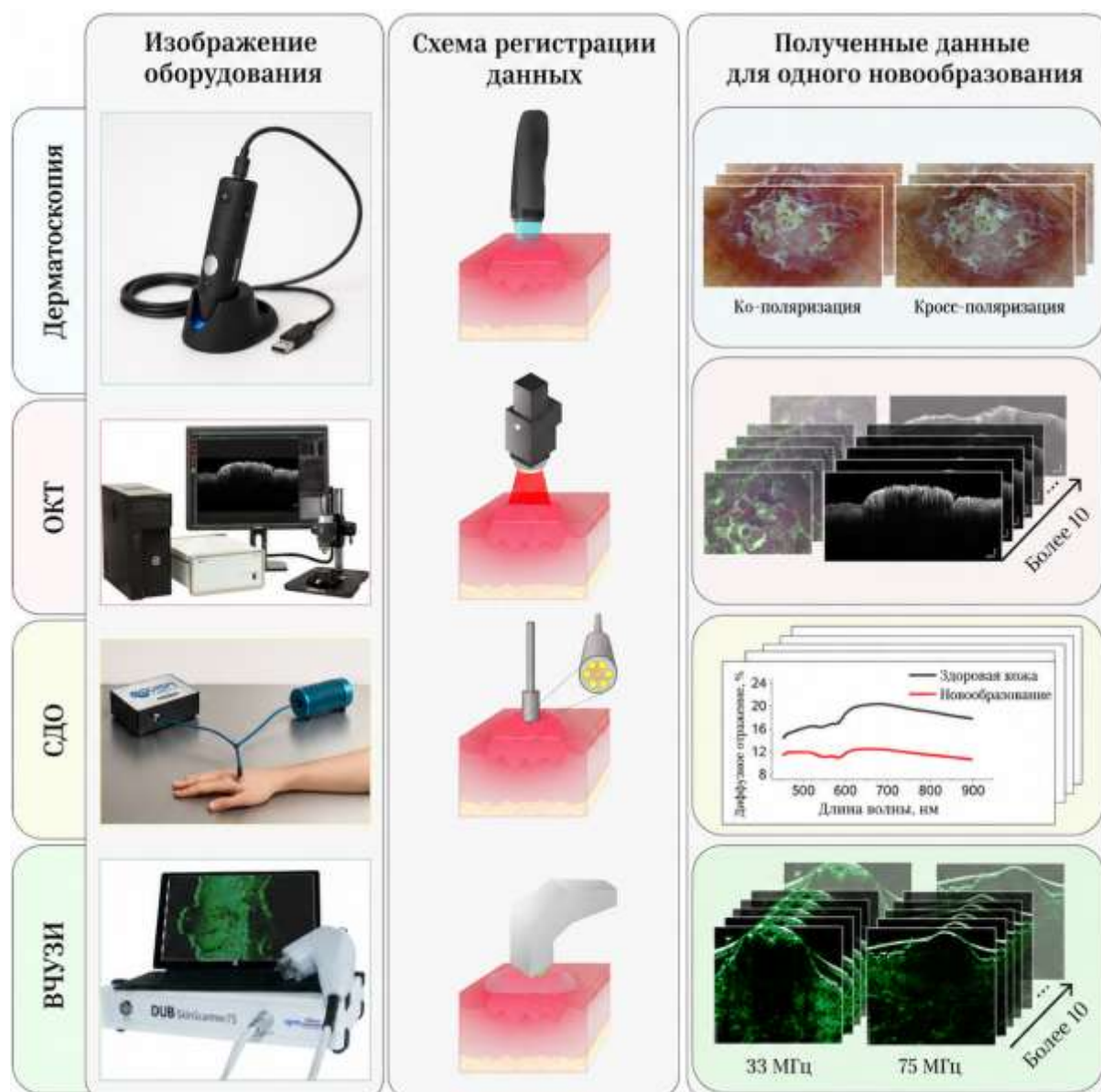


Рисунок 4.1. Схематическое представление регистрации мультимодальных данных о новообразовании кожи.

В качестве ОПА использовался 40% водный раствор глицерина, который наносился на исследуемый участок на 10 минут. Результат ОП регистрировался с помощью ОКТ до и после местного нанесения ОПА.

Для анализа ОКТ-данных были отобраны изображения 58 новообразований, из них 19 ДН и 39 ЗН. Изображения, признанные неинформативными и/или содержащие артефакты, были исключены из исследования. Для каждого новообразования было отобрано не менее 10 и не более 50 ОКТ-изображений.

Для анализа СДО были отобраны спектры коэффициента диффузного отражения 98 новообразований, из них 32 ДН и 66 ЗН. Спектры, признанные неинформативными и/или содержащие артефакты, были исключены из исследования. Для каждого новообразования было отобрано не менее 3 и не более 10 спектров коэффициента диффузного отражения.

Для анализа данных ВЧУЗИ были отобраны изображения 71 новообразования, из них 29 ДН и 42 ЗН. Для каждого новообразования было отобрано не менее 3 и не более 10 ВЧУЗИ-изображений. Изображения, признанные неинформативными, были исключены из анализа.

4.1.2 Текстуальный анализ ОКТ-изображений

Текстуальный анализ представляет собой анализ изменений яркости пикселей в пределах небольшого участка изображения. В контексте ОКТ текстуальный анализ позволяет количественно оценить гетерогенность ткани в выбранной области структурного изображения. Данный подход широко применяется при обработке различных типов изображений [111], несмотря на то что в настоящее время понятие текстуры не имеет строго формализованного определения, а интерпретация текстурных параметров может различаться. Как отмечал Харалик [106], формального универсального подхода к описанию текстуры не существует, и методы ее выделения, как правило, разрабатываются для конкретных задач. В литературе выделяют по меньшей мере три основных подхода к текстурному анализу [137]: статистический, структурный и стохастический.

В рамках статистического подхода текстурные характеристики рассчитываются на основе статистического распределения интенсивностей пикселей в ОИ. Статистические методы подразделяются на методы первого порядка, второго порядка, основанные на матрицах совместной встречаемости уровней серого, а также методы более высоких порядков [110, 111; 137–140]. Параметры первого порядка, такие как среднее значение, стандартное отклонение, коэффициент асимметрии и коэффициент эксцесса, непосредственно связаны с распределением интенсивности оттенков серого и не учитывают межпиксельные корреляции. В отличие от этого, параметры второго порядка зависят от пространственного распределения интенсивностей

пикселей в пределах ОИ. К таким параметрам относятся энергия, однородность (или обратный разностный момент), контраст, корреляция и энтропия.

Матрицы совместной встречаемости уровней серого описывают статистику второго порядка изображений. В данном случае характеристики зависят от пространственного расположения уровней серого в области интереса и позволяют получить информацию о текстуре исследуемого участка. Метод основан на оценке совместных условных вероятностей второго порядка $P_{d,\theta}(i,j)$. Каждое значение $P_{d,\theta}(i,j)$ отражает вероятность перехода от уровня серого i к уровню j в заданном направлении θ при фиксированном межпиксельном расстоянии d [138, 141]. Параметр энергии принимает минимальные значения в случае, когда все вероятности $P_{d,\theta}(i,j)$ равны и отсутствуют доминирующие уровни серого, то есть большинство уровней имеют сопоставимую вероятность появления. Параметр контраста является чувствительным к выраженным различиям в элементах матриц совместной встречаемости уровней серого. Области с высокой контрастностью характеризуются высокими значениями данного параметра, тогда как более однородные участки имеют низкий контраст. Параметр корреляции количественно оценивает зависимость уровней серого между двумя пикселями, разделенными расстоянием d . Низкие значения корреляции указывают на независимость уровней серого и отсутствие регулярной структуры изображения. Высокая корреляция может свидетельствовать о повторяемости определенных структурных паттернов в пределах анализируемого окна. Энтропия характеризует степень пространственной неупорядоченности в пределах вычислительного окна. Она принимает высокие значения при неодинаковых вероятностях $P_{d,\theta}(i,j)$, что соответствует грубой текстуре, и низкие значения при более однородной и сглаженной структуре. Параметр однородности количественно оценивает локальное сходство в пределах вычислительного окна. Его значения возрастают для матриц совместной встречаемости уровней серого, элементы которых сосредоточены вблизи главной диагонали. Такие матрицы соответствуют текстурам с организованной структурой и низкой контрастностью, когда уровни серого на фиксированном расстоянии d имеют близкие значения. Данный параметр отражает степень однородности ОИ [138, 141].

Для проведения текстурного анализа отбирались ОКТ-изображения, не содержащие артефактов, таких как артефакты движения, приводящие к размытию структурного изображения, артефакты зеркального отражения, а также теневые эффекты, возникающие вследствие отражения света от плотных структур и вызывающие затемнение подлежащих тканей по сравнению с соседними идентичными биологическими структурами.

Выделенная ОИ для каждого В-скана включала изображения внутренней структуры новообразования для последующего расчета параметров первого порядка и признаков Харалика. Глубина ОИ составляла не менее 534 мкм, ширина — не менее 400 мкм.

Для каждого новообразования отбиралось минимум по 10 ОКТ-изображений с одной ОИ, при этом каждый В-скан регистрировался на различных участках новообразования. Выделение ОИ было необходимо, поскольку размеры ряда новообразований были меньше ширины окна зондирования ОКТ либо включали относительно здоровые участки кожи. Кроме того, часть новообразований локализовалась в областях с анатомически сложным рельефом (например, в области носа), что затрудняло проведение ОКТ-исследования, и только часть изображения находилась в фокусе системы ОКТ.

С целью уменьшения влияния шума вне структурного изображения биологической ткани применялся пороговый фильтр. Интенсивность каждого пикселя сравнивалась с пороговым значением, если интенсивность была меньше либо равна порогу, значение интенсивности данного пикселя принималось равным 0.

Для определения порогового значения на каждом ОКТ-скане выбиралась прямоугольная область размером приблизительно 500×2000 мкм, расположенная ниже изображения биологической ткани, по которой рассчитывались среднее значение и стандартное отклонение интенсивности пикселей. Пороговое значение определялось как сумма среднего значения и стандартного отклонения.

Для снижения влияния спекл-шумов на В-сканах последовательно применялись фильтр эрозии с шириной окна 3 пикселя и двумерный сглаживающий фильтр с гауссовым ядром при заданном значении стандартного отклонения 1.5.

На рисунке 4.2 представлен исходный ОКТ-скан с выделенной ОИ для расчета статистических параметров первого порядка и признаков Харалика, а также область, использованная для оценки порогового сигнала, до и после применения пороговой фильтрации.

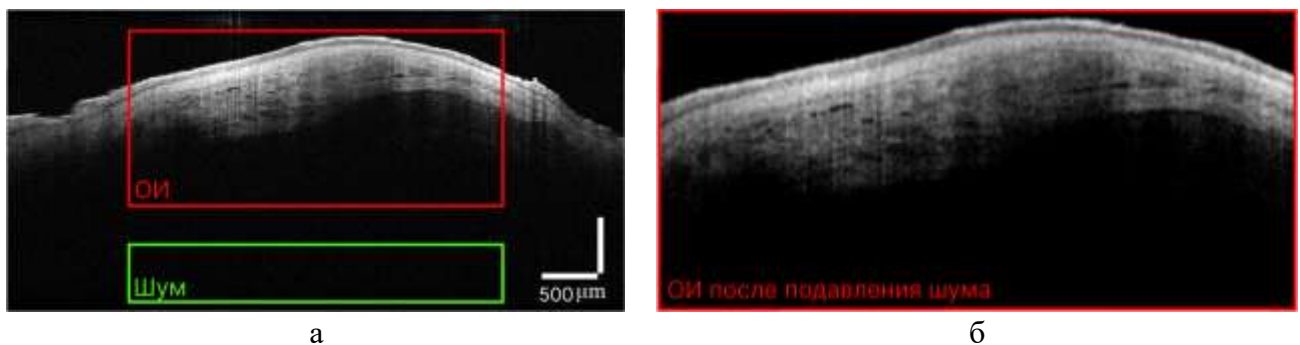


Рисунок 4.2. Типичный ОКТ-скан морфеоподобной формы БКР: (а) исходный ОКТ-скан с выделенной ОИ (красная рамка) и областью вне структурного изображения – Шум (зеленая рамка), (б) ОИ после подавления шума. Масштабная метка соответствует 250 мкм.

Для расчета признаков Харалика в пределах ОИ первоначально формировались четыре матрицы совместной встречаемости уровней серого. Матрицы рассчитывались для четырех ориентаций: горизонтальной, вертикальной и двух диагональных (направления, соответствующие углам 0° , 45° , 90° и 135°). Межпиксельное расстояние принималось равным 1, 5 и 9 пикселям. Таким образом, для каждой ОИ из 8-битного ОКТ-изображения формировалось 12 матриц совместной встречаемости уровней серого (4 направления $\times$ 3 межпиксельных расстояния). Матрицы совместной встречаемости уровней серого усреднялись по всем четырём направлениям для обеспечения инвариантности к повороту.

По полученным усредненным матрицам совместной встречаемости уровней серого для каждого межпиксельного расстояния рассчитывались текстурные характеристики Харалика (статистические параметры второго порядка): контраст, несходство, однородность, энергия и корреляция [110, 111, 137]. Дополнительно по ОКТ-изображениям были рассчитаны следующие статистические параметры: **Среднее** значение интенсивности пикселей, **стандартное отклонение** интенсивности пикселей, **коэффициент эксцесса** распределения интенсивности пикселей и **коэффициент асимметрии** распределения интенсивности пикселей. Дополнительно по гистограмме распределения уровней серого в ОИ вычислялись статистические параметры первого порядка. Кроме того, для каждой ОИ на основе исходного В-скана рассчитывалась **энтропия Шеннона**.

С использованием программного обеспечения MATLAB была разработана программа для автоматического расчета указанных параметров. Пиксели с интенсивностью, равной нулю, и относящиеся к фоновым областям, не учитывались при расчете статистических параметров первого порядка и признаков Харалика.

4.1.3 Анализ спектральных характеристик новообразований по СДО

Для анализа СДО использовались значения коэффициента диффузного отражения в спектральном диапазоне длин волн от 450 до 900 нм. Для каждого новообразования отбиралось не менее 3 спектров.

Коэффициент диффузного отражения (R_λ) на длине волны λ рассчитывался как отношение интенсивности излучения, отраженного от исследуемой области, к интенсивности излучения, отраженного от эталонного образца (Спектралон белый, Edmund Optics, США) с коэффициентом отражения, близким к 100%, в спектральном диапазоне от 450 до 900 нм.

Расчет **эффективной оптической плотности** кожи OD_λ основан на измерении коэффициента R_λ в соответствии с выражением:

$$OD_\lambda = -\lg R_\lambda, \quad (4.1)$$

где R_λ – эффективный коэффициент диффузного отражения на длине волны λ ;

Из каждого спектра для новообразования и симметрично и/или близко расположенного участка условно здоровой кожи были извлечены следующие параметры:

1. **Индекс эритемы (E):** коэффициент, характеризующий кровенаполнение, основанный на различиях оптической плотности на длинах волн, соответствующих полосам поглощения гемоглобина, рассчитанный по формуле [142]:

$$E = 100 [OD_{560} + 1.5 (OD_{545} + OD_{575}) - 2 (OD_{510} + OD_{610})], \quad (4.2)$$

где $OD_\lambda = -\lg(R_\lambda)$ – эффективная оптическая плотность на длине волны λ .

2. **Индекс меланиновой пигментации (M):** отражает уровень пигментации на основе разницы в оптической плотности между длинами волн 650 и 700 нм [142].

$$M = 100(OD_{650} - OD_{700}), \quad (4.3)$$

3. **Индекс, чувствительный к содержанию гемоглобина (H_1):** индекс, учитывающий уровни оптической плотности на длинах волн, связанных с концентрацией гемоглобина, по формуле [16]

$$H_1 = \frac{OD_{545} - OD_{529}}{16} - \frac{OD_{570} - OD_{545}}{25}, \quad (4.4)$$

4. **Индекс оксигенации ($Sat O_2$):** параметр, характеризующий уровень оксигенации тканей и рассчитываемый на основе соотношения коэффициентов отражения в ближнем инфракрасном диапазоне [143]

$$Sat O_2 = 150.602 \cdot \frac{R_{760}}{R_{790}} - 73.192, \quad (4.5)$$

5. **Индекс, чувствительный к содержанию гемоглобина 2 (H_2):** индекс, коррелирующий с концентрацией общего гемоглобина, рассчитанный с использованием изобестических точек спектров поглощения гемоглобина:

$$H_2 = \frac{R_{500}}{R_{452}}, \quad (4.6)$$

6. **Индекс, чувствительный к содержанию гемоглобина 3 (H_3):** дополнительный параметр, коррелирующий с общей концентрацией гемоглобина, рассчитанный с использованием изобестических точек спектров поглощения гемоглобина:

$$H_3 = \frac{R_{545}}{R_{452}}, \quad (4.7)$$

7. **Коэффициент наклона спектра:** Наклон линейной аппроксимации спектра в диапазоне 650 – 850 нм, характеризующий общий спектральный тренд.

8. **Коэффициенты линейности и коэффициент нелинейности** в диапазоне длин волн 650 – 800 нм рассчитывались с использованием стандартных функций программного обеспечения MATLAB версии R2019a (The MathWorks, г. Нэтик, штат Массачусетс, США). Коэффициент нелинейности характеризует отклонение спектра отражения от линейной

зависимости в диапазоне длин волн 650 – 800 нм и отражает вариации свойств рассеяния и поглощения.

9. **Среднее значение коэффициента отражения:** среднее значение интенсивности отражения по всему зарегистрированному спектральному диапазону, характеризующее суммарные процессы рассеяния и поглощения света.

10. Дополнительно на основе спектров СДО рассчитывался **коэффициент «злокачественности»** (R_t) [16] по формуле:

$$R_t = \frac{R_{\text{healthy } 500} R_{\text{neoplasm } 700}}{R_{\text{healthy } 700} R_{\text{neoplasm } 500}}, \quad (4.8)$$

где $R_{\text{healthy } 500}$, $R_{\text{healthy } 700}$, $R_{\text{neoplasm } 500}$, $R_{\text{neoplasm } 700}$ — коэффициенты СДО условно здоровой кожи и новообразования на длинах волн 500 и 700 нм соответственно.

Для исключения индивидуальных спектральных особенностей кожи добровольцев полученные характеристики нормировались на средние значения соответствующих параметров условно здоровой кожи.

4.1.4 Анализ геометрических и структурных особенностей новообразований по ВЧУЗИ-изображениям

Для анализа данных ВЧУЗИ для каждого новообразования отбиралось не менее 3 изображений без артефактов и с наиболее контрастно выраженными границами новообразования относительно условно здоровой кожи. Для анализа геометрических и структурных особенностей новообразований использовались бинарные маски новообразований. Маски формировались путем выделения контуров новообразований на ВЧУЗИ-изображениях с помощью специально разработанного программного обеспечения на языке программирования Python.

По изображениям масок были рассчитаны следующие параметры: **Площадь** ($Area$) — площадь области, ограниченной контуром новообразования, определяемая как сумма пикселей, входящих в ОИ; **Периметр** ($Perimeter$) — длина замкнутой границы области (длина контура новообразования), рассчитываемая как сумма расстояний между каждой парой соседних пикселей вдоль границы ОИ; **Округлость** ($Circ$) — мера близости формы к идеальному кругу (для круга равна 1; уменьшается при вытянутых/неровных контурах):

$$Circ = \frac{4\pi \cdot Area}{Perimeter^2}, \quad (4.9)$$

Отношение сторон — отношение ширины к высоте прямоугольника, ограничивающего контур новообразования; **Индекс неровности контура** (T) — отношение периметра новообразования к площади:

$$T = \frac{Perimeter}{Area}, \quad (4.10)$$

Эксцентриситет – мера вытянутости, основанная на параметрах эллипса, аппроксимирующего новообразование, определялся как отношение расстояния между фокусами эллипса к длине его большой оси (для круга равен 0 и возрастает до 1 при увеличении вытянутости); **Максимальный диаметр Ферета** – максимальное расстояние между двумя параллельными касательными к контуру новообразования при всевозможных углах поворота; **Максимальный угол Ферета** – угол наклона максимального диаметра Ферета относительно горизонтальной оси изображения, **Заполненная площадь** – площадь области, ограниченной контуром новообразования, после заполнения внутренних полостей маски; **Заполненность** – отношение площади новообразования к площади его ограничивающего прямоугольника; **Коэффициент формы (FF)** – отношение квадрата периметра к площади новообразования:

$$FF = \frac{Perimeter^2}{Area}, \quad (4.11)$$

Нормированный периметр по описанной окружности – отношение длины минимальной окружности ($2\pi R$), описывающей область новообразования к периметру новообразования; **Заполненность описанной окружности** – отношение площади новообразования к площади описанной окружности (πR^2); **Эквивалентный диаметр (ED)** – диаметр окружности той же площади, что и новообразование:

$$ED = \sqrt{\frac{4 \cdot Area}{\pi}}, \quad (4.12)$$

Ориентация – угол наклона главной оси аппроксимирующего эллипса новообразования относительно горизонтальной оси; **Длины большой и малой осей** – длины большой и малой осей аппроксимирующего эллипса, вписанного в контур новообразования; **Выпуклые дефекты** – разница между объектом и его выпуклой оболочкой, **Центроид X и Y** – геометрический центр фигуры по координатам X и Y, **Компактность (Comp)** – обратная величина коэффициента формы, определяемая как отношение площади новообразования к квадрату его периметра:

$$Comp = \frac{Area}{Perimeter^2}, \quad (4.13)$$

Также рассчитывалось **количество выпуклых дефектов** вдоль контура новообразования. Выбор указанных параметров (рис. 4.3) обеспечил формирование количественных признаков, необходимых для комплексной оценки геометрических и структурных особенностей новообразований, используемых в дальнейшем для задач классификации.

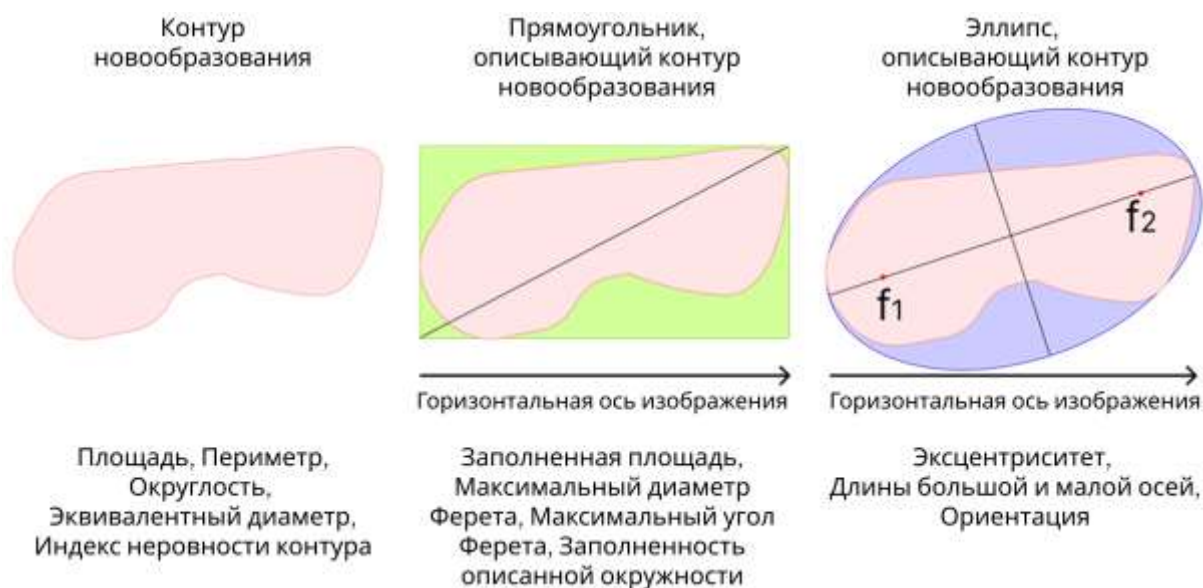


Рисунок 4.3. Схема анализа формы новообразования по данным ВЧУЗИ, где f_1 и f_2 — фокусы эллипса.

4.1.5 Предобработка данных и анализ главных компонент

Для сокращения размерности данных, полученных методами ОКТ, СДО и ВЧУЗИ, был применен анализ главных компонент (АГК). Данный метод позволяет выделить наиболее информативные признаки из многомерных данных, минимизируя при этом потери информации. Перед применением АГК все данные были стандартизированы с использованием метода *StandardScaler*, чтобы привести признаки к единой шкале. Для устранения выбросов использовался метод интерквартильного размаха (*Interquartile range, IQR*). Данные, выходящие за пределы $1.5 \times \text{IQR}$ ниже первого квартиля или выше третьего квартиля, удалялись из выборки данных одного добровольца.

АГК был выполнен для каждой модальности с сохранением первых трех главных компонент (ГК). Эти компоненты объясняли максимальную долю дисперсии в данных, обеспечивая компактное представление исходных признаков. Результаты АГК были визуализированы с использованием графиков рассеяния точек, где точки представляли наблюдения, а цвета обозначали метки классов (ДН и ЗН).

Для интерпретации результатов АГК были рассчитаны коэффициенты нагрузок, отражающие вклад каждого исходного признака в ГК. Коэффициенты нагрузок визуализировались в виде столбчатых диаграмм.

4.1.6 Машинное обучение для классификации ДН и ЗН на основе одномодальных классификаторов

Для классификации ДН и ЗН был разработан и применен алгоритм машинного обучения на основе данных ОКТ, СДО и ВЧУЗИ. Исходные данные включали признаки, извлеченные из данных каждой модальности, отображенные в пространстве первых трех ГК. Анализ данных и реализация алгоритма машинного обучения проводились с использованием языка программирования Python 3 с применением библиотек *pandas*, *NumPy*, *matplotlib*, *scikit-learn* и *CatBoost* (Categorical Boosting). Обучение одномодальных классификаторов проводилось с использованием алгоритма градиентного бустинга – *CatBoost*, который обладает высокой точностью и устойчивостью к дисбалансу классов. Параметры модели включали использование взвешивания классов в зависимости от соотношения ДН и ЗН для минимизации влияния несбалансированности классов. Для оценки диагностической эффективности алгоритма использовалась стратегия перекрестной валидации с исключением одного новообразования на каждой итерации. В рамках данного подхода все признаки, относящиеся к одному новообразованию, исключались из обучающей выборки и использовались только для независимого тестирования модели. На каждой итерации классификатор обучался на данных всех новообразований, за исключением одного, и затем тестировался на исключенном объекте. Такой подход позволял минимизировать риск утечки информации между обучающей и тестовой выборками и получить более корректную внутреннюю оценку качества классификации в условиях ограниченного объема данных. В качестве базовой модели использовался алгоритм градиентного бустинга решающих деревьев *CatBoost*. При обучении применялось взвешивание классов для снижения влияния их несбалансированности. Гиперпараметры модели подбирались эмпирически, а обучение останавливалось при срабатывании встроенного механизма контроля переобучения.

Для каждого новообразования агрегировались вероятности предсказаний, полученные для всех методов, путем вычисления среднего значения. Агрегированные вероятности преобразовывались в бинарные предсказания на основе порога 0.5, что позволило получить диагноз на уровне отдельного новообразования. Результаты классификации оценивались по следующим метрикам: матрица смежности, кривая ошибок и кривая прецизионность-чувствительность с вычислением площади под кривой ошибок и площади под кривой прецизионность-чувствительность. В качестве основных числовых показателей использовались точность классификации (*Accur*), чувствительность (*Sens*), специфичность (*Spec*), прецизионность (*Prec*), F_1 -мера и коэффициент согласия каппа Коэна. Для многоклассовой задачи дополнительно рассчитывалось среднее значение метрики пересечение над

объединением. Использование совокупности указанных метрик позволяло оценивать не только общую точность модели, но и устойчивость классификации отдельных классов в условиях несбалансированной выборки.

Точность классификации модели демонстрирует долю правильно классифицированных объектов среди всех объектов тестовой выборки:

$$Accur = \frac{TP + TN}{TP + TN + FP + FN}, \quad (4.14)$$

где TP (True Positive) — число истинно положительных классификаций, TN (True Negative) — число истинно отрицательных классификаций, FP (False Positive) — число ложноположительных классификаций, FN (False Negative) — число ложноотрицательных классификаций.

Чувствительность представляет долю истинно положительных объектов, правильно отнесенных моделью к положительному классу:

$$Sens = \frac{TP}{TP + FN}, \quad (4.15)$$

где TP — число истинно положительных классификаций, FN — число ложноотрицательных классификаций.

Специфичность характеризует долю корректно распознанных отрицательных объектов среди всех объектов отрицательного класса:

$$Spec = \frac{TN}{TN + FP}, \quad (4.16)$$

где TN — число истинно отрицательных классификаций, FP — число ложноположительных классификаций,

Прецизионность описывает долю истинно положительных предсказаний среди всех положительных предсказаний модели:

$$Prec = \frac{TP}{TP + FP}, \quad (4.17)$$

где TP — число истинно положительных классификаций, FP — число ложноположительных классификаций.

Также удобно использовать **F_1 -меру**, которая объединяет прецизионность и чувствительность в виде их среднего гармонического значения:

$$F_1 = \frac{2 \cdot Prec \cdot Sens}{Prec + Sens}, \quad (4.18)$$

В качестве дополнительной метрики качества предложенного метода для каждого класса новообразований применялась метрика пересечение над объединением (IoU):

$$IoU = \frac{TP}{TP + FP + FN}, \quad (4.19)$$

где TP — число истинно положительных классификаций, FP — число ложноположительных классификаций, FN — число ложноотрицательных классификаций.

В результате были разработаны три одномодальных классификатора, основанные соответственно на признаках, извлеченных из данных ВЧУЗИ, ОКТ и СДО. Каждая из моделей продемонстрировала различный уровень эффективности при дифференциации ДН и ЗН, что послужило основой для последующей мультимодальной интеграции.

4.1.7 Машинное обучение для классификации ДН и ЗН на основе мультимодального классификатора

Для построения мультимодального классификатора использовалось объединение предсказаний трех одномодальных моделей, основанных на данных ОКТ, СДО, ВЧУЗИ, с использованием метода взвешенного голосования. Веса для каждой модели рассчитывались на основе их индивидуальных значений площади под кривой ошибок, отражающих вклад соответствующего одномодального классификатора в общую точность классификации. Для каждого новообразования вероятности принадлежности к классу ЗН рассчитывались отдельно для каждой модели. Каждой вероятности назначался вес, пропорциональный площади под кривой ошибок соответствующей модели. Итоговая вероятность принадлежности к злокачественному классу вычислялась как взвешенное среднее вероятностей, нормализованное по сумме весов. Итоговое предсказание диагноза для каждого новообразования определялось на основе порога вероятности, равной 0.5. Результаты классификации оценивались по следующим метрикам: Матрица смежности, точность, чувствительность, прецизионность, F_1 -мера и коэффициент согласия каппа Коэна.

Этот подход обеспечивает интеграцию информации, получаемой из нескольких модальностей, однако не учитывает возможные корреляции между модальностями. Тем не менее данный подход оказывается особенно полезным, когда пространственная несогласованность измерений затрудняет прямое объединение данных в рамках единой модели. При этом использование моделей, учитывающих межмодальные корреляции, потенциально может дополнительно повысить диагностическую точность.

Мультимодальный классификатор обучался на выборке данных, включавшей как минимум два различных метода скрининга. Таким образом, использование классификатора с взвешенным голосованием позволяет учитывать данные о новообразованиях, у которых одна из модальностей отсутствует. Данный подход является гибким и практически значимым в клинических условиях, в случае невозможности проведения какого-либо из методов скрининга, например, при сложных анатомических локализациях новообразований.

Таким образом, на рисунке 4.4 представлена схема мультимодального алгоритма обучения для диагностики новообразований кожи.

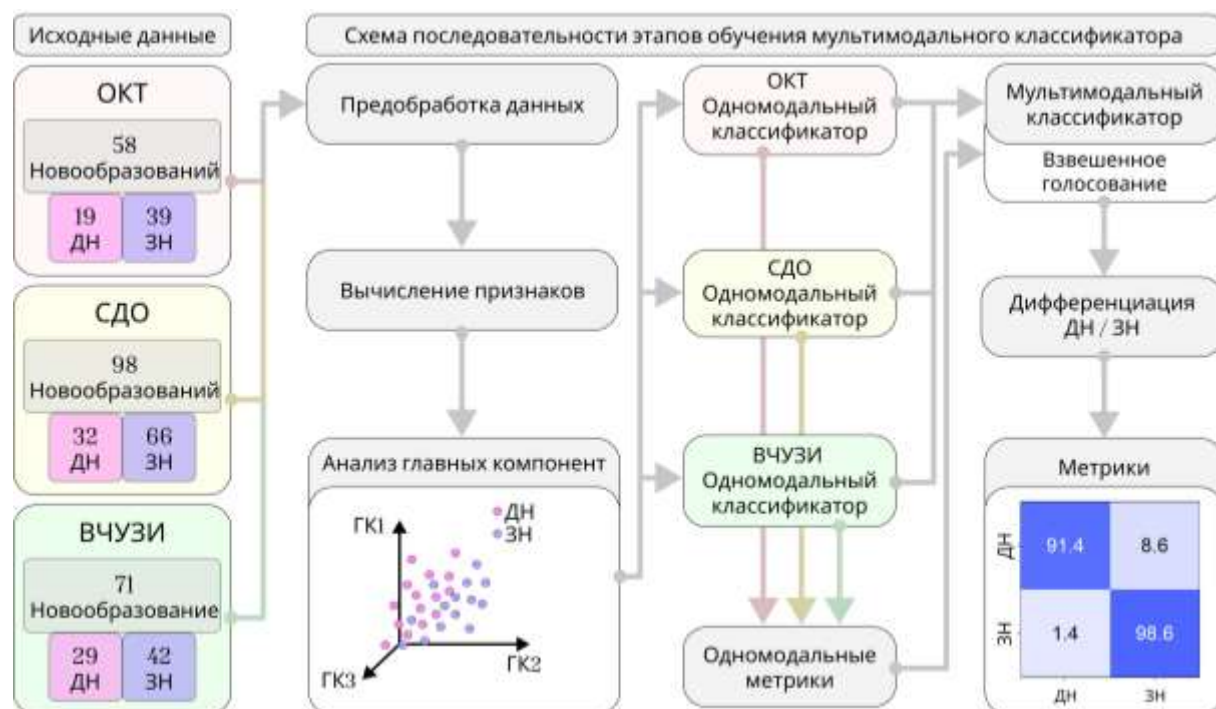


Рисунок 4.4. Схема последовательности этапов обучения мультимодального классификатора для диагностики новообразований кожи человека.

4.1.8 Машинное обучение для классификации ДН и различных клинических форм БКР на основе мультимодального классификатора

После расчета 6 параметров, относящихся к данным СДО, 65 параметров, относящихся к данным ОКТ, и 13 параметров, относящихся к данным ВЧУЗИ, для каждого измерения полученные значения сопоставлялись с диагнозом врача-онколога, подтвержденным морфологическим исследованием, и объединялись в единую таблицу, в которой столбцы соответствовали параметрам, а строки — отдельным измерениям (наблюдениям).

Поскольку измерения СДО, ОКТ и ВЧУЗИ выполнялись не в полностью согласованных локализациях для одного и того же новообразования, интеграция признаков различных модальностей осуществлялась на уровне новообразования, а не на уровне строго пространственно совпадающих элементарных участков. Для формирования интегрального признакового описания использовались значения параметров, полученные в пределах одного и того же новообразования при каждой модальности. Такой подход позволял объединять данные различных методов без искусственного дублирования наблюдений, однако должен рассматриваться как приближение, обусловленное ограниченной пространственной

сопоставимостью измерений. Это ограничение необходимо учитывать при интерпретации результатов мультимодальной классификации.

На основе рассчитанных параметров был построен многоклассовый классификатор ДН и различных клинических форм БКР, основанный на методе машинного обучения с использованием градиентного бустинга решающих деревьев, реализованного в библиотеке CatBoost.

Принцип построения классификатора и процедура его обучения аналогичны предыдущим разделам 4.1.6 и 4.1.7. На выходе модель формировала вектор вероятностей принадлежности элементов тестовой выборки к каждому из диагностических классов. Блок-схема предложенного алгоритма многоклассовой классификации ДН и различных клинических форм БКР представлена на рисунке 4.5.

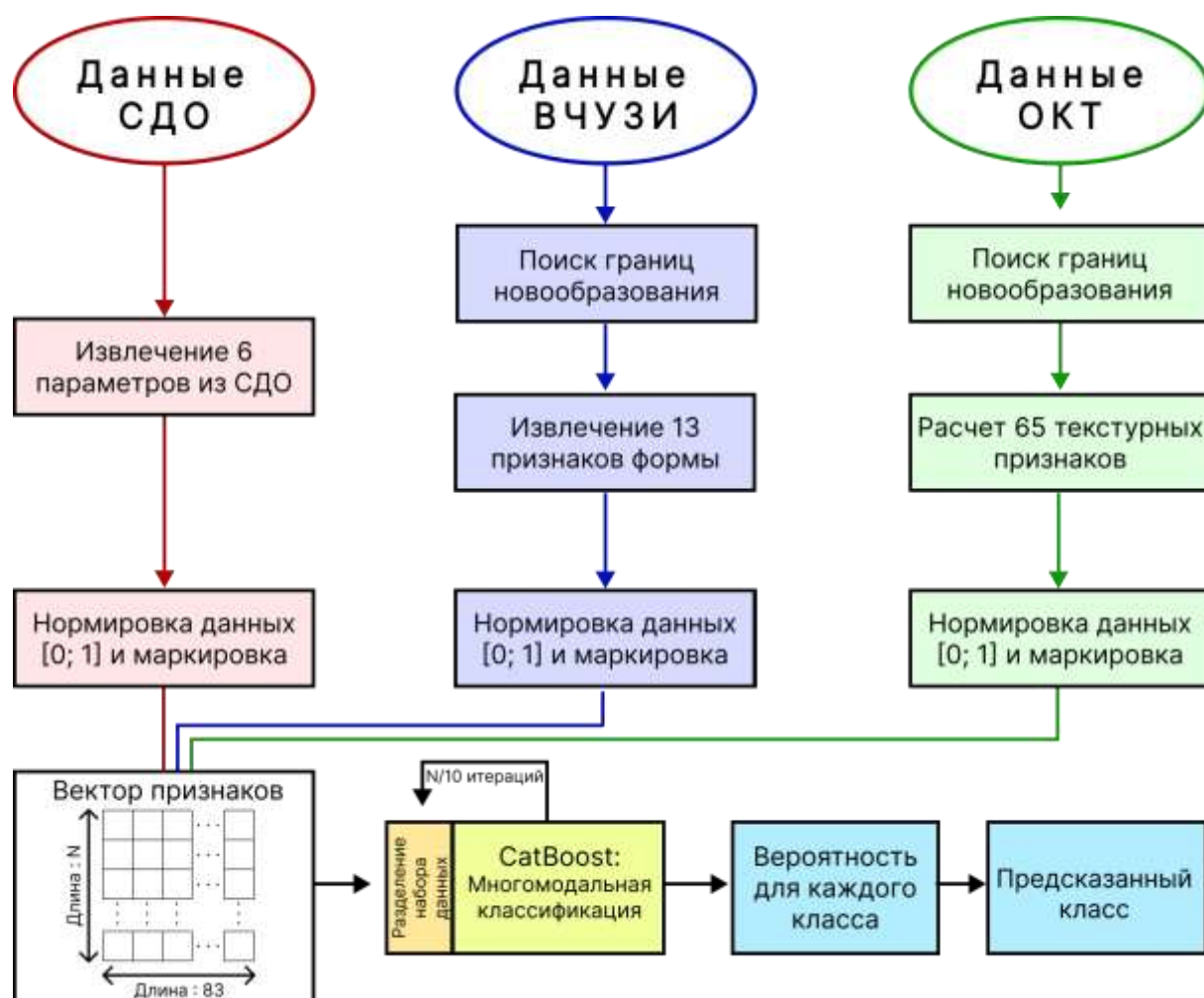


Рисунок 4.5. Блок-схема предложенного алгоритма многоклассовой классификации ДН и различных клинических форм БКР.

Основной задачей классификации является определение типа новообразования и клинической формы БКР. Для оценки качества разработанного алгоритма многоклассовой классификации ДН и различных клинических форм БКР использовались следующие показатели:

точность, чувствительность, специфичность, прецизионность, F_1 -мера, среднее значение метрики пересечение над объединением.

Для корректной оценки качества многоклассового алгоритма классификации при наличии дисбаланса классов показатели точности, специфичности, F_1 -меры и метрики пересечение над объединением рассчитывались отдельно для каждого класса с последующим усреднением.

Оценка значимости признаков и их вклада в предсказание модели осуществлялась с использованием встроенной функции библиотеки CatBoost (`get_feature_importance(test_feature_vectors)`). Значимость признака определялась по степени его влияния на функцию потерь, используемую при обучении модели.

В качестве второго метода оценки влияния признаков на предсказание использовался функционал библиотеки SHapley Additive exPlanations (SHAP). Данная библиотека рассчитывает значения Шепли [139] для оценки вклада параметра. Значения Шепли позволяют количественно определить вклад каждого признака в итоговое предсказание модели машинного обучения.

4.2 Результаты

На рисунке 4.6 представлены примеры цифровых изображений, ОКТ-изображений, данных СДО и ВЧУЗИ-изображений ДН (дерматофиброма), ЗН (узловая форма базальноклеточного рака) и условно здоровой кожи.

На ОКТ-изображениях наблюдаются явно выраженные текстурные паттерны внутренней структуры ДН и ЗН. На ВЧУЗИ-изображениях ДН характеризуются более округлой и симметричной формой с меньшим числом выступающих элементов по сравнению с нерегулярной морфологией, типичной для ЗН. Данные СДО демонстрируют заметные различия между близко и/или симметрично расположенным участком условно здоровой кожи и ДН или ЗН в общей отражательной способности. Кроме того, выраженные спектральные различия наблюдаются в диапазоне поглощения гемоглобина от 525 до 600 нм и в изменении наклона СДО в диапазоне от 750 до 800 нм. Выявленные особенности спектральных профилей условно здоровой кожи, ДН и ЗН могут быть связаны с вариациями содержания меланина и/или изменением рассеивающих свойств ткани.

Указанные выше визуальные и спектральные различия подчеркивают ключевые морфологические и оптические характеристики, способствующие дифференциации ДН и ЗН кожи при использовании мультимодального подхода.

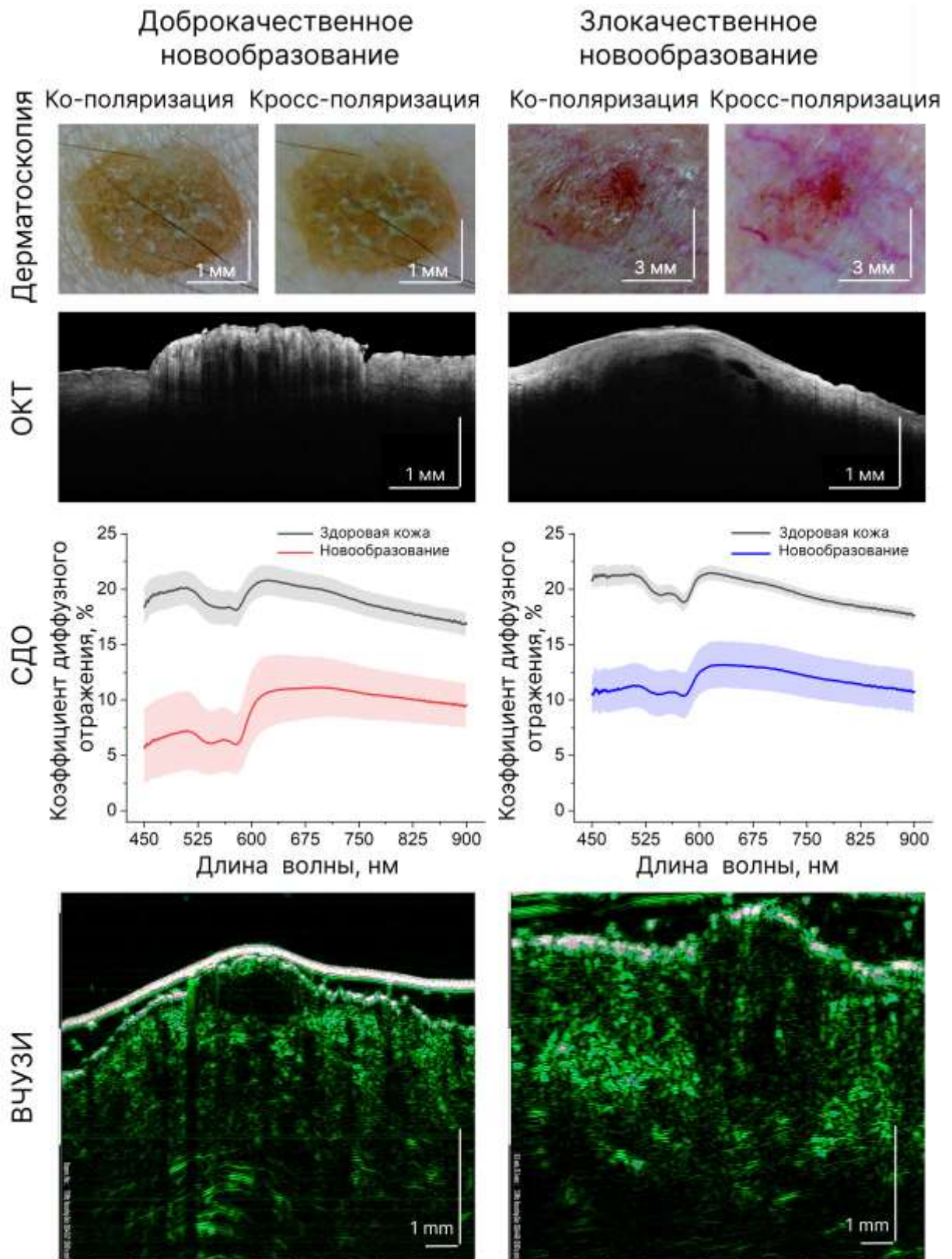


Рисунок 4.6. Примеры дерматоскопических изображений в ко- и кросс-поляризованном свете, ОКТ-изображений, СДО и ВЧУЗИ-изображений ДН и ЗН и близко и/или симметрично расположенного участка условно здоровой кожи.

На рисунке 4.7 представлены типичные изображения условно здорового и исследуемых участков кожи и результат ОП с микрофотографиями (рис. 4.7а) с отмеченной плоскостью зондирования. Из рисунка 4.7б видно, что 10-минутное воздействие ОПА на кожу вызывает существенное снижение светорассеяния на участке с БКР по сравнению с близлежащим визуально здоровым участком кожи. На ОКТ-сканах можно заметить утолщение эпидермиса, снижение контраста между эпидермисом и дермой по сравнению со здоровым участком. Кроме того, наблюдается большее количество оптических неоднородностей в биоткани, часть из которых можно отнести к микрососудам крови и/или лимфы.

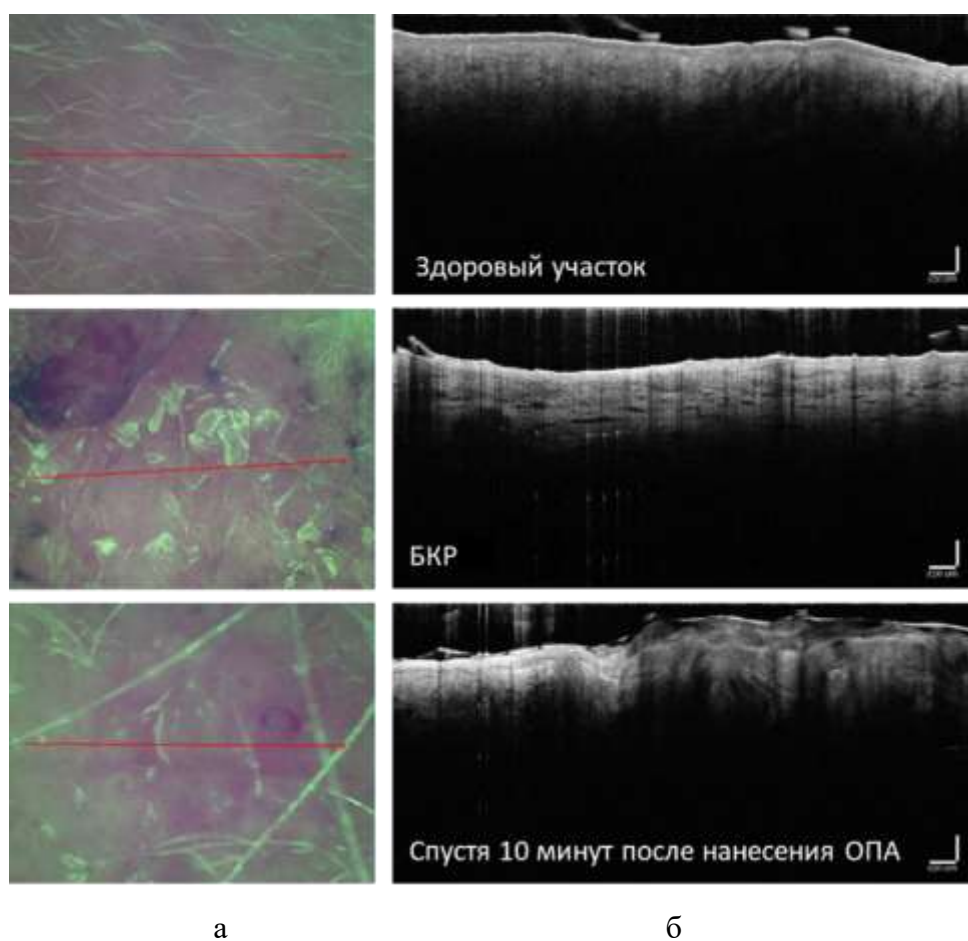


Рисунок 4.7. Типичные изображения участков условно здоровой кожи и БКР до и спустя 10 минут после местного нанесения ОП: а) Макроснимки с отмеченной плоскостью зондирования, б) ОКТ-сканы. Масштабная метка соответствует 250 мкм.

На рисунке 4.8 представлены типичные дерматоскопические изображения, ВЧУЗИ- и ОКТ-изображения ДН и различных клинических форм БКР. На ВЧУЗИ-изображениях объем опухоли визуализируется в виде гипоехогенной области, тогда как в визуально здоровой коже гипоехогенные участки отсутствуют. На ОКТ-изображениях здоровой кожи четко определяется граница между эпидермисом и дермой, тогда как для всех новообразований эта граница отсутствует либо имеет менее выраженный контраст. Кроме того, на изображениях ВЧУЗИ

внутренняя структура новообразования не визуализируется, в то время как на ОКТ-изображениях микроструктура новообразования определяется.

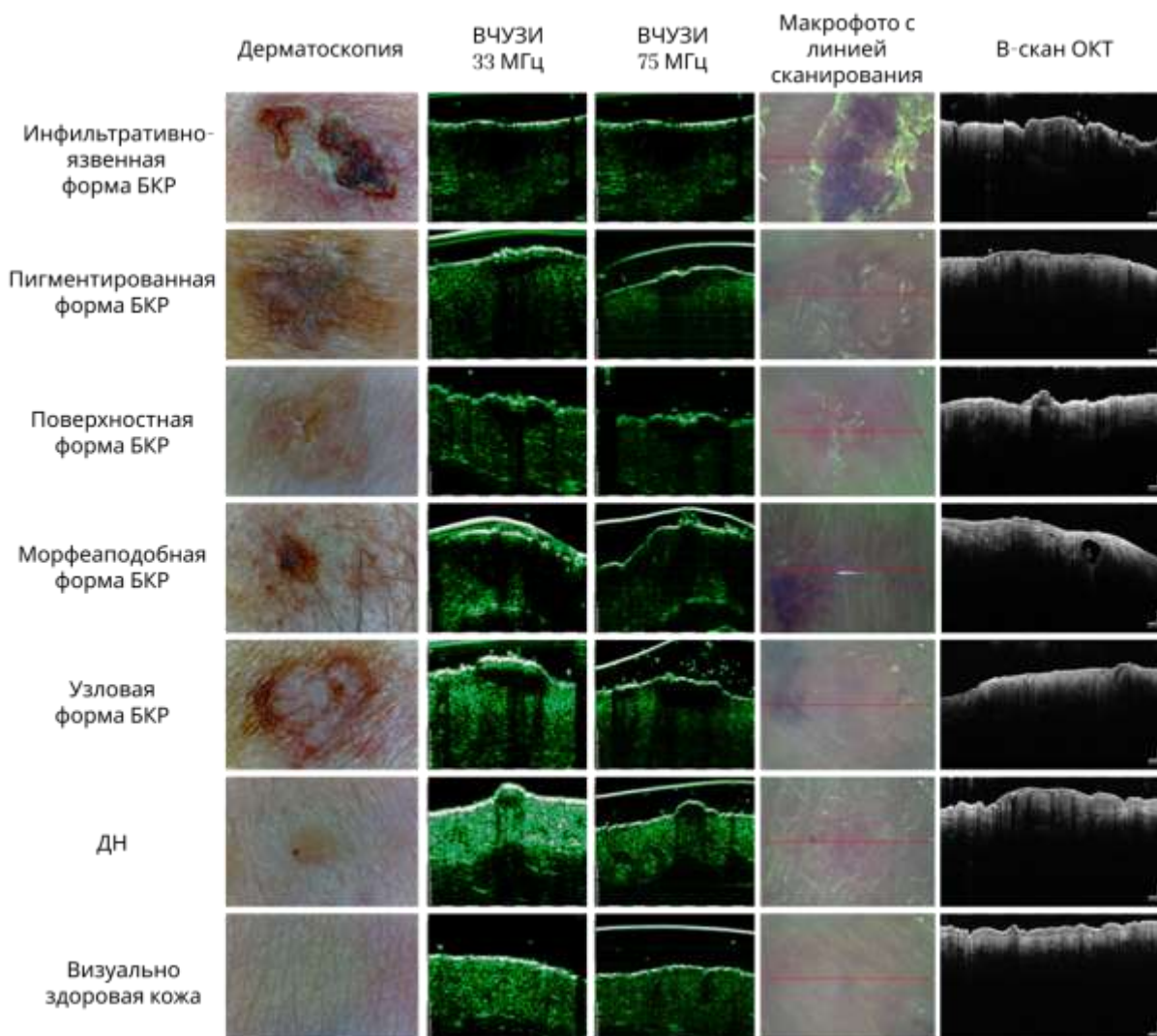


Рисунок 4.8. Типичные дерматоскопические изображения, ВЧУЗИ-изображения при центральных частотах 33 и 75 МГц, макроскопические изображения с плоскостью и направлением ОКТ-сканирования, отмеченными красной стрелкой, а также ОКТ-сканы новообразований кожи добровольцев с диагнозом БКР различных клинических форм, ДН и визуально здоровой кожи. Высота и ширина ультразвуковых изображений составляли 3.2 и 13 мм соответственно, а для ОКТ-изображений — 2.7 и 6 мм.

4.2.1 Анализ главных компонент

Для исследования текстурных характеристик ОКТ-изображений новообразований кожи проводился АГК. На рисунке 4.9 представлено распределение значений текстурных характеристик в пространстве первых трех ГК: ГК1, ГК2 и ГК3, на долю которых приходится соответственно 51.36%, 28.81% и 10.68% от общей дисперсии признаков. Таким образом, применение АГК существенно понизило размерность данных многомерного пространства

текстурных признаков. График демонстрирует частичное разделение текстурных характеристик ДН (красные точки) и ЗН (синие точки). Гистограммы, построенные вдоль осей ГК, отражают различия в характере распределений между двумя группами. В частности, для ГК1 наблюдается выраженное смещение распределений ДН и ЗН. В то же время для ГК2 и ГК3 отмечается значительно большее перекрытие распределений. Полученные результаты свидетельствуют о высокой информативности текстурных признаков, извлеченных из ОКТ-изображений, для дифференциальной диагностики ДН и ЗН. Доминирующий вклад ГК1 в общую дисперсию подчеркивает значимость отдельных текстурных характеристик в задачах классификации. Вместе с тем наблюдаемое перекрытие групп указывает на необходимость применения многомерного анализа для учета сложных взаимосвязей между значениями текстурных признаков в пространстве ГК.

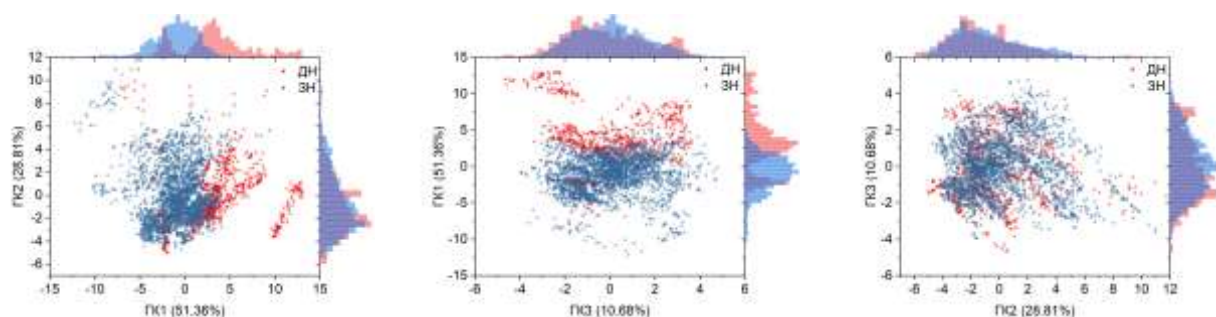


Рисунок 4.9. Распределение набора текстурных признаков новообразований кожи человека в пространстве первых трех ГК, извлеченных из соответствующих ОКТ-изображений. Красные точки соответствуют ДН, синие – ЗН. Каждая точка в пространстве ГК соответствует проекции набора текстурных признаков, извлеченных из одного ОКТ-изображения. Гистограммы вдоль осей отображают распределения значений соответствующих ГК по группам.

Данные СДО, включающие коэффициенты меланиновой пигментации, эритемы, сатурации и другие спектральные характеристики, представлены на рисунке 4.10 в пространстве первых трех ГК. На долю этих компонент приходится соответственно 35.07%, 21.58% и 15.61% от общей дисперсии признаков. Анализ распределения набора спектральных признаков демонстрирует значительное перекрытие между ДН (красные точки) и ЗН (синие точки) в пространстве ГК1, ГК2 и ГК3. Вместе с тем вдоль ГК1 наблюдается тенденция к частичному разделению групп, что указывает на ее вклад при дифференциации групп новообразований. В пространстве ГК2 и ГК3 разделение между группами выражено слабо, что, вероятно, обусловлено перекрывающимися характеристиками, связанными с оптическими свойствами новообразований. Полученные результаты свидетельствуют о том, что спектральные признаки, извлеченные из данных СДО, содержат информативные характеристики, пригодные для дифференциации ДН и ЗН кожи. Однако, степень различимости в данном случае менее выражена

по сравнению с результатами, полученными на основе ОКТ и/или ВЧУЗИ. Частичное разделение вдоль ГК1 указывает на значимую роль отдельных спектральных параметров в задачах классификации и подчеркивает целесообразность их дальнейшего анализа в сочетании с другими модальностями.

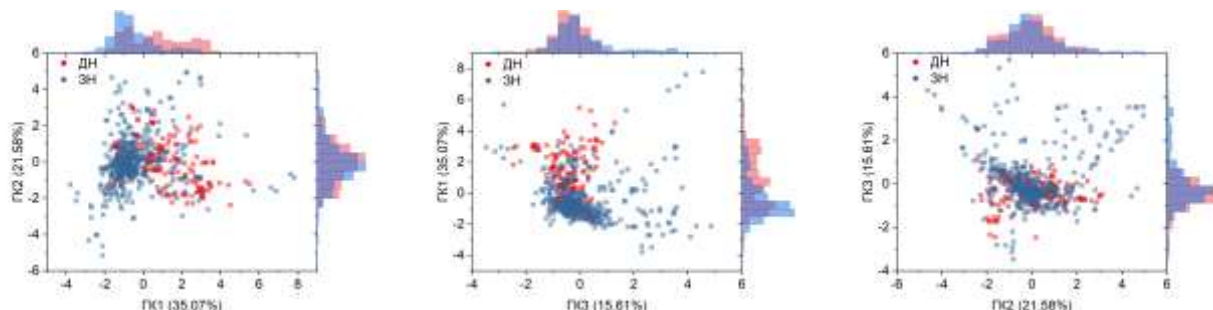


Рисунок 4.10. Распределение набора спектральных признаков новообразований кожи человека в пространстве первых трех ГК, извлеченных из соответствующих СДО. Красные точки соответствуют ДН, синие – ЗН. Каждая точка в пространстве ГК соответствует проекции набора спектральных признаков, извлеченных из одного СДО. Гистограммы вдоль осей отображают распределения значений соответствующих ГК по группам.

Для исследования геометрических и структурных особенностей новообразований кожи по ВЧУЗИ-изображениям проводился АГК. На рисунке 4.11 представлено распределение значений морфологических особенностей новообразований в пространстве первых трех ГК, на долю которых приходится соответственно 40.53%, 20.08%, 11.65% от общей дисперсии признаков. В пространстве ГК наблюдается частичное разделение ДН и ЗН вдоль осей ГК1, ГК2 и ГК3. Наиболее выраженная дифференциация отмечается вдоль оси ГК1, что свидетельствует о ее важности в дифференциации групп. Вместе с тем между классами сохраняется область перекрытия, что свидетельствует о наличии сходных морфологических характеристик. Гистограммы, построенные вдоль каждой оси ГК, демонстрируют различия в форме распределений и диапазонах значений между ДН и ЗН. Выявленные различия указывают на целесообразность применения дополнительных аналитических методов, в частности моделей машинного обучения, способных учитывать более сложные закономерности в данных и повышать эффективность классификации. Представленная визуализация ГК обеспечивает компактное представление вариабельности формы новообразований и способствует выявлению ключевых морфологических признаков, вносящих вклад в их дифференциацию.

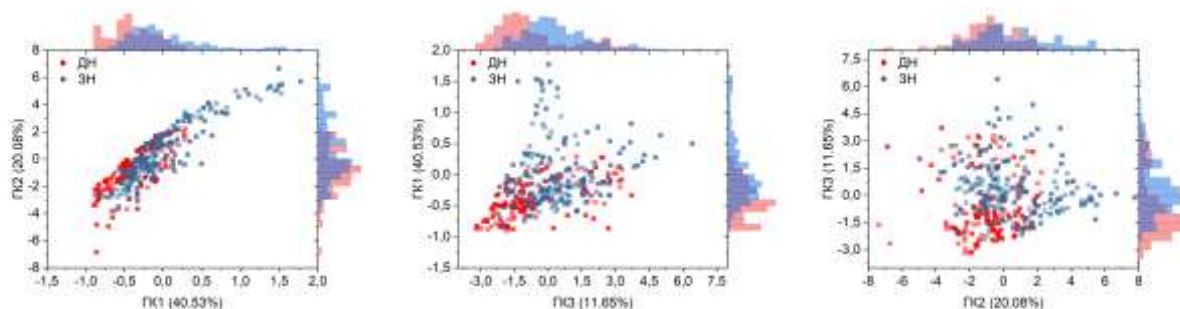


Рисунок 4.11. Распределение набора морфологических признаков новообразований кожи человека в пространстве первых трех ГК, рассчитанных на основе характеристик геометрических и структурных особенностей (округлость, площадь, вытянутость, периметр и другие), извлеченных из ВЧУЗИ-изображений. Красные точки соответствуют ДН, синие – ЗН. Каждая точка в пространстве ГК соответствует проекции набора морфологических признаков, извлеченных из одного ВЧУЗИ-изображения. Гистограммы вдоль осей отображают распределения значений соответствующих ГК по группам.

Для анализа диагностического потенциала текстурных характеристик, рассчитанных на основе ОКТ-изображений, к дифференциации новообразований были рассчитаны коэффициенты нагрузок для ГК1, ГК2 и ГК3. На рисунке 4.12 представлена диаграмма коэффициентов нагрузок, позволяющая оценить значимость каждого из текстурных признаков в формировании ГК, где число после наименований величин – межпиксельное расстояние, используемое для расчета GLCM. Анализ коэффициентов нагрузок показал, что ГК1 характеризуется высокой положительной нагрузкой на признаки контраста и отрицательной нагрузкой на однородность. Это свидетельствует о том, что текстурные различия между ДН и ЗН связаны с изменением контрастности и однородности в структуре изображения. ГК2 определяется главным образом нагрузками на признаки корреляции и энергии, что указывает на вклад локальных текстурных закономерностей в дифференциацию типов новообразований. ГК3 характеризуется высокой нагрузкой для текстурных признаков первого порядка, такие как стандартное отклонение и коэффициенты асимметрии и эксцесса. Таким образом, АГК позволяет выделить основные текстурные признаки, наиболее значимые для дифференциации новообразований. Наиболее значимыми для разделения ДН и ЗН оказались признаки контраста и однородности (вклад в ГК1), а также корреляции и энергии (вклад в ГК2). Эти результаты согласуются с распределением данных в пространстве первых двух ГК (рисунок 4.9) и подтверждают информативность текстурных признаков для задач дифференциальной диагностики.

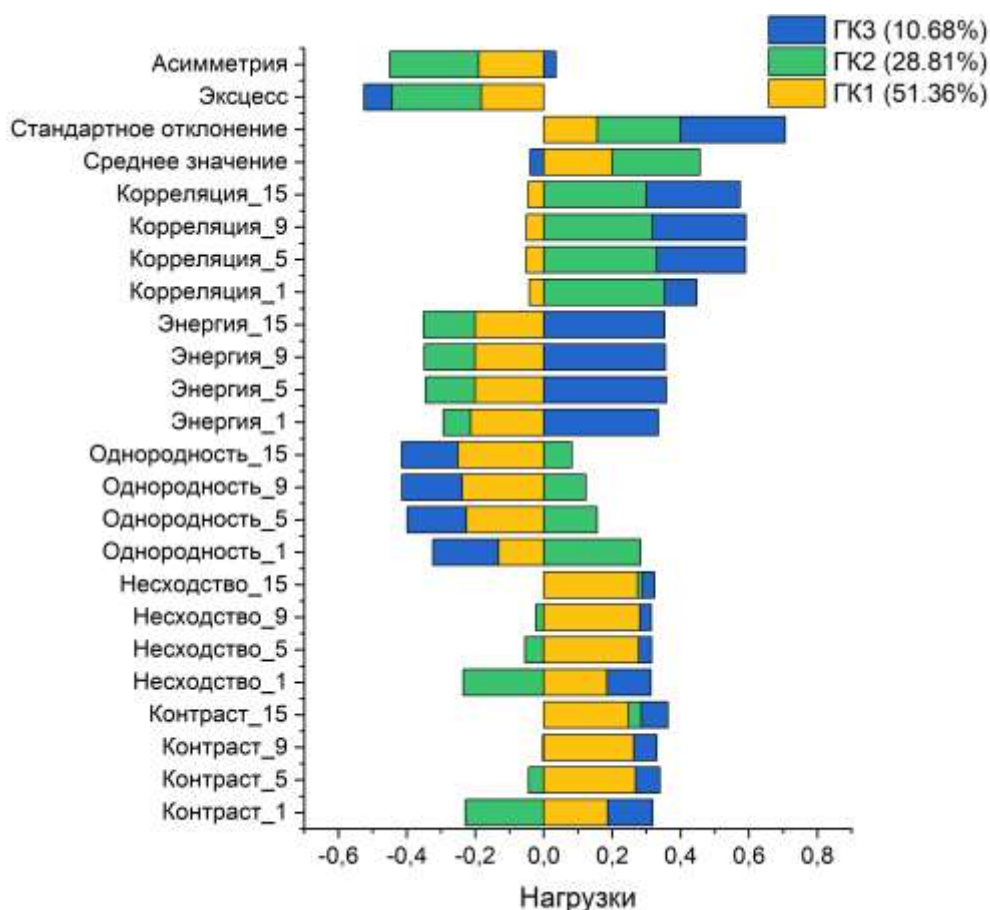


Рисунок 4.12. Коэффициенты нагрузок текстурных признаков ОКТ-изображений новообразований для первых трех ГК, отражающие их вклад в задачу дифференциации ДН и ЗН по данным ОКТ. Число после наименований величин – межпиксельное расстояние, используемое для расчета GLCM.

На рисунке 4.13 представлены коэффициенты нагрузок для ГК1, ГК2 и ГК3, рассчитанные для спектральных признаков, извлеченных из данных СДО. Первая ГК характеризуется высокой положительной нагрузкой на коэффициенты меланиновой пигментации, эритемы, индексы, чувствительные к содержанию гемоглобина и коэффициента наклона. Это указывает на то, что данные признаки оказывают значительное влияние на различие между группами ДН и ЗН. Вторая ГК демонстрирует высокие нагрузки на индексы, чувствительные к содержанию гемоглобина, индекса оксигенации и индекса эритемы. Это свидетельствует о том, что ГК2 может быть связана с гемодинамическими характеристиками опухолей. Третья ГК имеет высокие нагрузки на коэффициенты средней отражательной способности, нелинейности, индекса оксигенации и некоторых индексов, чувствительных к содержанию гемоглобина, что может отражать структурные и физиологические различия между типами новообразований. Таким образом, первая ГК преимущественно отражает различия в оптических и пигментных свойствах тканей, тогда как вторая и третья ГК связаны с характеристиками кровоснабжения и структурных

изменений. Данные результаты подтверждают потенциальную информативность спектроскопических параметров для дифференциальной диагностики новообразований.

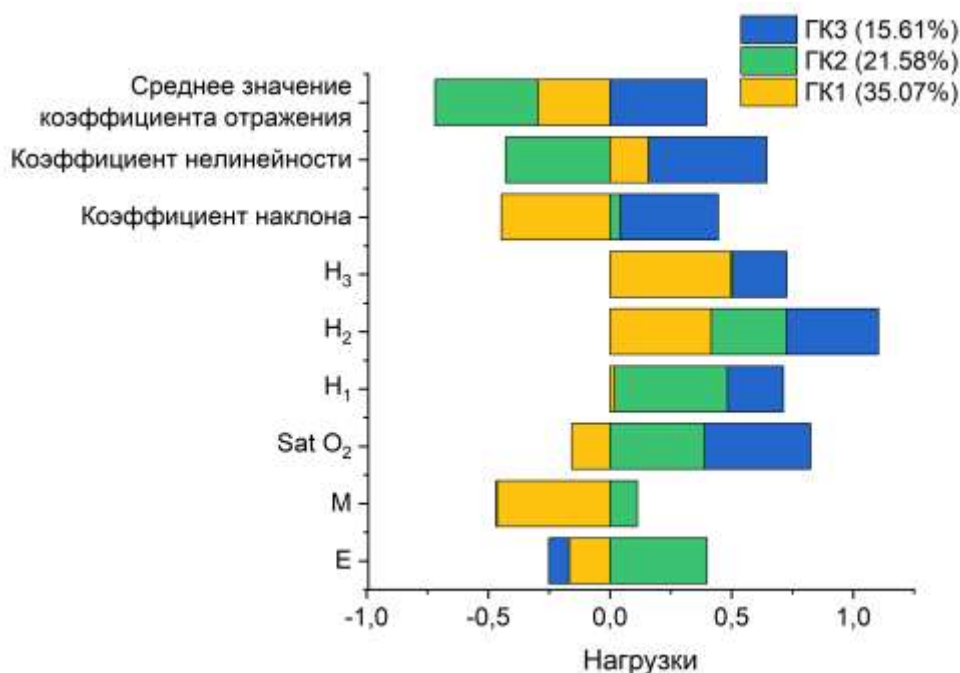


Рисунок 4.13. Коэффициенты нагрузок для первых трех ГК, рассчитанных на основе параметров СДО, отражающие их вклад в задачу дифференциации ДН и ЗН.

Для оценки значимости отдельных характеристик геометрических и структурных особенностей новообразований для дифференциации ДН и ЗН были рассчитаны коэффициенты нагрузок для первых трех ГК. На рисунке 4.14 представлена диаграмма с коэффициентами нагрузок для каждой характеристики морфологических особенностей новообразования, извлеченных из ВЧУЗИ-изображений. Можно отметить, что в формирование ГК наибольший вклад вносят такие признаки, как площадь, периметр, округлость, компактность и вытянутость, что может указывать на их роль в дифференциации между ДН и ЗН. В то время, например, количество выпуклых дефектов имеет низкую значимость. Таким образом, результаты анализа нагрузок характеристик геометрических и структурных особенностей новообразований показывают, что первые три ГК объясняют различия между новообразованиями за счет сочетания общих морфологических характеристик.

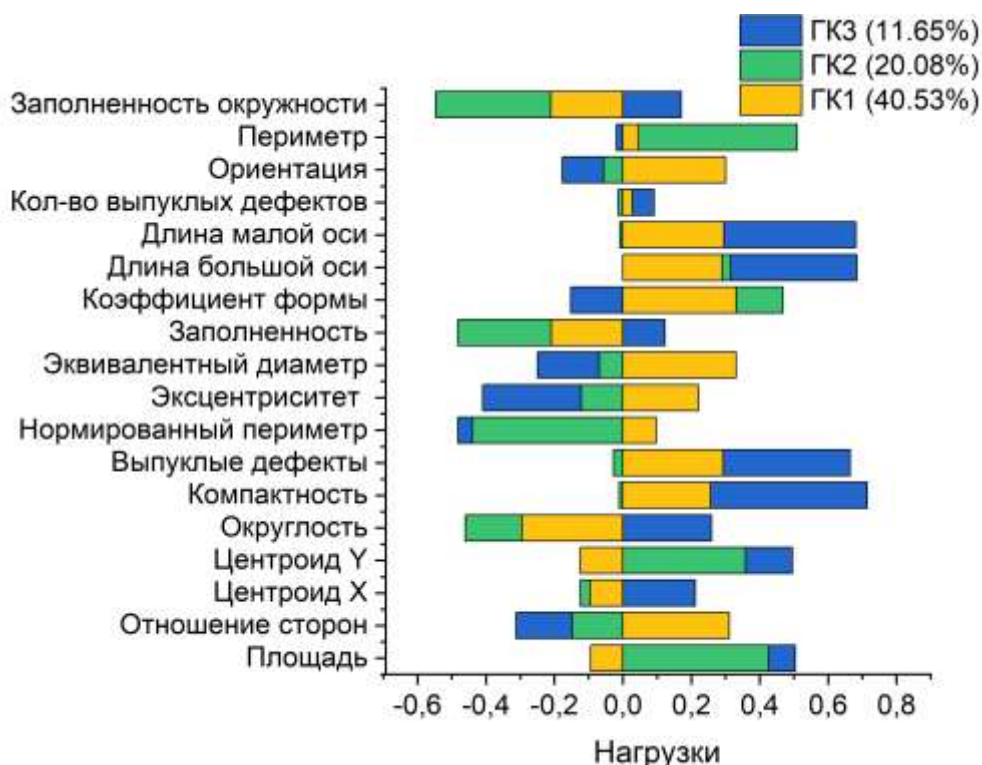


Рисунок 4.14. Коэффициенты нагрузок характеристик геометрических и структурных особенностей новообразований, извлеченных из изображений ВЧУЗИ, для первых трех ГК, отражающие их вклад в задачу дифференциации ДН и ЗН по данным ВЧУЗИ.

В целом характер распределения нагрузок ГК подчеркивает комплементарную диагностическую ценность текстурных, спектроскопических и морфологических признаков при дифференциации ДН и ЗН кожи.

4.2.2 Одномодальные классификаторы

Для анализа данных, полученных методом ОКТ, была разработана модель машинного обучения, основанная на текстурных признаках ОКТ-изображений в пространстве первых трех ГК. Результаты и метрики качества ее работы приведены на рисунке 4.15 и в таблице 4.2. Матрица смежности (рисунок 4.15) показала, что из 39 ЗН модель правильно классифицировала 36, при этом 3 случая были ошибочно отнесены к ДН. Из 19 ДН правильно классифицировано 12, тогда как 7 были ошибочно отнесены к ЗН. Значение площади под кривой ошибок составило 0.81, что демонстрирует хорошую способность модели различать классы. Значение площади под кривой прецизионность-чувствительность составило 0.84, что подтверждает высокую точность модели при классификации ЗН. Точность классификации модели составила 0.83, что соответствует 82.8% доле правильно классифицированных добровольцев. Коэффициент согласия каппа Коэна равен 0.59, что свидетельствует о хорошем уровне согласия между предсказаниями модели и истинными метками классов. Для ЗН модель продемонстрировала

высокую чувствительность, равную 0.92, что свидетельствует о способности модели эффективно выявлять злокачественные случаи. Для ДН чувствительность составила 0.63, что указывает на более низкую способность модели к их точной идентификации. Прецизионность модели составила 0.84 для ЗН и 0.80 для ДН. Таким образом, модель, разработанная на основе данных ОКТ, обладает высокой чувствительностью (92%) в выявлении ЗН и умеренной прецизионностью при классификации ДН (80%).

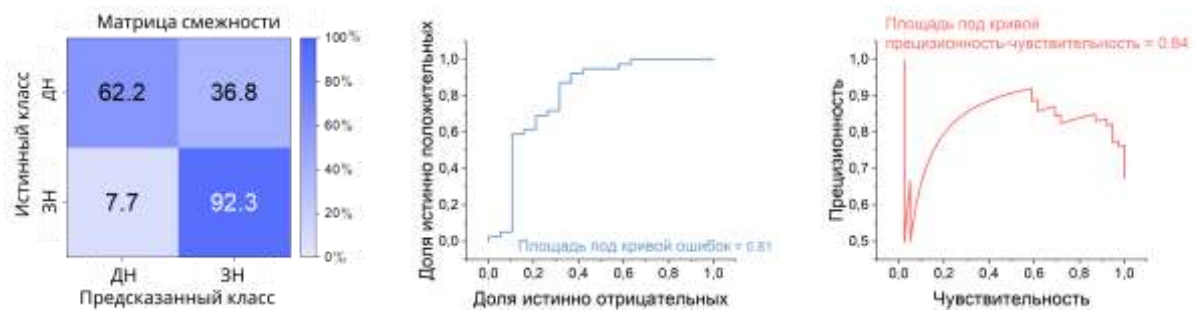


Рисунок 4.15. Результаты классификации ДН и ЗН на основе данных текстурных признаков ОКТ-изображений в пространстве первых трех ГК. Матрица смежности – слева, кривая ошибок – посередине и кривая прецизионность-чувствительность – справа.

Таблица 4.2. Метрики классификации модели машинного обучения, разработанной на основе ОКТ-изображений.

	Прецизионность	Чувствительность	F ₁ -мера
ДН	0.80	0.63	0.71
ЗН	0.84	0.92	0.88

Точность	Коэффициент согласия каппа Коэна	Площадь под кривой ошибок	Площадь под кривой прецизионность-чувствительность
0.83	0.59	0.81	0.84

По данным СДО была разработана модель машинного обучения, результаты и метрики качества работы которой представлены на рисунке 4.16 и в таблице 4.3. Матрица смежности показала, что из 66 ЗН модель правильно классифицировала 48, при этом 18 случаев были ошибочно отнесены к ДН. Из 32 ДН модель правильно классифицировала 18, тогда как 14 были ошибочно отнесены к ЗН. Значение площади под кривой ошибок составило 0.69, что демонстрирует умеренную способность модели различать ДН и ЗН. Точность классификации модели составила 0.67, что свидетельствует о 67%-ной доле правильных классификаций среди всех новообразований. Коэффициент согласия каппа Коэна равен 0.28, что указывает на слабое согласие между предсказаниями модели и истинными метками классов.

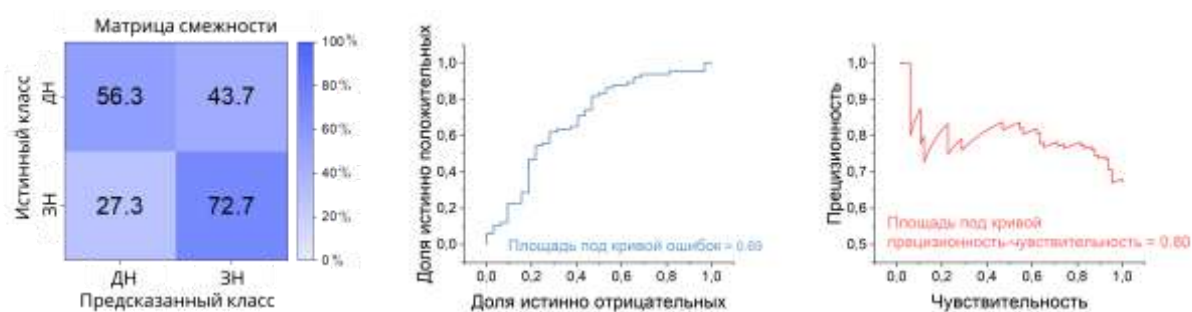


Рисунок 4.16. Результаты классификации ДН и ЗН на основе спектральных признаков, полученных с помощью СДО, в пространстве первых трех ГК. Матрица смежности – слева, кривая ошибок – посередине и кривая прецизионность-чувствительность – справа.

Таблица 4.3. Метрики классификации модели машинного обучения, разработанной на основе СДО.

	Прецизионность	Чувствительность	F ₁ -мера
ДН	0.50	0.56	0.53
ЗН	0.77	0.72	0.75

Точность	Коэффициент согласия каппа Коэна	Площадь под кривой ошибок	Площадь под кривой прецизионность-чувствительность
0.67	0.28	0.69	0.80

На основе анализа данных геометрических и структурных особенностей новообразований, полученных методом ВЧУЗИ, была обучена модель машинного обучения, результаты классификации и метрики качества которой приведены на рисунке 4.17 и таблице 4.4. Матрица смежности (рисунок 4.17) показала, что из 42 ЗН правильно классифицировано 34, при этом 8 случаев были ошибочно отнесены к ДН. Из 29 ДН модель правильно классифицировала 16, тогда как 13 были ошибочно отнесены к ЗН. Точность классификации модели на уровне новообразования составила 0.70, что свидетельствует о 70%-ной доле правильных классификаций среди всех новообразований. Значение коэффициента согласия каппа Коэна составило 0.37, что указывает на умеренное согласие между предсказаниями модели и истинными метками классов. Для класса ЗН модель продемонстрировала высокую чувствительность, равную 0.81, что указывает на способность модели правильно выявлять ЗН. Для класса ДН чувствительность составила 0.55, что свидетельствует о более низкой способности модели идентификации ДН. Прецизионность составила 0.72 для ЗН и 0.67 для ДН. F₁-мера для класса ЗН составила 0.76, что свидетельствует о хорошей сбалансированности между прецизионностью и чувствительностью. Для класса ДН F₁-мера составила 0.60, что указывает на несколько более слабую эффективность модели для данного класса. Таким образом,

разработанная модель на основе данных ВЧУЗИ продемонстрировала высокую чувствительность в выявлении ЗН и умеренную прецизионность в классификации ДН. Значения площади под кривой ошибок (0.77) и площади под кривой прецизионность-чувствительность (0.84) подтверждают способность модели к разделению классов.

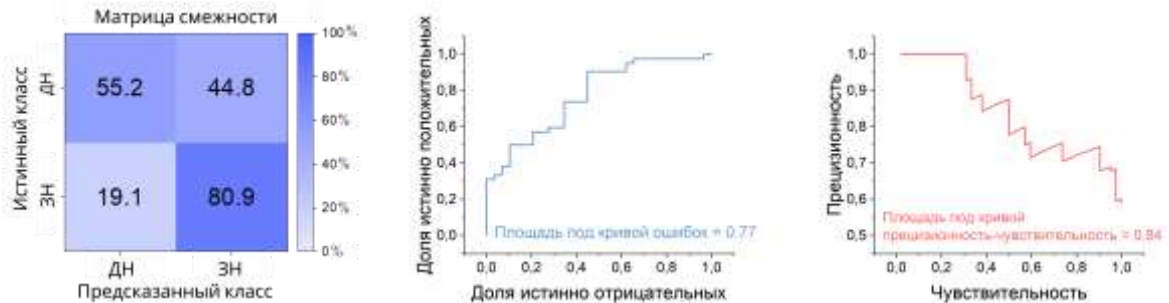


Рисунок 4.17. Результаты классификации ДН и ЗН на основе данных геометрических и структурных особенностей новообразований, полученных с помощью ВЧУЗИ, в пространстве первых трех ГК. Матрица смежности – слева, кривая ошибок – посередине и кривая прецизионность-чувствительность – справа.

Таблица 4.4. Метрики классификации модели машинного обучения, разработанной на основе ВЧУЗИ-изображений.

	Прецизионность	Чувствительность	F ₁ -мера
ДН	0.67	0.55	0.60
ЗН	0.72	0.81	0.76

Точность	Коэффициент согласия каппа Коэна	Площадь под кривой ошибок	Площадь под кривой прецизионность- чувствительность
0.70	0.37	0.77	0.84

Поклассовые метрики уточняют выявленные тенденции: модель ОКТ обеспечивает наивысшую чувствительность для ЗН; модель ВЧУЗИ сохраняет высокую чувствительность для ЗН при более слабом распознавании ДН; модель СДО демонстрирует наихудшие показатели как по прецизионности, так и по чувствительности для ДН. Сводные метрики, приведенные в таблице 4.5, подтверждают данную иерархию эффективности ($ОКТ \geq ВЧУЗИ \gg СДО$) и согласуются с результатами анализа нагрузок АГК, где ОКТ отражает микроструктурную гетерогенность тканей, ВЧУЗИ — морфоструктурные особенности новообразований, а данные СДО подвержены перекрывающимся спектральным характеристикам индекса меланиновой пигментации и индекса, чувствительного к содержанию гемоглобина.

Таблица 4.5. Сводные метрики классификации одномодальных моделей машинного обучения.

Модальность	Точность классификации модели	Коэффициент согласия каппа Коэна	Площадь под кривой ошибок	Площадь под кривой прецизионность-чувствительность
ОКТ	0.83	0.59	0.81	0.84
СДО	0.67	0.28	0.69	0.80
ВЧУЗИ	0.70	0.37	0.77	0.84

В совокупности полученные результаты свидетельствуют о том, что ОКТ и ВЧУЗИ в данной внутренней выборке показали высокую чувствительность к ЗН, тогда как использование только СДО не обеспечивает достаточной надежности диагностики, что обосновывает целесообразность применения мультимодального объединения данных, представленного далее.

4.2.3 Мультимодальный классификатор

Результаты работы разработанной мультимодальной модели машинного обучения на основе взвешенного голосования представлены в виде матрицы смежности (рисунок 4.18), сводных таблиц метрик (таблицы 4.6 и 4.7), отражающих точность классификации на уровне новообразований. Модель успешно классифицировала 102 из 106 новообразований. Для ДН правильная классификация была выполнена в 32 случаях из 35. Для ЗН правильная классификация выполнена в 70 из 71 случая. Точность классификации модели составила 96%, что свидетельствует о высокой общей производительности. Коэффициент согласия каппа Коэна, равный 0.91, указывает на хорошую согласованность между предсказаниями модели и реальными метками, с учетом несбалансированности данных. Для класса ДН значения прецизионности (0.97) и чувствительности (0.91) показывают, что модель демонстрирует высокую прецизионность и приемлемую чувствительность в классификации ДН. Для класса ЗН прецизионность (0.96) и чувствительность (0.99) указывают на то, что модель демонстрирует минимальное число ложноположительных классификаций и практически максимальную чувствительность при выявлении ЗН. Значения F_1 -меры, равные 0.94 для класса ДН и 0.97 для класса ЗН, дополнительно подтверждают сбалансированность показателей прецизионности и чувствительности.

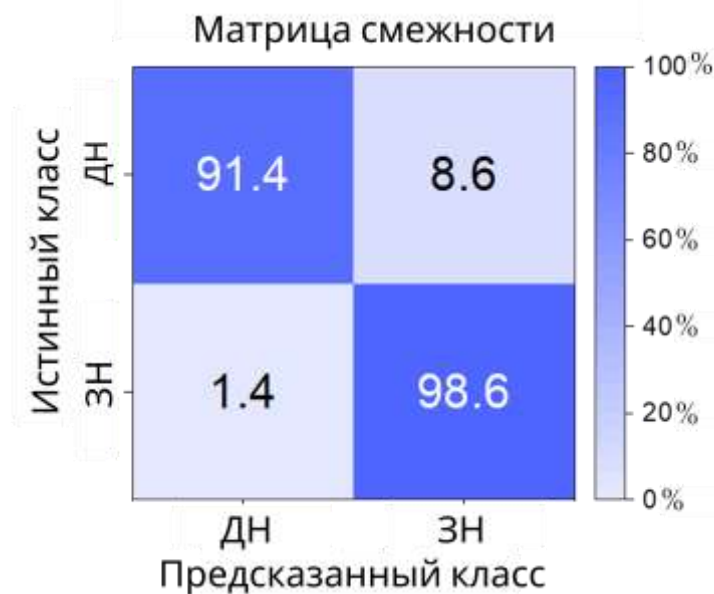


Рисунок 4.18. Матрица смежности, полученная при классификации ДН и ЗН на уровне новообразований с помощью мультимодальной модели взвешенного голосования, разработанной на основе объединения одномодальных моделей машинного обучения.

Таблица 4.6. Метрики классификации мультимодальной модели взвешенного голосования, разработанной на основе объединения одномодальных моделей машинного обучения.

	Прецизионность	Чувствительность	F ₁ -мера
ДН	0.97	0.91	0.94
ЗН	0.96	0.99	0.97

Таблица 4.7. Сводные метрики классификации мультимодальной модели машинного обучения.

Точность	Коэффициент согласия каппа Коэна
0.96	0.91

Таким образом, мультимодальная модель продемонстрировала высокие показатели классификации на внутренней выборке, что указывает на диагностический потенциал интеграции количественных признаков ОКТ, СДО и ВЧУЗИ. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности предложенного способа объединения данных различных модальностей для дифференциации доброкачественных и злокачественных новообразований кожи. Вместе с тем с учетом ограниченного объема выборки и отсутствия внешней валидации данные результаты следует рассматривать как этап внутренней апробации разработанного подхода.

4.2.4 Мультимодальный классификатор клинических форм БКР

На рисунке 4.19 представлены распределения значений параметров, извлеченных из данных СДО, ОКТ и ВЧУЗИ, для различных диагнозов. Для упрощения модели классификации, то есть для уменьшения размерности пространства признаков, параметры, коррелирующие между собой, могут быть учтены с использованием АГК. Как следует из рисунка 4.19, коэффициент меланиновой пигментации имеет наибольшее среднее значение в группе ДН и при пигментированной форме БКР. Индекс эритемы и индекс, чувствительный к содержанию гемоглобина 1 имеют наибольшие средние значения при узловой форме БКР, тогда как при поверхностной форме БКР данные параметры характеризуются низкими значениями. Параметр округлости имеет более высокие значения для ДН и меньшие значения для поверхностной клинической формы БКР.

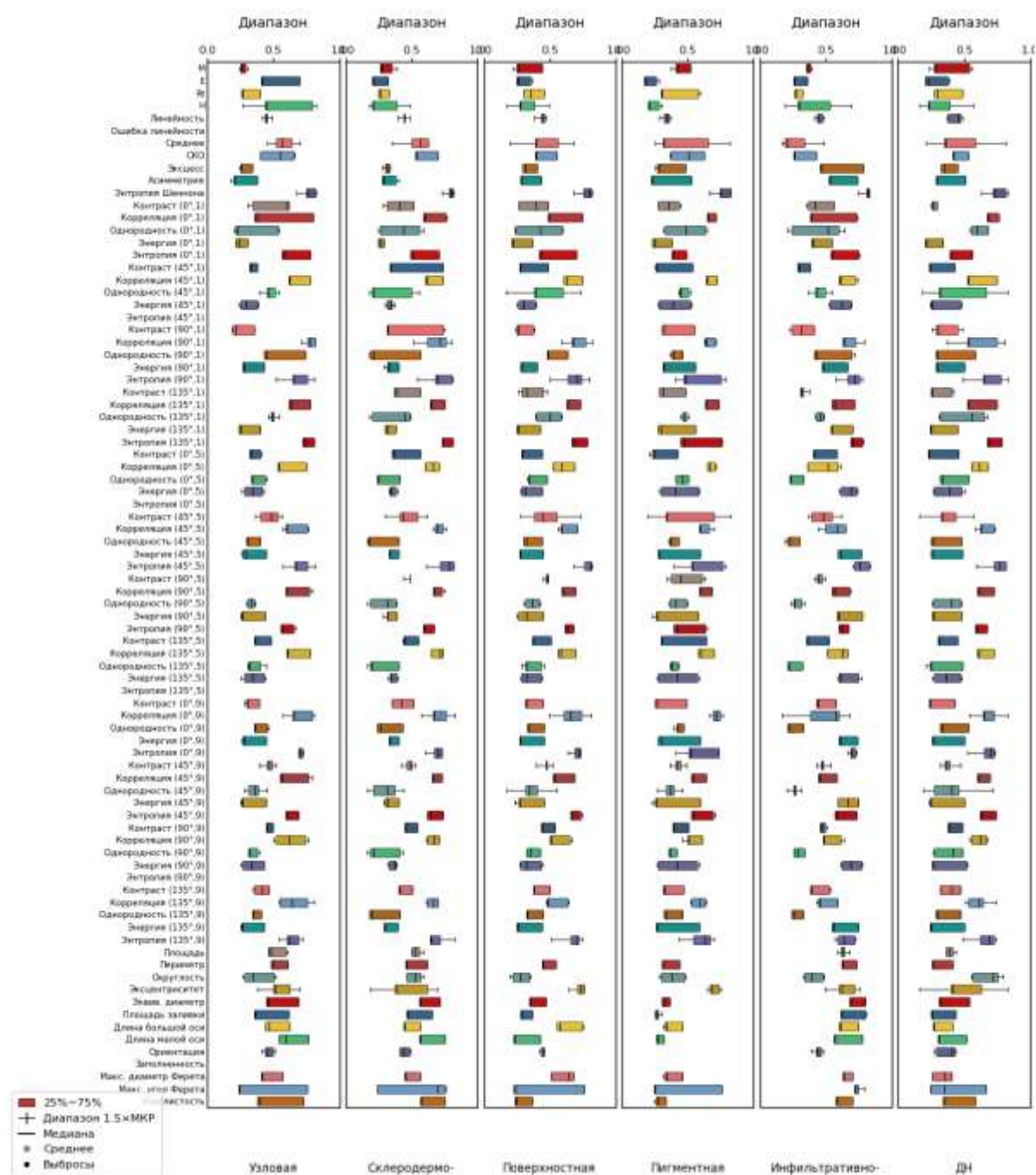


Рисунок 4.19. Распределение значений параметров, извлеченных из данных СДО, ОКТ и ВЧУЗИ, для различных клинических форм БКР. В скобках указаны угол и межпиксельные расстояния, использованные при расчете матрицы совместной встречаемости уровней серого для ОИ ОКТ-изображений.

На рисунке 4.20 представлены зависимости доли ложноотрицательных результатов и доли ложноположительных результатов от порогового значения вероятности, при котором диагноз считается положительным. В модели указанные пороговые значения могут быть настроены таким образом, чтобы снизить долю отнесения БКР к группе ДН и/или наиболее агрессивных клинических форм БКР к менее агрессивным формам. При изменении порогового значения

количество ложноположительных и ложноотрицательных результатов соответственно возрастает или уменьшается, что отражено на рисунке 4.20. Скорость изменения долей ложноположительных и ложноотрицательных результатов различается для разных клинических форм БКР и ДН. Так, при увеличении порогового значения доля ложноположительных результатов для ДН и поверхностной формы БКР возрастает постепенно, тогда как для других форм БКР рост данной величины происходит более быстро. Доля ложноотрицательных предсказаний при этом резко снижается.

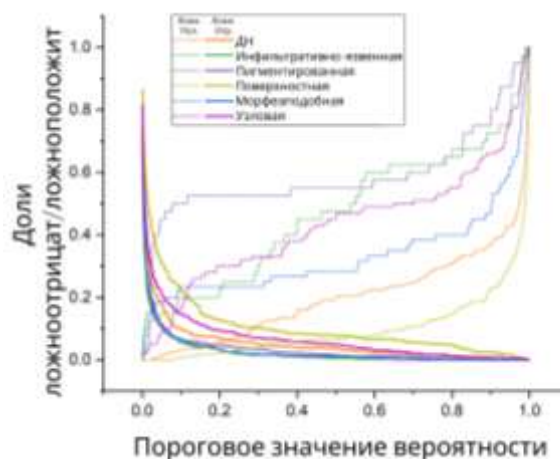
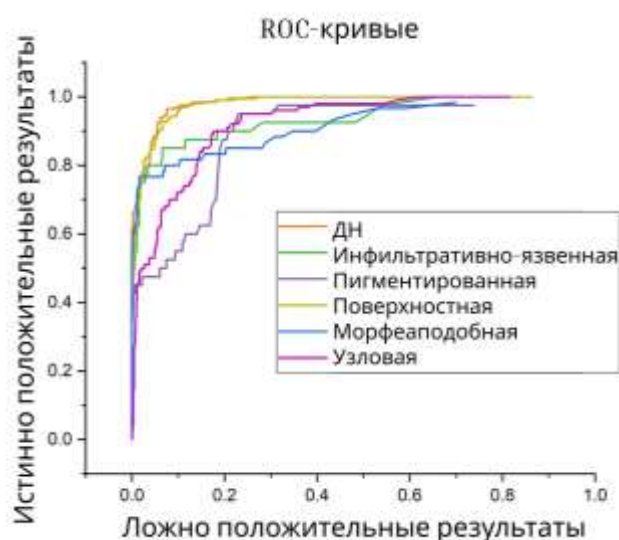


Рисунок 4.20. Зависимости доли ложноотрицательных и ложноположительных результатов от порогового значения вероятности, при котором диагноз считается положительным.

На рисунке 4.21 представлены кривые ошибок, отражающие зависимость доли истинно положительных результатов от доли ложноположительных результатов, а также матрица смежности, построенная на основе диагноза, соответствующего максимальному значению вероятности в векторе предсказаний модели. Согласно кривой ошибок (рис. 4.21а), наибольший диагностический потенциал предложенного классификатора отмечается для ДН и поверхностной формы БКР. На рисунке 4.21б видно, что пигментированная форма БКР в 35% случаев классифицируется как поверхностная форма БКР, что может быть обусловлено отсутствием либо недостаточной чувствительностью методов ОКТ и ВЧУЗИ к пигментным изменениям.



а

		Предсказанный класс							Истинный класс
		ДН	Инфильтративно-язвенная форма БКР	Пигментированная форма БКР	Поверхностная форма БКР	Морфеоподобная форма БКР	Узловая форма БКР		
Истинный класс	ДН	84	3	6	0	1	6	84%	3%
	Инфильтративно-язвенная форма БКР	0	13	0	4	1	2	0%	65%
	Пигментированная форма БКР	4	0	9	7	0	0	20%	0%
	Поверхностная форма БКР	1	1	2	141	0	5	1%	94%
	Морфеоподобная форма БКР	0	1	0	1	22	6	0%	73%
	Узловая форма БКР	7	1	0	6	5	31	14%	62%
		ДН	Инфильтративно-язвенная форма БКР	Пигментированная форма БКР	Поверхностная форма БКР	Морфеоподобная форма БКР	Узловая форма БКР		

б

Рисунок 4.21. Кривые ошибок (а) и матрица смежности (б) для различных классов; в каждой ячейке матрицы смежности в правом верхнем углу указано число наблюдений, а в левом нижнем углу — доля наблюдений истинного класса, отнесенных к предсказанному классу.

На рисунке 4.22 представлены показатели качества классификации, рассчитанные на основе матрицы смежности. Для всех классов новообразований отмечается высокая специфичность. Наибольшая чувствительность предложенного метода дифференциации новообразований наблюдается в группах ДН и поверхностной формы БКР (рис. 4.22а). Средние значения чувствительности и специфичности предложенного метода для ДН и различных клинических форм БКР составили $70.6 \pm 17.3\%$ и $95.9 \pm 2.5\%$ соответственно.

На рисунке 4.22б представлена гистограмма чувствительности, точности и F_1 -меры предложенного алгоритма при многоклассовой классификации, учитывающей тип новообразования и клиническую форму БКР, а также при бинарной классификации, в рамках которой новообразования подразделялись на ДН и БКР без учета клинической формы. Для многоклассовой классификации значения чувствительности, точности и F_1 -меры составили $70.6 \pm 17.3\%$, $72.6 \pm 14.2\%$ и $71.5 \pm 15.6\%$ соответственно, тогда как для бинарной классификации указанные показатели составили $89.1 \pm 8.0\%$, $89.0 \pm 2.1\%$ и $89.3 \pm 3.4\%$ соответственно.

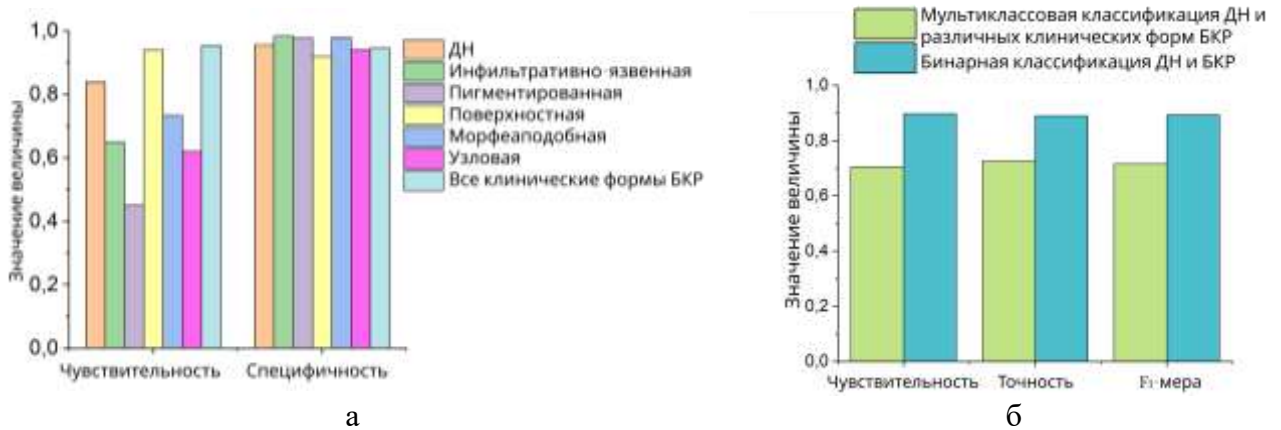


Рисунок 4.22. Гистограммы чувствительности и специфичности для многоклассовой классификации (а), а также чувствительности, точности и F_1 -меры (б) для многоклассовой и бинарной классификаций.

На рисунке 4.23 представлены гистограммы 25 наиболее значимых признаков, вносящих наибольший вклад в предсказание предложенного классификатора, рассчитанные с использованием встроенного функционала CatBoost и библиотеки SHAP. Можно отметить, что три наиболее значимых параметра относятся к характеристикам формы новообразования, при этом в число первых 25 параметров входят признаки, полученные по данным всех трех модальностей (рис. 4.23а).

Кроме того, на рисунке 4.23б показано, что вклад различных признаков различается для разных клинических форм БКР. Так, параметр эксцентриситета является одним из наиболее значимых при прогнозировании поверхностной клинической формы БКР, что свидетельствует о важной роли морфологического отклонения формы новообразования от идеальной окружности. В то же время для ДН параметры эксцентриситета, эквивалентного диаметра и округлости имеют сопоставимые значения, что указывает на равную значимость размера и формы новообразования.

Для узловой клинической формы БКР наибольшее значение имеют такие параметры, как эксцентриситет, коэффициент меланиновой пигментации, округлость и другие характеристики. Для пигментированной формы БКР наибольший вклад в предсказание данного диагноза вносит коэффициент меланиновой пигментации.

В настоящем исследовании не проводилось сопоставление или корреляционный анализ конкретных гистопатологических маркеров каждого клинического случая БКР с измеренными параметрами.



Рисунок 4.23. Гистограммы значимости признаков, рассчитанные с использованием CatBoost (а) и SHAP (б).

4.3 Выводы

В рамках настоящей главы разработан и апробирован мультимодальный подход к дифференциации ДН кожи и БКР, а также к классификации клинических форм БКР *in vivo* на основе количественных признаков, извлеченных из данных ОКТ, СДО и ВЧУЗИ. Показано, что использование текстурных характеристик ОКТ-изображений, спектральных параметров СДО и морфоструктурных/геометрических признаков по данным ВЧУЗИ позволяет формировать информативное признаковое пространство для последующего статистического анализа и алгоритмической классификации.

Результаты АГК продемонстрировали, что параметры различных модальностей вносят неодинаковый вклад в разделение диагностических категорий, а их совместное рассмотрение повышает различимость исследуемых классов по сравнению с использованием одномодальных данных. Одномодальные классификаторы показали умеренную диагностическую эффективность, тогда как мультимодальная модель продемонстрировала более высокие показатели точности на внутренней выборке. Это подтверждает целесообразность интеграции количественных признаков, полученных методами, основанными на различных физических принципах формирования сигнала.

Для задачи многоклассовой классификации ДН и клинических форм БКР также показана принципиальная применимость предложенного подхода. Вместе с тем результаты данной части исследования следует интерпретировать с осторожностью ввиду ограниченного объема и несбалансированности выборки по отдельным классам.

Таким образом, полученные данные подтверждают перспективность мультимодального подхода к количественной дифференциальной диагностике новообразований кожи *in vivo*. В то же время ограничения, связанные со структурой выборки, неполнотой набора модальностей у части наблюдений, пространственной несогласованностью измерений и отсутствием внешней валидации, указывают на необходимость дальнейшей проверки и расширения клинической базы исследования. Полученные результаты подтверждают диагностический потенциал комбинированного подхода и формируют основу для создания автоматизированных инструментов поддержки объективного клинического решения, способных повысить точность первичной диагностики и улучшить выбор тактики лечения при новообразованиях кожи.

Результаты исследования опубликованы:

Y. I. Surkov, **I. A. Serebryakova**, Y. K. Kuzinova, O. M. Konopatskova, D. V. Safronov, S. V. Kapralov, E. A. Genina, V. V. Tuchin / Multimodal Method for Differentiating Various Clinical Forms of Basal Cell Carcinoma and Benign Neoplasms *In vivo* // *Diagnostics*. — 2024. — Vol. 14, No. 2. — Art. 202. — DOI: 10.3390/diagnostics14020202.

I. A. Serebryakova, Y. I. Surkov, E. A. Genina, Y. K. Kuzinova, O. M. Konopatskova, V. V. Tuchin / Multimodal Ultrasound/Optical Method for Basal Cell Carcinoma Recognition Using Machine Learning // *IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics*. — 2026. — Vol. 32. — P. 1–9. — DOI: 10.1109/JSTQE.2026.3670391.

Глава 5. Оптическое просветление доброкачественных новообразований кожи с применением мультимодального контактного геля

В настоящей главе рассматривается практическая реализация ОП ДН кожи *in vivo* с использованием разработанного биосовместимого МКГ. Данный гель сочетает свойства ОПА и контактной среды, обеспечивающей акустическую проводимость и возможность применения в составе единого протокола мультимодального исследования. Особое внимание уделено оценке того, в какой степени предложенный подход позволяет воспроизводимо повышать информативность измерений непосредственно в области новообразования, где исходные оптические и структурные свойства ткани отличаются от характеристик окружающей интактной кожи.

ДН кожи служат клинически значимой моделью для апробации разработанного подхода ОП с МКГ в условиях реального обследования. С одной стороны, они широко распространены и в ряде случаев требуют динамического наблюдения. С другой стороны, морфологическая неоднородность, вариабельность рельефа поверхности, выраженность пигментации и особенности сосудистого рисунка могут затруднять получение устойчивых и сопоставимых данных при неинвазивной визуализации. Кроме того, в ряде случаев клинические и дерматоскопические признаки ДН частично перекрываются с признаками ЗН, что повышает требования к качеству и воспроизводимости регистрируемых данных. В этих условиях ограниченная глубина зондирования и высокий вклад многократного рассеяния могут снижать контраст границ и затруднять количественную оценку структурных признаков. С биофизической точки зрения ОП с использованием МКГ приводит к изменению условий распространения излучения в биоткани и может уменьшить вклад рассеяния в поверхностных и подповерхностных слоях кожи, повысить отношение сигнал/шум и улучшить визуализацию структурных элементов ДН при сохранении неинвазивности и клинически приемлемой продолжительности процедуры. ОП сопровождается уменьшением коэффициента рассеяния ткани, что приводит к увеличению глубины зондирования и изменению пространственного распределения интенсивности обратно рассеянного излучения. Это, в свою очередь, влияет на формирование сигнала в методах ОКТ и СДО, а также на точность оценки структурных параметров, извлекаемых из ВЧУЗИ-изображений.

Существенная особенность рассматриваемого подхода состоит в интеграции ОП в мультимодальный протокол исследования без существенного усложнения процедуры для оператора и обследуемого. МКГ обеспечивает акустический контакт датчика ВЧУЗИ с поверхностью кожи, уменьшает влияние микронеровностей и артефактов, связанных с прижатием, а также создает условия для воспроизводимой доставки ОПА в поверхностные слои

биоткани. В результате формируется единый технологический протокол, в котором ОП рассматривается как контролируемый этап подготовки ткани, а не как дополнительный этап стандартной процедуры обследования. Такой подход особенно важен при сопоставлении данных, полученных различными модальностями, поскольку позволяет уменьшить вариабельность, связанную с контактными условиями, состоянием рогового слоя и локальными изменениями микроциркуляции.

Цель главы состоит в оценке эффективности ОП ДН кожи при использовании МКГ и определении количественных показателей, характеризующих улучшение качества и диагностической информативности мультимодальных данных. Для ее достижения в главе решаются следующие задачи: анализируются изменения параметров сигнала и визуализируемых структурных признаков в области новообразования до и после применения МКГ; исследуется динамика эффекта ОП; оценивается воспроизводимость результатов и формируются критерии, позволяющие рассматривать ОП как стандартный этап мультимодального обследования при мониторинге и дифференциальной диагностике новообразований кожи.

В данной главе рассматриваются экспериментальные и методические возможности использования МКГ для ОП ДН кожи *in vivo*. Полученные результаты позволяют обосновать включение ОП в состав стандартизованного мультимодального протокола и создают основу для дальнейшего использования улучшенных по качеству данных при количественном анализе, мониторинге и решении задач дифференциальной диагностики новообразований кожи.

5.1 Материалы и методы

В исследовании приняли участие 10 добровольцев обоих полов в возрасте от 18 до 35 лет с клинически подтвержденными ДН кожи, такими как дерматофиброма, меланоцитарный (меланоформный) невус, себорейный кератоз. Все участники имели II фототип кожи по Фицпатрику. Исследование одобрено Локальным этическим комитетом Саратовского государственного медицинского университета имени В.И. Разумовского Министерства здравоохранения России (протокол №09 от 04.04.2023 г.). Работа выполнена в соответствии с этическими принципами, изложенными в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации 2013 г. [122], а также с требованиями Федерального закона от 21.11.2011 №323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации». От всех участников исследования было получено информированное добровольное согласие.

5.1.1 Компонентный состав МКГ

Для использования в составе комплексных ультразвуковых и оптических методов исследования был разработан МКГ, представляющий собой биосовместимый состав с достаточной акустической проводимостью и вязкостью, а также обладающий свойствами ОПА. Компонентный состав МКГ приведен в таблице 5.1. Необходимые количества компонентов (табл. 5.1) отмеряли с помощью микроаналитических весов (DA-225DC, Bel Engineering, Италия) с дискретностью отсчета 0.0001 г. Затем смесь доводили дистиллированной водой до общего объема 50 мл и перемешивали до получения гомогенного состояния.

Таблица 5.1. Компонентный состав разработанного мультимодального контактного геля.

Компонент	Масса (г) или Объем (мл)	Процент от общей массы (мас., %)	Поставщик
Гидроксиэтилцеллюлоза (ГЭЦ)	0.5 г	1.0	ООО «Shin Efsu Tylose», Германия
Сорбитол	2.5 г	5.0	ООО «Tokyo Chemical Industry Co., Ltd.», Япония
Диамид угольной кислоты	2.5 г	5.0	ООО «Прайм Кемикалс Групп», Россия
Дистиллированная вода	21.0 мл	42.0	ООО «Тектрон», Россия
Чистый глицерин (C ₃ H ₈ O ₃)	20 мл	40.0	ООО «Деста-Лаб», Россия
Диметилсульфоксид (ДМСО)	0.5 мл	1.0	ООО «ПанЭко», Россия
Пропиленгликоль (ПГ)	2.5 мл	5.0	ООО «Компания ЭльГрупп», Россия
Консервант феноксизтанол	0.5 мл	1.0	ООО «Стил», Россия

В настоящей работе МКГ рассматривается не только как контактная среда, но и как среда, модифицирующая оптические и акустические условия регистрации сигнала. Его применение приводит к уменьшению коэффициента рассеяния в поверхностных слоях кожи за счет частичного выравнивания показателей преломления между компонентами ткани, а также к повышению однородности контактного слоя. Одновременно обеспечивается стабильная акустическая проводимость, необходимая для регистрации данных методом ВЧУЗИ.

Следовательно, МКГ выполняет двойную функцию: с одной стороны, он снижает влияние поверхностных артефактов и вариабельности контактных условий, с другой — создает условия для реализации оптического просветления, влияющего на формирование сигнала в методах ОКТ и СДО. Такое сочетание свойств позволяет рассматривать МКГ как элемент стандартизации мультимодального протокола.

5.1.2 Схема исследования

Для регистрации визуальных изменений поверхности кожи и новообразований применялась цифровая камера в условиях ко- и кросс-поляризованного освещения и поляризационный дерматоскоп Firefly DE 300 (Firefly, США) с 10-кратным увеличением и разрешением 1920 на 1080 пикселей. ОКТ выполнялась с целью получения высококонтрастных изображений микроструктуры кожи на спектральном ОКТ GAN930V2-BU (Thorlabs, США). Спектроскопические измерения проводились в видимом диапазоне (400 – 900 нм) с использованием спектрометра USB4000-UV-VIS (Ocean Optics, США) и волоконно-оптического зонда QR400-7-VIS-NIR (Ocean Optics, США). ВЧУЗИ проводилось с применением аппарата DUB SkinScanner (Taberna Pro Medicum GmbH, Люнебург, Германия) с двумя зондами на центральных частотах 33 и 75 МГц, обеспечивающими глубину сканирования 5 мм и 3.2 мм соответственно. В качестве ультразвукового контакта и ОПА использовался разработанный МКГ. Использование геля потенциально упрощает мультимодальный протокол за счет совмещения функций контактной среды и оптического просветляющего состава.

Измерения оптическими методами неинвазивного скрининга повторяли спустя 15 минут после местного нанесения МКГ. Это позволило отследить динамику изменения оптических характеристик биотканей и оценить эффективность оптического просветления после воздействия МКГ. Все манипуляции осуществлялись при температуре в диапазоне от +23 до +25°C, без внешних факторов, способных значительно повлиять на свойства кожи.

Для сравнительного анализа у каждого добровольца выбирались два участка кожи, на оба из которых наносился МКГ: исследуемый участок — доброкачественное новообразование кожи, и контрольный участок — участок здоровой кожи, выбранный либо в непосредственной близости от новообразования, либо симметрично относительно средней линии тела. Такой подход позволил минимизировать влияние индивидуальных особенностей кожи, включая тип кожи, возрастные изменения и уровень пигментации, а также повысить объективность оценки эффекта оптического просветления за счет внутрииндивидуального сравнения реакции тканей на воздействие МКГ.

После завершения процедуры добровольцы заполняли анкету, в которой оценивали наличие или отсутствие дискомфорта, покраснения, жжения или других реакций кожи. Никаких выраженных побочных реакций выявлено не было.

Для объективной оценки изменений оптических и структурных свойств ДН кожи в результате ОП с помощью МКГ были выделены и рассчитаны параметры на основе данных, полученных с использованием ОКТ, ВЧУЗИ, СДО и цифровых изображений.

При анализе ОКТ-изображений определяли толщину эпидермиса как расстояние между верхней границей кожи и зоной перехода эпидермис–дерма. Контрастность этой границы оценивалась как отношение интенсивности сигнала в эпидермисе к интенсивности в дерме. Глубина зондирования оптического сигнала определялась до точки, где сигнал становился неотличим от уровня шума, и использовалась для количественной оценки эффективности оптического просветления. Также рассчитывали плотность оптических неоднородностей — количество участков повышенного или пониженного отражения на единицу площади, которые могут соответствовать микрососудам или другим структурам. Для анализа динамики просветления вычислялось относительное увеличение глубины зондирования сигнала после местного нанесения МКГ, выраженное в процентах к исходному уровню.

В рамках ВЧУЗИ измерялись латеральный размер и глубина новообразования. Отношение этих величин использовалось как потенциальный маркер типа новообразования. Эхогенность тканей рассчитывалась как среднее значение яркости пикселей в области интереса и сравнивалась с показателем для здоровой кожи. Также оценивалась контрастность между новообразованием и окружающими тканями, а также степень однородности внутренней структуры образования.

Для оценки изменений оптических свойств биотканей в ответ на воздействие ОПА по СДО рассчитывались следующие индексы в соответствии с формулами 4.1 – 4.5: индекс меланиновой пигментации, индекс эритемы, индекс, чувствительный к содержанию гемоглобина, индекс оксигенации.

5.2 Результаты

На рисунке 5.1 представлены дерматоскопические изображения в условиях ко-поляризованного и кросс-поляризованного света исследуемого участка кожи до и после 15 минутного оптического просветления с применением МКГ. Ко-поляризованный режим преимущественно подчеркивает поверхностные особенности (микрорельеф, кератиновые наслоения и блики от рогового слоя), тогда как кросс-поляризация снижает вклад зеркального отражения и повышает визуализацию внутрикожных структур за счет подавления поверхностных бликов. После экспозиции МКГ в кросс-поляризованном свете качественно отмечается изменение оптического контраста и выраженности поверхностного рассеяния, что проявляется более отчетливой визуализацией структурных элементов и границ области интереса.

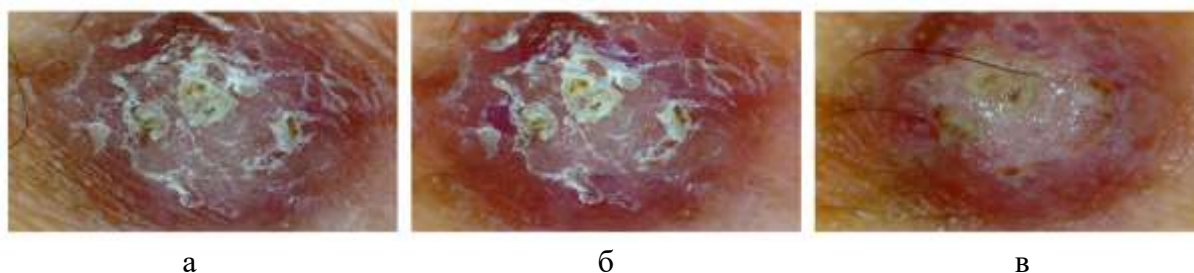


Рисунок 5.1. а) intactный исследуемый участок кожи в ко-поляризованном свете, б) intactный исследуемый участок кожи в кросс-поляризованном свете, в) исследуемый участок кожи в кросс-поляризованном свете после 15 минут оптического просветления МКГ.

На рисунке 5.2 представлены дерматоскопические изображения в условиях ко-поляризованного и кросс-поляризованного света, а также ОКТ-сканы (В-режим) для сравнительного анализа структуры кожи до и после ОП с МКГ. Верхняя строка иллюстрирует дерматоскопические изображения: первая колонка соответствует intactному участку кожи, вторая — участку через 15 минут после ОП. Нижняя строка демонстрирует ОКТ-сканы: первая колонка показывает контрольный участок (intactную кожу), вторая — исследуемый участок после ОП. Цветные стрелки указывают плоскости зондирования В-сканов. Масштабные метки приведены для точной оценки размеров структур: 1 мм для дерматоскопических изображений и 0.5 мм для ОКТ-сканов. Отмечается значительное улучшение качества и глубины визуализации как на дерматоскопических изображениях, так и на ОКТ-сканах после ОП с МКГ. На дерматоскопических изображениях наблюдается более четкая детализация структурных элементов кожи, таких как фолликулы, сосуды и пигментные образования. После ОП повышается контрастность границы между эпидермисом и дермой, что позволяет более детально оценить микроархитектуру биотканей.

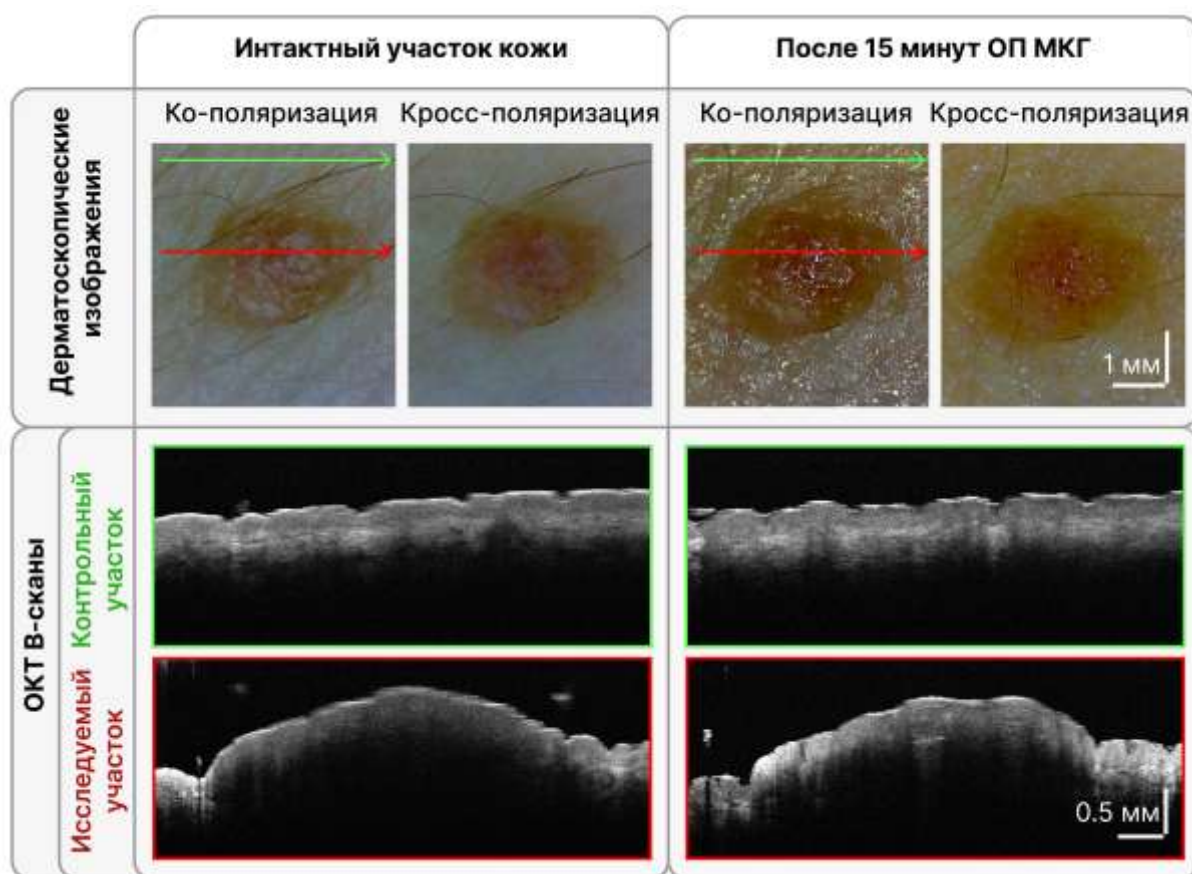


Рисунок 5.2. Примеры дерматоскопических изображений в ко- и кросс-поляризованном свете и В-сканы ОКТ исследуемого и контрольного участка кожи до и после 15 минут оптического просветления МКГ. Цветными стрелками обозначены плоскости ОКТ-зондирования – В-сканы (красная стрелка – исследуемый участок, зеленая стрелка – контрольный участок).

На рисунке 5.3 представлены результаты ВЧУЗИ, выполненного на контрольном и исследуемом участках кожи при двух различных частотах: 33 МГц и 75 МГц. В верхней строке показаны изображения контрольного участка, а в нижней — исследуемого участка. При использовании частоты 33 МГц наблюдается общая структура кожи с различными слоями эпидермиса и дермы, однако детализация ограничена из-за относительно низкой разрешающей способности. С повышением частоты до 75 МГц качество изображения значительно улучшается: границы между слоями кожи становятся более четкими, а микроархитектура тканей становится более различной. В области новообразования на изображениях исследуемого участка отмечается снижение эхогенности по сравнению с окружающими тканями, что может свидетельствовать об изменении акустических свойств ткани. Масштабная метка (1 мм) позволяет оценить размеры структур с высокой точностью.

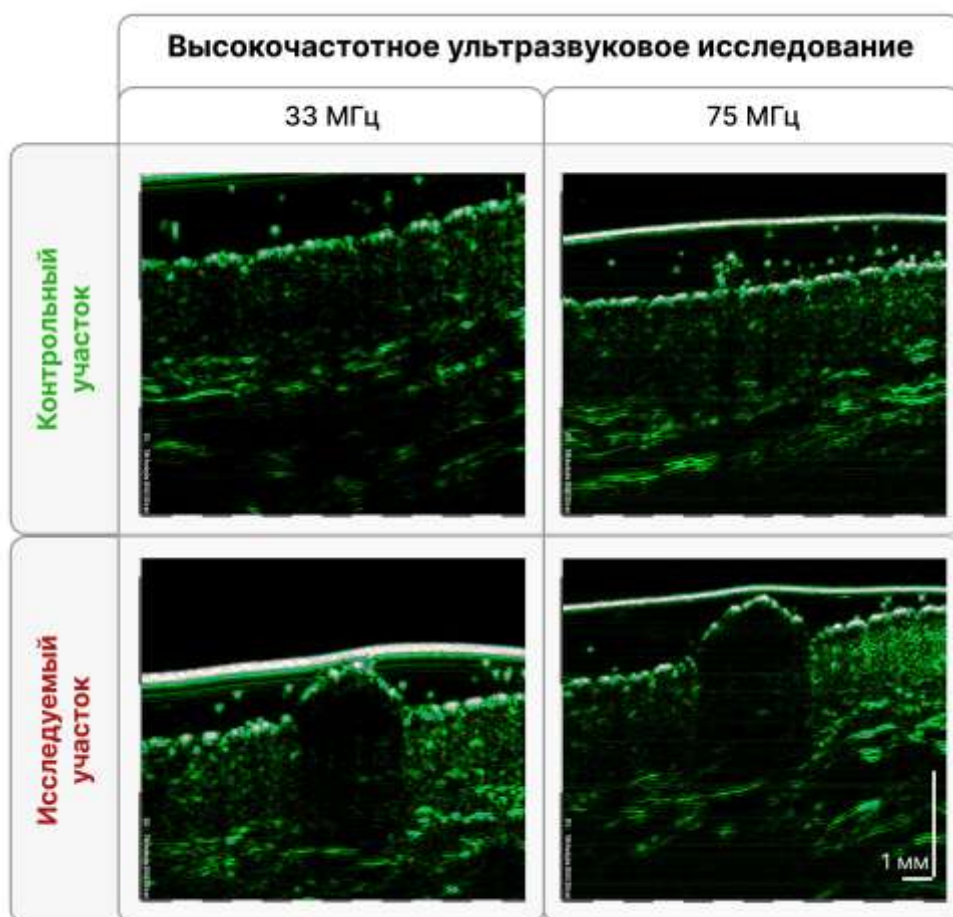


Рисунок 5.3. ВЧУЗИ изображения контрольного и исследуемого участков кожи на частотах 33 МГц и 75 МГц.

На рисунке 5.4 представлены спектры диффузного отражения контрольного участка кожи и участка доброкачественного новообразования (ДН), зарегистрированные до и после ОП с применением МКГ в диапазоне длин волн 400–900 нм. Линиями обозначены средние значения коэффициента диффузного отражения, заштрихованными областями — соответствующие доверительные интервалы.

После применения МКГ на контрольном участке кожи наблюдалось увеличение коэффициента диффузного отражения практически во всем исследуемом спектральном диапазоне. Частичное согласование показателей преломления тканевых компонентов под действием ОПА способствует снижению рассеяния в поверхностных слоях кожи и увеличению средней длины свободного пробега фотонов. В результате возрастает эффективная глубина проникновения излучения и изменяется пространственное распределение фотонов, выходящих из ткани. При фиксированном расстоянии между источником и приемником волоконно-оптического зонда такие изменения могут приводить к увеличению доли обратнорассеянного излучения, регистрируемого приемным волокном. Одновременно возрастает вклад более глубоких слоев дермы в формирование регистрируемого сигнала, что может сопровождаться

изменением выраженности спектральных особенностей, связанных с поглощением гемоглобина. В области ДН изменения спектра были менее выраженными. После применения МКГ наблюдалось незначительное снижение коэффициента диффузного отражения. Предположительно, различный характер спектрального отклика может быть обусловлен особенностями структурной и морфологической организации новообразований, их пигментации и васкуляризации, а также неоднородностью проникновения ОПА в ткань. Совокупность этих факторов определяет соотношение процессов рассеяния и поглощения света и, следовательно, характер изменения спектра диффузного отражения после оптического просветления.

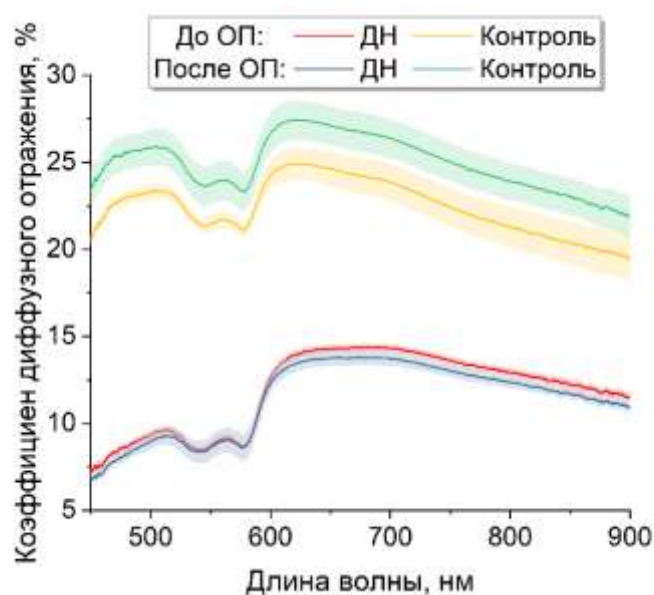


Рисунок 5.4. Спектры диффузного отражения контрольного (Контроль) и исследуемого участков (ДН) кожи до и после ОП МКГ.

Полученные результаты свидетельствуют о различиях оптического отклика контрольного участка кожи и ДН на воздействие МКГ. Характер и степень изменения спектров диффузного отражения могут рассматриваться в качестве потенциальных дополнительных признаков при неинвазивной дифференциации новообразований кожи. Вместе с тем изменение абсолютного уровня спектра не является непосредственной мерой снижения коэффициента рассеяния и должно интерпретироваться совместно с динамикой спектральных индексов и результатами оптической когерентной томографии.

Представленные спектральные индексы на рисунке 5.5, рассчитанные по формулам 4.1 – 4.5, позволили оценить изменения оптических свойств тканей ДН и контрольной кожи до и после ОП. Индекс меланина демонстрирует существенные различия между исследуемыми областями. До ОП контрольная кожа характеризовалась более высокими значениями индекса меланиновой пигментации по сравнению с участком ДН. После местного нанесения просветляющего агента наблюдалось снижение индекса меланиновой пигментации как в

новообразовании, так и в контрольной области. Этот эффект отражает уменьшение вклада поверхностных поглощающих структур вследствие снижения рассеяния и усиления глубинного вклада в формирование спектра. При этом вариабельность данных в контрольной коже после ОП заметно уменьшилась, что указывает на повышение однородности оптических свойств ткани.

Индекс эритемы до ОП был значительно выше в области ДН, что соответствует повышенной васкуляризации. После оптического просветления медианные значения индекса эритемы в ДН снижались, тогда как в контрольной коже изменения были минимальными. Данный результат свидетельствует о снижении относительного вклада поверхностных сосудистых структур в формирование спектра после ОП и более выраженном влиянии просветления на ДН.

Изменения индекса, чувствительного к содержанию гемоглобина, носят разнонаправленный характер для двух исследуемых областей. В ДН после ОП наблюдалось увеличение индекса, что может быть связано с усилением вклада глубинных сосудов по мере увеличения прозрачности ткани. В контрольной коже, напротив, индекс, чувствительный к содержанию гемоглобина, несколько снижался, что может отражать уменьшение поверхностного кровенаполнения при изменении оптических свойств эпидермиса и дермы. Такое различие в реакции исследуемых биотканей подчеркивает зависимость реакции от морфологии исследуемой области.

Индекс оксигенации также демонстрировал различия между новообразованием и контрольным участком кожи. В ДН после ОП отмечалось небольшое увеличение сатурации, тогда как в контрольной коже наблюдалось умеренное снижение данного индекса. Эти изменения, вероятно, обусловлены перераспределением вкладов окси- и дезоксигемоглобина при изменении глубины зондирования оптического сигнала на фоне просветления. Снижение вариабельности показателя в контрольной коже после ОП указывает на стабилизацию спектрального сигнала и уменьшение влияния поверхностных структур.

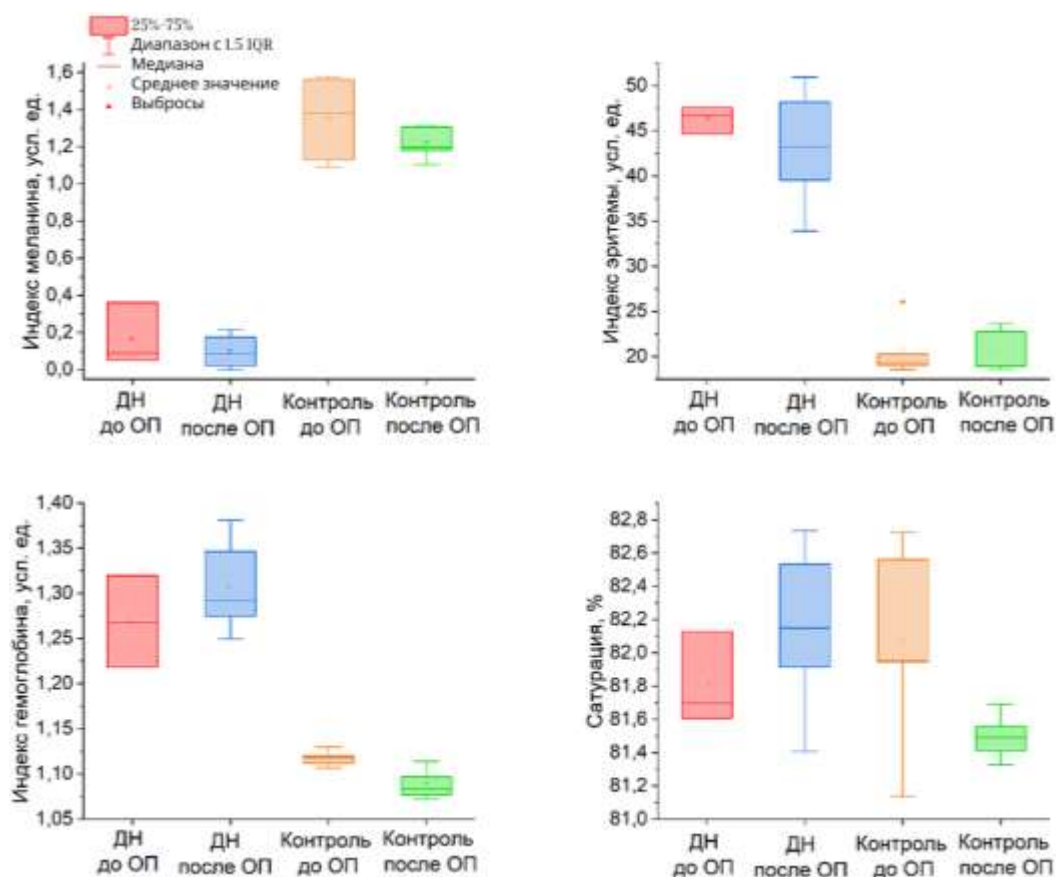


Рисунок 5.5. Спектральные характеристики диффузного отражения доброкачественного новообразования и контрольного участка кожи до и после оптического просветления с МКГ в видимом диапазоне.

Необходимо учитывать ряд ограничений проведенного исследования. Все измерения выполнены на выборке добровольцев, относящихся ко II фототипу кожи, что ограничивает переносимость полученных результатов на другие фототипы. Кроме того, исследование проводилось на ДН кожи, поэтому полученные закономерности не могут быть напрямую экстраполированы на ЗН без дополнительной проверки. Пространственная неоднородность новообразований и вариабельность их морфологической структуры также могут влиять на воспроизводимость количественных показателей. При этом использование МКГ позволяет снизить вариабельность, обусловленную контактными условиями, но полностью исключить влияние биологических факторов невозможно. Результаты настоящей главы следует интерпретировать как этап экспериментальной апробации подхода к интеграции ОП в мультимодальный протокол обследования. При этом совокупность полученных данных демонстрирует, что ОП вызывает значимые и разнородные изменения спектральных характеристик ДН и контрольного участка кожи. ДН характеризуется выраженной реакцией сосудистого русла и изменением меланинового вклада, тогда как контрольная кожа показывает более умеренные и однонаправленные изменения. Это подчеркивает потенциал метода ОП для

повышения контрастности спектральных показателей и улучшения дифференциации ДН и потенциально патологических биотканей.

5.3 Выводы

В главе исследована возможность ОП ДН кожи *in vivo* с использованием разработанного МКГ, сочетающего функции контактной среды для ВЧУЗИ и ОПА. Показано, что применение МКГ обеспечивает улучшение условий регистрации данных методами ОКТ, СДО и ВЧУЗИ за счет стабилизации контактных условий и уменьшения влияния многократного рассеяния в поверхностных слоях кожи. Использование МКГ позволяет реализовать ОП непосредственно в области новообразования без существенного усложнения протокола мультимодального обследования. Полученные результаты показывают, что использование МКГ способствует единообразию контактных условий измерения, уменьшению влияния микронеровностей поверхности и артефактов прижатия, а также создает условия для более воспроизводимой регистрации данных. Следует отметить, что после ОП с МКГ наблюдается улучшение качества визуализации структурных элементов ДН и изменение количественных параметров сигнала, что согласуется с уменьшением вклада многократного рассеяния в поверхностных и подповерхностных слоях кожи. Установлено, что выраженность эффекта ОП определяется исходными особенностями исследуемого участка кожи и самого новообразования, включая рельеф поверхности, степень пигментации и структурную неоднородность ткани. В целом применение МКГ обеспечивает устойчивое повышение информативности мультимодальных данных и позволяет рассматривать ОП как контролируемый и технологически воспроизводимый этап подготовки ткани к обследованию.

Результаты главы подтверждают перспективность применения МКГ для ОП новообразований кожи *in vivo*. Предложенный подход создает методическую основу для включения ОП в состав стандартизованного мультимодального протокола, ориентированного на повышение качества неинвазивной визуализации, количественного анализа и последующего использования полученных данных в задачах мониторинга и дифференциальной диагностики новообразований кожи.

Результаты исследования опубликованы:

И. А. Серебрякова, Ю. И. Сурков, Э. А. Генина, Я. К. Кузинова, О. М. Конопацкова, В. В. Тучин / Применение оптического просветления для повышения информативности мультимодального метода скрининга новообразований кожи // Холозэкспо 2025: Тезисы докладов XXII Международная конференция по голографии и прикладным оптическим технологиям, 2025. – С. 321-323.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диссертационная работа посвящена развитию нового подхода к диагностике и мониторингу новообразований кожи, основанного на включении ОП в протокол неинвазивной мультимодальной визуализации и последующем количественном анализе диагностических признаков. Предложенная концепция рассматривает ОП не как вспомогательную процедуру, а как управляемый этап подготовки ткани, позволяющий повысить глубину зондирования, контрастность и воспроизводимость параметров, извлекаемых из данных различных модальностей, и тем самым приблизить мультимодальную диагностику к формату объективной, алгоритмизируемой поддержки клинического решения.

Выполненные исследования показали, что эффективность ОП кожи *in vivo* статистически и методически зависит от фототипа и барьерных свойств кожи, а также от выбранных способов повышения проницаемости. Экспериментально обоснована персонализация протоколов ОП с использованием олеиновой кислоты в сочетании с физическими воздействиями (микродермабразия и сонофорез), что обеспечивает клинически приемлемую кинетику эффекта ОП и повышение информативности оптических методов визуализации.

Разработан и апробирован мультимодальный протокол мониторинга динамических изменений модельных меланоцитарных новообразований, включающий ОКТ, ВЧУЗИ, СДО и мультиспектральную ОА-томографию. Показано, что количественные параметры, получаемые различными методами, согласуются между собой и отражают прогрессирование патологического процесса. Установлено, что накопление меланина в патологических тканях связано с ростом объема ЗН, что подтверждает потенциал использования параметров, связанных с меланином, как количественных маркеров динамики меланоцитарных новообразований.

В рамках прикладной части работы предложен мультимодальный метод дифференциации ДН и БКР *in vivo* на основе интеграции количественных признаков ОКТ, СДО, ВЧУЗИ и применения методов машинного обучения. Реализована архитектура интеграции, допускающая неполное мультимодальное покрытие, что важно для практического внедрения в условиях клинического скрининга. Показано, что объединение предсказаний одномодальных классификаторов на основе взвешенного учета их вклада обеспечивает высокие показатели диагностической эффективности при бинарной классификации, а также позволяет расширить постановку задачи до дифференциации клинических форм БКР. Выявлены ограничения многоклассовой дифференциации, связанные с дисбалансом и малым объемом выборки для отдельных клинических форм, что определяет направления дальнейшего развития подхода.

Дополнительно показано, что иммерсионное ОП ДН кожи с применением МКГ увеличивает глубину зондирования и отношение сигнал/шум, обеспечивает более контрастную

визуализацию структурных элементов ДН и может повысить воспроизводимость регистрации спектральных характеристик. Это создает предпосылки для клинически совместимого включения ОП в комплексный мультимодальный протокол неинвазивного обследования.

Основные результаты диссертационной работы можно сформулировать следующим образом:

Экспериментально обоснована персонализация ОП кожи *in vivo* с учетом фототипа и барьерных свойств; показано, что сочетание ОК с физическими методами повышения проницаемости обеспечивает выраженное повышение глубины зондирования и контрастности структурных признаков при ОКТ-визуализации.

Определен вклад отдельных воздействий (микродермабразия, сонофорез, ОК) в изменение амплитуды и глубины зондирования ОКТ-сигнала, что позволяет выбирать параметры протокола в пределах клинически приемлемого времени экспозиции и требований безопасности.

Разработан мультимодальный протокол мониторинга динамики модельных меланоцитарных новообразований, включающий структурные и функциональные модальности; показана согласованность результатов различных методов и продемонстрирована связь параметров меланина с ростом ЗН, подтверждающая их диагностический потенциал.

Сформирован набор количественных признаков для ОКТ, СДО и ВЧУЗИ и разработан мультимодальный алгоритм обработки данных и машинного обучения, обеспечивающий высокую точность дифференциации ДН и ЗН кожи *in vivo* и устойчивость к отсутствию данных отдельных модальностей в пределах исследованной выборки.

Показана принципиальная реализуемость дифференциации клинических форм БКР на основе мультимодальных данных; определены основные факторы, ограничивающие чувствительность для отдельных клинических форм, и сформулированы пути повышения эффективности метода за счет расширения и балансировки выборки, включения дополнительных признаков и улучшения пространственной согласованности измерений.

Экспериментально подтверждена перспективность применения МКГ для ОП ДН кожи *in vivo* как средства повышения воспроизводимости и информативности мультимодального обследования.

Практическая значимость работы состоит в том, что предложенные протоколы ОП и мультимодальной регистрации, а также методы количественной интерпретации могут быть использованы при создании диагностических комплексов и программных модулей поддержки принятия решений в дерматологии. Перспективы дальнейших исследований связаны с расширением и внешней валидацией клинических выборок, обеспечением пространственной согласованности регистрации данных различными модальностями, а также развитием моделей

машинного обучения с учетом межмодальных корреляций для повышения точности дифференциальной диагностики и мониторинга новообразований кожи.

БЛАГОДАРНОСТИ

Автор благодарит коллектив кафедры оптики и биофотоники, сотрудников научного медицинского центра, а также члена-корреспондента РАН, заслуженного деятеля науки, доктора физико-математических наук, профессора, заведующего кафедрой оптики и биофотоники, руководителя научного медицинского центра, СГУ имени Н.Г. Чернышевского, Тучина Валерия Викторовича.

Отдельная благодарность выражается научному руководителю, доктору физико-математических наук, доценту, профессору кафедры оптики и биофотоники СГУ имени Н.Г. Чернышевского, Гениной Элине Алексеевне.

Кроме того, автор благодарит за продуктивную совместную работу Суркова Юрия Игоревича, Фащевского Арсения Павловича, Генина Вадима Дмитриевича, Кузинову Яну Константиновну, Конопацкову Ольгу Михайловну, Демину Полину Анатольевну, Шушунову Наталью Александровну, Иноземцеву Ольгу Александровну и Гусякову Ольгу Игоревну.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. The global burden of skin cancer: A longitudinal analysis from the Global Burden of Disease Study, 1990–2017 / K. Urban, S. Mehrmal, P. Uppal [et al.] // *JAAD International*. – 2021. – Vol. 2. – P. 98–108.
2. Trends in keratinocyte skin cancer incidence, mortality and burden of disease in 33 countries between 1990 and 2017 / D. D. Yang, K. Borsky, C. Jani [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2023. – Vol. 188, № 2. – P. 237–246.
3. Diagnostic accuracy of dermoscopy / H. Kittler, H. Pehamberger, K. Wolff [et al.] // *Lancet Oncology*. – 2002. – Vol. 3, № 3. – P. 159–165.
4. Dermoscopy compared with naked eye examination for the diagnosis of primary melanoma: a meta-analysis of studies performed in a clinical setting / M. E. Vestergaard, P. Macaskill, P. E. Holt [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2008. – Vol. 159, № 3. – P. 669–676.
5. Wojtowicz I. Dermoscopy of Basal Cell Carcinoma. Part 1: Dermoscopic Findings and Diagnostic Accuracy – A Systematic Literature Review / I. Wojtowicz, M. Żychowska // *Cancers*. – 2025. – Vol. 17, № 3.
6. Melanoma: assessment and management summary of the 2022 update of the National Institute for Health and Care Excellence guidelines / M. J. Smith, H. Peach, S. Keohane [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2025. – Vol. 192, № 5. – P. 807–817.
7. Impact of Shave Biopsy on Diagnosis and Management of Cutaneous Melanoma: A Systematic Review and Meta-Analysis / O. Ahmadi, M. Das, B. Hajarizadeh [et al.] // *Annals of Surgical Oncology*. – 2021. – Vol. 28, № 11. – P. 6168–6176.
8. Abhishek K. Complications of skin biopsy / K. Abhishek, N. Khunger // *J. Cutan. Aesthet. Surg.* – 2015. – Vol. 8, № 4. – P. 239–241.
9. Cheng H. M. Systematic review of optical coherence tomography usage in the diagnosis and management of basal cell carcinoma / H. M. Cheng, P. Guitera // *British Journal of Dermatology*. – 2015. – Vol. 173, № 6. – P. 1371–1380.
10. Line-Field Confocal Optical Coherence Tomography for the Diagnosis of Skin Tumors: A Systematic Review and Meta-Analysis / S. Razi, Y. H. Kuo, G. Pathak [et al.] // *Diagnostics*. – 2024. – Vol. 14, № 14.
11. Optical coherence tomography / D. Huang, E. A. Swanson, C. P. Lin [et al.] // *Science*. – 1991. – Vol. 254, № 5035. – P. 1178–1181.
12. Welzel J. Optical coherence tomography in dermatology: A review // *Skin Research and Technology*. – 2001. – Vol. 7, № 1. – P. 1–9.

13. Gambichler T. Applications of optical coherence tomography in dermatology / T. Gambichler, G. Moussa, M. Sand // *Journal of Dermatological Science*. – 2005. – Vol. 40. – P. 85–94.
14. Medical applications of reflectance spectroscopy in the diffusive and sub-diffusive regimes / S. Akter, M. G. Hossain, I. Nishidate [et al.] // *Journal of Near Infrared Spectroscopy*. – 2018. – Vol. 26, № 6. – P. 337–350.
15. Diffuse reflectance spectroscopy as a potential method for nonmelanoma skin cancer margin assessment / Y. Zhang, A. J. Moy, X. Feng [et al.] // *Transl. Biophotonics*. – 2020. – Vol. 2, № 3. – P. e202000001.
16. Light-induced autofluorescence and diffuse reflectance spectroscopy in clinical diagnosis of skin cancer / E. Borisova, E. Pavlova [et al.] // *Biophotonics: Photonic Solutions for Better Health Care IV*. – 2014.
17. High-frequency ultrasound in clinical dermatology: a review / J. Levy, D. L. Barrett, N. Harris [et al.] // *The Ultrasound Journal*. – 2021. – Vol. 13, № 1. – P. 24.
18. High-frequency ultrasound features of basal cell carcinoma and its association with histological recurrence risk / S. Q. Wang, J. Liu, Q. L. Zhu [et al.] // *Chin. Med. J. (Engl)*. – 2019. – Vol. 132, № 17. – P. 2021–2026.
19. High-frequency ultrasound associated with dermoscopy in pre-operative evaluation of basal cell carcinoma / E. de O. Barcaui, P. M. N. Valiante, A. C. P. Carvalho [et al.] // *An. Bras. Dermatol.* – 2014. – Vol. 89, № 5. – P. 828–831.
20. Photoacoustic imaging for cutaneous melanoma assessment: a comprehensive review / J. W. Fakhoury, J. B. Lara, R. Manwar [et al.] // *Journal of Biomedical Optics*. – 2024. – Vol. 29, № S1.
21. Ying Y. Photoacoustic Imaging of Human Skin for Accurate Diagnosis and Treatment Guidance / Y. Ying, H. Zhang, L. Lin // *Optics*. – 2024. – Vol. 5, № 1. – P. 133–150.
22. Non-invasive 3D imaging of human melanocytic lesions by combined ultrasound and photoacoustic tomography: a pilot study / A. F. Kukk, F. Scheling, R. Panzer [et al.] // *Scientific Reports*. – 2024. – Vol. 14, № 1. – P. 2768.
23. Optical properties of human skin / T. Lister, P. Wright [et al.] // *Journal of Biomedical Optics*. – 2012. – Vol. 17, № 9. – P. 0909011.
24. Optical properties of melanin in the skin and skinlike phantoms / A. N. Bashkatov, E. A. Genina, V. I. Kochubey [et al.] // *Proc. SPIE*. – 2000. – Vol. 4162. – P. 219–226.
25. Jacques S. L. Quick analysis of optical spectra to quantify epidermal melanin and papillary dermal blood content of skin // *J. Biophotonics*. – 2015. – Vol. 8, № 4. – P. 309–316.

26. Mandava A. High-resolution ultrasound imaging of cutaneous lesions / A. Mandava, P. Ravuri, R. Konathan // *Indian Journal of Radiology and Imaging*. – 2013. – Vol. 23, № 3. – P. 269–277.
27. Uematsu T. B-Mode Ultrasound Imaging, Doppler Imaging, and Real-Time Elastography in Cutaneous Malignant Melanoma and Lymph Node Metastases / T. Uematsu, M. Kasami, Y. Kiyohara // *Healthcare*. – 2013. – Vol. 1, № 1. – P. 84–95.
28. Recent progress in tissue optical clearing / D. Zhu, K. V. Larin, Q. Luo [et al.] // *Laser Photon. Rev.* – 2013. – Vol. 7, № 5. – P. 732–757.
29. In-vivo and ex-vivo optical clearing methods for biological tissues: review / I. Costantini, R. Cicchi, L. Silvestri [et al.] // *Biomedical Optics Express*. – 2019. – Vol. 10, № 10. – P. 5251–5267.
30. Genina E. A. Tissue Optical Clearing: State of the Art and Prospects // *Diagnostics*. – 2022. – Vol. 12, № 7.
31. *In vivo* skin optical clearing for improving imaging and light-induced therapy: a review / Q. Xia, D. Li, T. Yu [et al.] // *J. Biomed. Opt.* – 2023. – Vol. 28, № 6. – P. 060901.
32. Topical Application of Glycerol Increases Penetration Depth of Optical Coherence Tomography in Diagnosis of Basal Cell Carcinoma / F. Adan, E. M. M. Oyen, R. J. Holtackers [et al.] // *Acta Derm. Venereol.* – 2021. – Vol. 101, № 6. – P. 248.
33. Multimodal system for optical biopsy of melanoma with integrated ultrasound, optical coherence tomography and Raman spectroscopy / A. Fedorov Kukk, D. Wu, E. Gaffal [et al.] // *J. Biophotonics*. – 2022. – Vol. 15, № 10. – P. e202200129.
34. Four-modal device comprising optical coherence tomography, photoacoustic tomography, ultrasound, and Raman spectroscopy developed for *in vivo* skin lesion assessment / A. F. Kukk, D. Wu, R. Panzer [et al.] // *Biomedical Optics Express*. – 2025. – Vol. 16, № 5. – P. 1792–1806.
35. Combined ultrasound and photoacoustic C-mode imaging system for skin lesion assessment / A. F. Kukk, F. Scheling, R. Panzer [et al.] // *Scientific Reports*. – 2023. – Vol. 13, № 1. – P. 17947.
36. Higgins J. C. Diagnosing Common Benign Skin Tumors / J. C. Higgins, M. H. Maher, M. S. Douglas // *Am. Fam. Physician*. – 2015. – Vol. 92, № 7. – P. 601–607.
37. Marzuka A. G. Basal Cell Carcinoma: Pathogenesis, Epidemiology, Clinical Features, Diagnosis, Histopathology, and Management / A. G. Marzuka, S. E. Book // *Yale J. Biol. Med.* – 2015. – Vol. 88, № 2. – P. 167.
38. A multimodal vision foundation model for clinical dermatology / S. Yan, Z. Yu, C. Primiero [et al.] // *Nature Medicine*. – 2025. – Vol. 31, № 8. – P. 2691–2702.

39. TRIPOD+AI statement: updated guidance for reporting clinical prediction models that use regression or machine learning methods / G. S. Collins, K. G. M. Moons, P. Dhiman [et al.] // *BMJ*. – 2024. – Vol. 385.
40. The STARD-AI reporting guideline for diagnostic accuracy studies using artificial intelligence / V. Sounderajah, A. Guni, X. Liu [et al.] // *Nature Medicine*. – 2025. – Vol. 31, № 10. – P. 3283–3289.
41. Reporting guidelines for clinical trial reports for interventions involving artificial intelligence: the CONSORT-AI extension / X. Liu, S. Cruz Rivera, D. Moher [et al.] // *Lancet Digit. Health*. – 2020. – Vol. 2, № 10. – P. e537–e548.
42. 2021 international consensus statement on optical coherence tomography for basal cell carcinoma: image characteristics, terminology and educational needs / C. S. K. Fuchs, V. K. Ortner, M. Mogensen [et al.] // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. – 2022. – Vol. 36, № 6. – P. 772–778.
43. Sachdeva S. Fitzpatrick skin typing: Applications in dermatology // *Indian J. Dermatol. Venereol. Leprol.* – 2009. – Vol. 75, № 1. – P. 93.
44. Fitzpatrick T. B. The validity and practicality of sun-reactive skin types I through VI // *Arch. Dermatol.* – 1988. – Vol. 124, № 6. – P. 869–871.
45. O'Dowd G. Wheater's Functional Histology: a Text and Colour Atlas / G. O'Dowd, S. Bell, S. Wright. – 2024. – 446 p.
46. Tuchin V. V. *Tissue Optics: Light Scattering Methods and Instruments for Medical Diagnosis*. – 3rd ed. – Bellingham, WA: SPIE Press, 2015. – 935 p.
47. Sandby-Møller J. Epidermal thickness at different body sites: relationship to age, gender, pigmentation, blood content, skin type and smoking habits / J. Sandby-Møller, T. Poulsen, H. C. Wulf // *Acta Derm. Venereol.* – 2003. – Vol. 83. – P. 410–413.
48. Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation / A. Slominski, D. J. Tobin, S. Shibahara [et al.] // *Physiol. Rev.* – 2004. – Vol. 84, № 4. – P. 1155–1228.
49. Ishimaru A. Wave Propagation and Scattering in Random Media and Rough Surfaces // *Proceedings of the IEEE*. – 1991. – Vol. 79, № 10. – P. 1359–1366.
50. Optical properties of human skin, subcutaneous and mucous tissues in the wavelength range from 400 to 2000 nm / A. N. Bashkatov, E. A. Genina, V. I. Kochubey [et al.] // *J. Phys. D Appl. Phys.* – 2005. – Vol. 38, № 15. – P. 2543.
51. Meglinski I. V. Quantitative assessment of skin layers absorption and skin reflectance spectra simulation in the visible and near-infrared spectral regions / I. V. Meglinski, S. J. Matcher // *Physiol. Meas.* – 2002. – Vol. 23, № 4. – P. 741.

52. Jacques S. L. Optical properties of biological tissues: a review // *Phys. Med. Biol.* – 2013. – Vol. 58, № 11. – P. R37.
53. Characterization of Biological Absorption Spectra Spanning the Visible to the Short-Wave Infrared / H. D. R. Gruensfelder, F. Shofu, M. S. Michie [et al.] // *J. Vis. Exp.* – 2025. – № 215. – P. 10.3791/67403.
54. Bashkatov A. N. Optical properties of skin, subcutaneous, and muscle tissues: a review / A. N. Bashkatov, E. A. Genina, V. V. Tuchin // *Journal of Innovative Optical Health Sciences.* – 2011. – Vol. 4, № 1. – P. 9–38.
55. Jacques S. L. Origins of Tissue Optical Properties in the UVA, Visible, and NIR Regions // *Advances in Optical Imaging and Photon Migration.* – 1996. – P. OPC364.
56. Prahl S. A. Optical absorption of hemoglobin. – Oregon Medical Laser Center, 1999.
57. Hale G. M. Optical Constants of Water in the 200-nm to 200- μ m Wavelength Region / G. M. Hale, M. R. Querry // *Applied Optics.* – 1973. – Vol. 12, № 3. – P. 555–563.
58. European consensus-based interdisciplinary guideline for diagnosis and treatment of basal cell carcinoma – update 2023 / K. Peris, M. C. Fargnoli, R. Kaufmann [et al.] // *Eur. J. Cancer.* – 2023. – Vol. 192. – P. 113254.
59. Yamamoto T. Dermatofibroma: a possible model of local fibrosis with epithelial/mesenchymal cell interaction // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology.* – 2009. – Vol. 23, № 4. – P. 371–375.
60. Lever W. F. *Histopathology of the Skin.* – 2009. – URL: <https://books.google.at/books?id=R3pMLydb1NMC> (дата обращения: 12.03.2026).
61. Alves J.V.P., Matos D.M., Barreiros H.F., Bártolo E.A.F.L.F. Variants of dermatofibroma - a histopathological study // *Anais Brasileiros de Dermatologia.* – 2014. – Vol. 89, № 3. – P. 472–477.
62. Damsky W. E. Melanocytic nevi and melanoma: unraveling a complex relationship / W. E. Damsky, M. Bosenberg // *Oncogene.* – 2017. – Vol. 36, № 42. – P. 5771–5792.
63. Picard A., Long-Mira E., Chuah S.-Y., Passeron T. Interest of high-definition optical coherent tomography (HD-OCT) for non-invasive imaging of dermatofibroma: a pilot study // *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology.* – 2016. – Vol. 30, № 3. – P. 485–487.
64. Classifying distinct basal cell carcinoma subtype by means of dermatoscopy and reflectance confocal microscopy / C. Longo, A. Lallas, A. Kyrgidis [et al.] // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 2014. – Vol. 71, № 4. – P. 716–724.e1.

65. The sensitivity and specificity of optical coherence tomography for the assisted diagnosis of nonpigmented basal cell carcinoma: an observational study / M. Ulrich, T. Von Braunmuehl, H. Kurzen [et al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2015. – Vol. 173, № 2. – P. 428–435.
66. *Lever's Histopathology of the Skin* / D. E. Elder, R. Elenitsas, B. L. Johnson, G. F. Murphy. – 10th ed. – 2009.
67. Breslow A. Thickness, cross-sectional areas and depth of invasion in the prognosis of cutaneous melanoma // *Ann. Surg.* – 1970. – Vol. 172, № 5. – P. 902.
68. Taruttis A. Advances in real-time multispectral optoacoustic imaging and its applications / A. Taruttis, V. Ntziachristos // *Nature Photonics*. – 2015. – Vol. 9, № 4. – P. 219–227.
69. Tadiparthi S. Biopsy for malignant melanoma – are we following the guidelines? / S. Tadiparthi, S. Panchani, A. Iqbal // *The Annals of The Royal College of Surgeons of England*. – 2008. – Vol. 90, № 4. – P. 322–325.
70. Melanoma clinical guideline. – URL: <https://www.aad.org/member/clinical-quality/guidelines/melanoma> (дата обращения: 12.03.2026).
71. Clinical practice guideline on melanoma from the Spanish academy of dermatology and venereology (AEDV) / R. Botella-Estrada [et al.] // *Actas Dermo-Sifiliográficas (English Edition)*. – 2021.
72. S2k guideline basal cell carcinoma of the skin (update 2023) / B. M. Lang, P. Balermipas, A. Bauer [et al.] // *JDDG – Journal of the German Society of Dermatology*. – 2024. – Vol. 22, № 12. – P. 1697–1714.
73. Interobserver variability in the histopathological evaluation of melanoma: analysis of 60 cases / V. Sanz-Motilva, A. Martorell, E. Manrique-Silva [et al.] // *Actas Dermo-Sifiliográficas*. – 2024.
74. Assessment of Diagnostic Accuracy of Dermoscopic Structures and Patterns Used in Melanoma Detection: A Systematic Review and Meta-analysis / N. M. Williams, K. D. Rojas, J. M. Reynolds [et al.] // *JAMA Dermatol.* – 2021. – Vol. 157, № 9. – P. 1078–1088.
75. *In vivo* epiluminescence microscopy of pigmented skin lesions. I. Pattern analysis of pigmented skin lesions / H. Pehamberger, A. Steiner, K. Wolff // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 1987. – Vol. 17, № 4. – P. 571–583.
76. The ABCD rule of dermatoscopy: high prospective value in the diagnosis of doubtful melanocytic skin lesions / F. Nachbar, W. Stolz, T. Merkle [et al.] // *J. Am. Acad. Dermatol.* – 1994. – Vol. 30, № 4. – P. 551–559.
77. Sensitivity and Specificity for Skin Cancer Diagnosis in Primary Care Providers: a Systematic Literature Review and Meta-analysis of Educational Interventions and Diagnostic Algorithms /

- N. Gonna, T. Tran, R. L. Bassett [et al.] // Journal of Cancer Education. – 2022. – Vol. 37, № 5. – P. 1563–1572.
78. Indications for Digital Monitoring of Patients With Multiple Nevi: Recommendations from the International Dermoscopy Society / T. Russo, V. Piccolo, E. Moscarella [et al.] // Dermatol. Pract. Concept. – 2022. – Vol. 12, № 4. – P. e2022182.
 79. Introduction to reflectance confocal microscopy and its use in clinical practice / A. Levine, O. Markowitz [et al.] // JAAD Case Reports. – 2018.
 80. Reflectance confocal microscopy for diagnosing cutaneous melanoma in adults / J. Dinnes, J. J. Deeks, D. Saleh [et al.] // Cochrane Database Syst. Rev. – 2018. – Vol. 2018, № 12. – P. CD013190.
 81. Wang L. V. Photoacoustic tomography: *In vivo* imaging from organelles to organs / L. V. Wang, S. Hu // Science. – 2012. – Vol. 335, № 6075. – P. 1458–1462.
 82. Clinical translation of photoacoustic imaging / J. Park, S. Choi, F. Knieling [et al.] // Nature Reviews Bioengineering. – 2024. – Vol. 3, № 3. – P. 193–212.
 83. *In vivo* diagnosis of melanoma and nonmelanoma skin cancer using oblique incidence diffuse reflectance spectrometry / A. Garcia-Urbe, J. Zou, M. Duvic [et al.] // Cancer Res. – 2012. – Vol. 72, № 11. – P. 2738–2745.
 84. Real-time raman spectroscopy for *in vivo* skin cancer diagnosis / H. Lui, J. Zhao, D. McLean [et al.] // Cancer Res. – 2012. – Vol. 72, № 10. – P. 2491–2500.
 85. Sensitivity advantage of swept source and Fourier domain optical coherence tomography / M. A. Choma, M. V. Sarunic, C. Yang [et al.] // Optics Express. – 2003. – Vol. 11, № 18. – P. 2183–2189.
 86. Diagnostic accuracy of optical coherence tomography in actinic keratosis and basal cell carcinoma / J. Olsen, L. Themstrup, N. De Carvalho [et al.] // Photodiagnosis Photodyn. Ther. – 2016. – Vol. 16. – P. 44–49.
 87. The value of ultrahigh resolution OCT in dermatology – delineating the dermo-epidermal junction, capillaries in the dermal papillae and vellus hairs / N. M. Israelsen, M. Maria, M. Mogensen [et al.] // Biomedical Optics Express. – 2018. – Vol. 9, № 5. – P. 2240–2265.
 88. Hojjatoleslami A. OCT skin image enhancement through attenuation compensation / A. Hojjatoleslami, M. R. N. Avanaki // Applied Optics. – 2012. – Vol. 51, № 21. – P. 4927–4935.
 89. Application of OCT-Derived Attenuation Coefficient in Acute Burn-Damaged Skin / J. Lu, A. J. Deegan, Y. Cheng [et al.] // Lasers Surg. Med. – 2021. – Vol. 53, № 9. – P. 1192–1200.

90. Optical coherence tomography monitoring of enhanced skin optical clearing in rats *in vivo* / E. A. Genina, A. N. Bashkatov, E. A. Kolesnikova [et al.] // J. Biomed. Opt. – 2013. – Vol. 19, № 2. – P. 021109.
91. The Effect of Different Optical Clearing Agents on the Attenuation Coefficient and Epidermal Thickness of Human Skin Assessed by Optical Coherence Tomography / M. Varaka, M. Z. Vardaki, G. Gaitanis [et al.] // Applied Sciences. – 2022. – Vol. 12, № 16.
92. Overview of Ultrasound Imaging Applications in Dermatology / N. Almuhanha, X. Wortsman, I. Wohlmuth-Wieser [et al.] // J. Cutan. Med. Surg. – 2021. – Vol. 25, № 5. – P. 521–529.
93. Wortsman X. Practical applications of ultrasound in dermatology // Clin. Dermatol. – 2021. – Vol. 39, № 4. – P. 605–623.
94. The use of high-frequency ultrasound in the evaluation of superficial and nodular basal cell carcinomas / T. D. Desai, A. D. Desai, D. C. Horowitz [et al.] // Dermatologic Surgery. – 2007. – Vol. 33, № 10. – P. 1220–1227.
95. Basal cell carcinoma thickness evaluated by high frequency ultrasounds and correlation with dermoscopic features / R. Coppola, M. Barone, S. Zanframundo [et al.] // Italian Journal of Dermatology and Venereology. – 2021. – Vol. 156, № 2. – P. 610–615.
96. Basal cell carcinoma invasion depth determined with 30 and 75 MHz high-frequency ultrasound and histopathology – a comparative study / A. Khlebnikova, V. Molochkov, E. Selezneva [et al.] // Med. Ultrason. – 2020. – Vol. 22, № 1. – P. 31–36.
97. Wortsman X. Ultrasound in Skin Cancer: Why, How, and When to Use It? // Cancers. – 2024. – Vol. 16, № 19.
98. High frequency ultrasound with color Doppler in dermatology / E. de O. Barcaui, A. C. P. Carvalho, F. P. P. L. Lopes [et al.] // An. Bras. Dermatol. – 2016. – Vol. 91, № 3. – P. 262–273.
99. High-Frequency Ultrasound Assessment of Basal Cell Carcinoma: Correlations Between Histopathological Subtype, Vascularity, and Age/Sex Distribution / K. Szalai, K. Tóth, J. Hársing [et al.] // Cancers. – 2026. – Vol. 18, № 2. – P. 274.
100. Power Doppler ultrasonography for the evaluation of skin tumors other than malignant melanoma / G. C. Karaman, C. Z. Karaman, N. Sendur [et al.] // Eur. Radiol. – 2001. – Vol. 11, № 7. – P. 1111–1116.
101. Martins C. The Usefulness of Combined Digital Dermatoscopy and Ultrasound with Colour Doppler in the Diagnosis of Skin Lesions / C. Martins, H. Pópulo, P. Soares // Diagnostics. – 2025. – Vol. 15, № 16.

102. Skin Imaging Using Optical Coherence Tomography and Photoacoustic Imaging: A Mini-Review / M. Zafar, A. P. Siegel, K. Avanaki [et al.] // Optics. – 2024. – Vol. 5, № 2. – P. 248–266.
103. Estimation of Scattering Properties Modifications Caused by *In Vivo* Human Skin Optical Clearing Using Line-Field Confocal Optical Coherence Tomography / S. M. Zaytsev, L. Waszczuk, J. Ogien [et al.] // J. Biophotonics. – 2025. – Vol. 18, № 12. – P. e202400264.
104. Texture analysis of medical images / G. Castellano, L. Bonilha, L. M. Li [et al.] // Clinical Radiology. – 2004. – Vol. 59, № 12. – P. 1061–1069.
105. Radiomics: Images Are More than Pictures, They Are Data / R. J. Gillies, P. E. Kinahan, H. Hricak // Radiology. – 2015. – Vol. 278, № 2. – P. 563–577.
106. Haralick R. M. Statistical and structural approaches to texture // Proceedings of the IEEE. – 1979. – Vol. 67, № 5. – P. 786–804.
107. Haralick R. M. Textural Features for Image Classification / R. M. Haralick, I. Dinstein, K. Shanmugam // IEEE Trans. Syst. Man Cybern. – 1973. – Vol. SMC-3, № 6. – P. 610–621.
108. Connors R. W. A theoretical comparison of texture algorithms / R. W. Connors, C. A. Harlow // IEEE Trans. Pattern Anal. Mach. Intell. – 1980. – Vol. PAMI-2, № 3. – P. 204–222.
109. Galloway M. M. Texture analysis using gray level run lengths // Computer Graphics and Image Processing. – 1975. – Vol. 4, № 2. – P. 172–179.
110. Universal *in vivo* Textural Model for Human Skin based on Optical Coherence Tomograms / S. Adabi, M. Hosseinzadeh, S. Noei [et al.] // Scientific Reports. – 2017. – Vol. 7, № 1. – P. 17912.
111. Three-dimensional texture analysis of optical coherence tomography images of ovarian tissue / T. W. Sawyer, S. Chandra, P. F. S. Rice [et al.] // Phys. Med. Biol. – 2018. – Vol. 63, № 23. – P. 235020.
112. Skin Lesion Classification Using Dermoscopic Images and Clinical Metadata: Insights from Multimodal Models / S. Ahammed, X. Cui, W. Lu [et al.]. – 2025. – P. 222–230.
113. Liu H. Deep Learning Algorithms in the Diagnosis of Basal Cell Carcinoma Using Dermatoscopy: Systematic Review and Meta-Analysis / H. Liu, G. Shang, Q. Shan // J. Med. Internet Res. – 2025. – Vol. 27, № 1. – P. e73541.
114. Combining Reflectance Confocal Microscopy, Optical Coherence Tomography and Ex-Vivo Fluorescence Confocal Microscopy for Margin Assessment in Basal Cell Carcinoma Excision / S. Micheli, V. D. Mandel, M. Ardigo [et al.] // Dermatol. Pract. Concept. – 2024. – Vol. 14, № 2. – P. e2024090.

115. Optical clearing of *in vivo* human skin: Implications for light-based diagnostic imaging and therapeutics / M. H. Khan, B. Choi, S. Chess [et al.] // *Lasers Surg. Med.* – 2004. – Vol. 34, № 2. – P. 83–85.
116. Dermal scatter reduction in human skin: A method using controlled application of glycerol / M. A. Fox, D. G. Diven, K. Sra [et al.] // *Lasers Surg. Med.* – 2009. – Vol. 41, № 4. – P. 251–255.
117. *In vivo* skin optical clearing efficacy quantification of clinically compatible agents using line-field confocal optical coherence tomography / S. M. Zaytsev, M. Amouroux, V. V. Tuchin [et al.] // *Journal of Biomedical Optics*. – 2023. – Vol. 28, № 05.
118. Ultrasound-mediated transdermal drug delivery: mechanisms, scope, and emerging trends / B. E. Polat, D. Hart, R. Langer [et al.] // *Journal of Controlled Release*. – 2011. – Vol. 152, № 3. – P. 330–348.
119. Optical clearing agent perfusion enhancement via combination of microneedle poration, heating and pneumatic pressure / Y. Damestani, B. Melakeberhan, M. P. Rao [et al.] // *Lasers Surg. Med.* – 2014. – Vol. 46, № 6. – P. 488–498.
120. Optical clearing for photoacoustic lympho- and angiography beyond conventional depth limit *in vivo* / M. V. Novoselova, T. O. Abakumova, B. N. Khlebtsov [et al.] // *Photoacoustics*. – 2020. – Vol. 20.
121. Optical clearing in photoacoustic flow cytometry / Y. A. Menyaev, D. A. Nedosekin, M. Sarimollaoglu [et al.] // *Biomedical Optics Express*. – 2013. – Vol. 4, № 12. – P. 3030–3041.
122. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects // *JAMA*. – 2013. – Vol. 310, № 20. – P. 2191–2194.
123. Design and Evaluation of a Novel Portable Erythema-Melanin-Meter / L. E. Dolotov, Y. P. Sinichkin, V. V. Tuchin [et al.] // *Lasers Surg. Med.* – 2004. – Vol. 34, № 2. – P. 127–135.
124. Leonard D. W. Refractive indices of the collagen fibrils and extrafibrillar material of the corneal stroma / D. W. Leonard, K. M. Meek // *Biophys. J.* – 1997. – Vol. 72, № 3. – P. 1382–1387.
125. Normalized field autocorrelation function-based optical coherence tomography three-dimensional angiography / J. Tang, S. E. Erdener, S. Sunil [et al.] // *J. Biomed. Opt.* – 2019. – Vol. 24, № 03. – P. 1.
126. Yousefi S. Label-Free Optical Imaging of Lymphatic Vessels Within Tissue Beds *in Vivo* / S. Yousefi, Z. Zhi, R. K. Wang // *IEEE Journal on Selected Topics in Quantum Electronics*. – 2014. – Vol. 20, № 2.

127. Label-Free *In Vivo* Imaging of Corneal Lymphatic Vessels Using Microscopic Optical Coherence Tomography / J. Horstmann, H. Schulz-Hildebrandt, F. Bock [et al.] // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* – 2017. – Vol. 58, № 13. – P. 5880–5886.
128. Xu X. Sonophoretic delivery for contrast and depth improvement in skin optical coherence tomography / X. Xu, Q. Zhu // *IEEE Journal on Selected Topics in Quantum Electronics.* – 2008. – Vol. 14, № 1. – P. 56–61.
129. Synergistic Effect of Ultrasound and Thiazone–PEG 400 on Human Skin Optical Clearing *In Vivo* / H. Zhong, Z. Guo, H. Wei [et al.] // *Photochemistry and Photobiology.* – 2010. – Vol. 86, № 3. – P. 732–737.
130. Anderson R. R. The Optics of Human Skin / R. R. Anderson, J. A. Parrish // *Journal of Investigative Dermatology.* – 1981. – Vol. 77, № 1. – P. 13–19.
131. Ethnic variation in melanin content and composition in photoexposed and photoprotected human skin / S. Alaluf, D. Atkins, K. Barrett [et al.] // *Pigment Cell Res.* – 2002. – Vol. 15, № 2. – P. 112–118.
132. Influence of optical clearing agents on the scattering properties of human nail bed and blood microrheological properties: *In vivo* and *in vitro* study / P. A. Moldon, P. B. Ermolinskiy, A. E. Lugovtsov [et al.] // *J. Biophotonics.* – 2025. – Vol. 18, № 12.
133. Optimized depth-resolved estimation to measure optical attenuation coefficients from optical coherence tomography and its application in cerebral damage determination / J. Liu, N. Ding, Y. Yu [et al.] // *J. Biomed. Opt.* – 2019. – Vol. 24, № 03. – P. 1.
134. Chang S. Review of methods and applications of attenuation coefficient measurements with optical coherence tomography / S. Chang, A. K. Bowden // *J. Biomed. Opt.* – 2019. – Vol. 24, № 09. – P. 1.
135. Depth-resolved model-based reconstruction of attenuation coefficients in optical coherence tomography / K. A. Vermeer, J. Mo, J. J. A. Weda [et al.] // *Biomed. Opt. Express.* – 2014. – Vol. 5, № 1. – P. 322.
136. Target delivery of drug carriers in mice kidney glomeruli via renal artery. Balance between efficiency and safety / E. S. Prikhozhenko, O. I. Gusliakova, O. A. Kulikov [et al.] // *Journal of Controlled Release.* – 2021. – Vol. 329. – P. 175–190.
137. Evaluation of texture parameters for the quantitative description of multimodal nonlinear optical images from atherosclerotic rabbit arteries / L. B. Mostaço-Guidolin, A. C. T. Ko, D. P. Popescu [et al.] // *Phys. Med. Biol.* – 2011. – Vol. 56, № 16. – P. 5319.
138. Sundararajan M. The Many Shapley Values for Model Explanation / M. Sundararajan, A. Najmi. – PMLR, 2020. – P. 9269–9278.

139. Skin cancer texture analysis of OCT images based on Haralick, fractal dimension, Markov random field features, and the complex directional field features / D. S. Raupov, O. O. Myakinin, I. A. Bratchenko [et al.] // Proc. SPIE. – 2016. – Vol. 10024. – P. 100244I.
140. Collagen morphology and texture analysis: from statistics to classification / L. B. Mostaço-Guidolin, A. C. T. Ko, F. Wang [et al.] // Scientific Reports. – 2013. – Vol. 3, № 1. – P. 2190.
141. Bevk M. A statistical approach to texture description of medical images: A preliminary study / M. Bevk, I. Kononenko // Proceedings of the IEEE Symposium on Computer-Based Medical Systems. – 2002. – P. 239–244.
142. Quantitative Analysis of Skin Erythema Due to Laser Hair Removal: A Diffusion Optical Spectroscopy Analysis / M. Babadi, E. Mohajerani, L. Ataie-Fashtami [et al.] // J. Lasers Med. Sci. – 2019. – Vol. 10, № 2. – P. 97.
143. Can O. M. Estimation of free hemoglobin concentrations in blood bags by diffuse reflectance spectroscopy / O. M. Can, Y. Ülgen // J. Biomed. Opt. – 2018. – Vol. 23, № 12. – P. 127001.